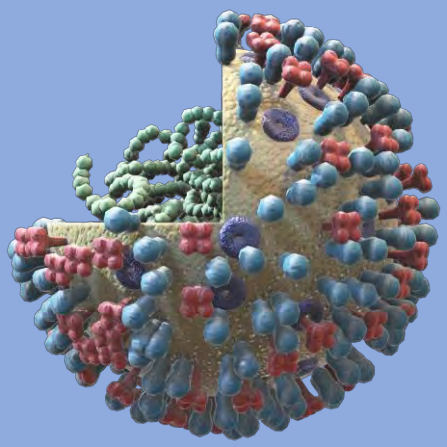
MIKROBIOLOGIA I IMMUNOLOGIA

dla studentów kierunku ratownictwo medyczne

pod redakcją
Mariusza Skiby i Bogdana Mazura

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska



Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

MIKROBIOLOGIA I IMMUNOLOGIA

dla studentów kierunku ratownictwo medyczne

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Autorzy

dr n. med. Elżbieta BOBELA Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

dr n. med. Joanna BRONIKOWSKA Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

prof. dr hab. n. med. Zenon CZUBA Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

dr n. med. i n. o zdr. Patrycja GAZY Oddział Neonatologii i Intensywnej Terapii Noworodka, Szpital Specjalistyczny nr 2 w Bytomiu

dr n. med. Dagmara JAWORSKA Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

dr n. med. Małgorzata KŁÓSEK Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

prof. dr hab. n. med. Bogdan MAZUR Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

lek. med. Szymon PŁACZEK Oddział Chorób Wewnętrznych, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny nr 4 w Bytomiu

dr hab. n. med. Łukasz SĘDEK Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

dr n. med. Mariusz SKIBA Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Ewelina SZLISZKA Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

MIKROBIOLOGIA I IMMUNOLOGIA

dla studentów kierunku ratownictwo medyczne

pod redakcją
Mariusza Skiby i Bogdana Mazura

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Recenzent

dr hab. Ewa Dworniczek

Redakcja

Anna Just

Publikacja na licencji Creative Commons
Uznanie autorstwa-Użycie niekomercyjne-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowa
(CC BY-NC-SA 4.0)
Publication under license Creative Commons
Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International

Publikacja jest dostępna w Internecie na stronach
Wydawnictwa Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
oraz Polskiej Platformy Medycznej

Wydanie I

ISBN 978-83-7509-492-3

Wydawca
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Katowice 2024

Skład komputerowy i łamanie

Wydawnictwo
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
ul. Medyków 18
40-752 Katowice
www.wydawnictwo.sum.edu.pl

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

SPIS TREŚCI

Wykaz skrótów 7

I. Bakteriologia i wirusologia ogólna. Diagnostyka mikrobiologiczna (*Małgorzata Kłósek*, *Elżbieta Bobela*) 11

II. Podstawy antybiotykoterapii (*Elżbieta Bobela*, *Małgorzata Kłósek*) 38

III. Zakażenia ośrodkowego układu nerwowego (*Joanna Bronikowska*) 54

IV. Zapalenia płuc (*Szymon Płaczek*, *Mariusz Skiba*) 66

V. Gruźlica (*Mariusz Skiba*) 76

VI. Zakażenia układu pokarmowego (*Dagmara Jaworska*) 83

VII. Zakażenia układu moczowego i choroby weneryczne (*Ewelina Szliszka*) 98

VIII. Zakażenia skóry i tkanki podskórnej. Sepsa, zakażenia szpitalne i zakażenia w chirurgii (*Łukasz Sędek*) 116

IX. Schorzenia wywołane działaniem toksyn bakteryjnych (*Zenon Czuba*, *Dagmara Jaworska*) 131

X. Wybrane zakażenia o etiologii wirusowej (*Patrycja Gazy*) 145

XI. Podstawy immunologii (*Bogdan Mazur*) 165

XII. Serologia grup krwi i podstawy leczenia krwią (*Bogdan Mazur*, *Mariusz Skiba*) 182

Spis tabel 196

Spis rycin 197

Bibliografia 199

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Wykaz skrótów

AIDS	zespół nabytego niedoboru odporności (*acquired immune deficiency syndrome*)
AING	ostre niebakteryjne zapalenie żołądka i jelit (*acute infectious nonbacterial gastroenteritis*)
ARDS	zespół ostrej niewydolności oddechowej (*acute respiratory distress syndrome*)
ASO	przeciwciała wytworzone przeciwko streptolizynie O
BAL	popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe (*bronchoalveolar lavage*)
CA-MRSA	MRSA nabyty poza środowiskiem szpitalnym (*community acquired* MRSA)
CF	czynnik zlepiający, koagulaza związana (*clumping factor*)
CFU	jednostka tworząca kolonię (*colony-forming unit*)
CIA	test z zastosowaniem chemiluminescencji (*chemiluminescence immunoassay*)
CMV	wirus cytomegalii (*cytomegalovirus*)
CNS	gronkowce koagulazoujemne (*coagulase-negative staphylococci*)
CPE	efekt cytopatyczny (*cytopathic effect*)
CPE	pałeczki *Enterobacterales* produkujące karbapenemazy (*carbapenemase-producing Enterobacterales*)
CRP	białko C-reaktywne (*C-reactive protein*)
DIC	zespół rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (*disseminated intravascular coagulation*)
DNA	kwas deoksyrybonukleinowy (*deoxyribonucleic acid*)
EAEC	enteroagregacyjne szczepy *Escherichia coli* (*enteroaggregative Escherichia coli*)
EBV	wirus Epsteina-Barr (*Epstein-Barr virus*)
EHEC	enterokrwotoczne szczepy *Escherichia coli* (*enterohemorrhagic Escherichia coli*)
EIA	test immunoenzymatyczny (*enzyme immunoassay*)
EIEC	enteroinwazyjne szczepy *Escherichia coli* (*enteroinvasive Escherichia coli*)
ELISA	*enzyme-linked immunosorbent assay*
EPEC	enteropatogenne szczepy *Escherichia coli* (*enteropathogenic Escherichia coli*)
ESBL	β-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (*extended-spectrum beta-lactamases*)
ESID	Europejskie Towarzystwo Niedoborów Odporności (European Society for Immunodeficiencies)
ETEC	enterotoksynogenne szczepy *Escherichia coli* (*enterotoxigenic Escherichia coli*)
EUCAST	Europejski Komitet ds. Oznaczania Lekowrażliwości (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)
FMT	transplantacja mikrobioty jelitowej (*fecal microbiota transplantation*)
FTA	swoisty odczyn immunofluorescencyjny stosowany w diagnostyce serologicznej kiły (*fluorescent treponemal antibody*)
FTA-ABS	swoisty odczyn immunofluorescencyjny w modyfikacji absorpcyjnej stosowany w diagnostyce serologicznej kiły (*fluorescent treponemal antibody absorption* (*test*))
GBS	paciorkowce grupy B (*group B streptococcus*)
HA-MRSA	MRSA nabyty w szpitalu (*hospital acquired* MRSA)
HAART	wysoce skuteczna/aktywna terapia antyretrowirusowa (*highly active antiretroviral therapy*)
HAP	szpitalne zapalenie płuc (*hospital acquired pneumonia*)

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

HBV	wirus zapalenia wątroby typu B (*hepatitis B virus*)
HCAP	zapalenie płuc związane z kontaktem ze służbą zdrowia (*healthcare-associated pneumonia*)
HCV	wirus zapalenia wątroby typu C (*hepatitis C virus*)
HIV	ludzki wirus niedoboru odporności (*human immunodeficiency virus*)
HLAR	wysoka oporność na aminoglikozydy (dotyczy enterokoków; *high-level aminoglycoside resistance*)
HPV	wirus brodawczaka ludzkiego (*human papilloma virus*)
HRP	peroksydaza chrzanowa (*horseradish peroxidase*)
HSV	wirus opryszczki pospolitej (*herpes simplex virus*)
ICTV	Międzynarodowy Komitet Taksonomii Wirusów (International Committee on Taxonomy of Viruses)
IZW	infekcyjne zapalenie wsierdzia
KDO	kwas ketodezoksyoktanowy
KPC	karbapenemaza po raz pierwszy stwierdzona u *Klebsiella pneumoniae* (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*)
LAMP	*loop-mediated isothermal amplification*
LOS	lipooligosacharyd
LPS	lipopolisacharyd
MBC	minimalne stężenie bakteriobójcze (*minimal bactericidal concentration*)
MDR	wielolekooporność (*multidrug resistance*)
MFC	minimalne stężenie hamujące wzrost grzybów (*minimal fungicidal concentration*)
MHC	główny układ zgodności tkankowej (*major histocompatibility complex*)
MIC	minimalne stężenie hamujące wzrost bakterii (*minimal inhibitory concentration*)
MID	najmniejsza dawka zakaźna (*minimal infectious dose*)
MRCNS	koagulazoujemne gronkowce oporne na metycylinę (*methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci*)
MRSA	gronkowiec złocisty oporny na metycylinę (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*)
MRSE	gronkowiec skórny oporny na metycylinę (*methicillin-resistant Staphylococcus epidermidis*)
MSSA	metycylinowrażliwy gronkowiec złocisty (*methicillin-susceptible Staphylococcus aureus*)
NAAT	testy amplifikacji kwasów nukleinowych(*nucleic acid amplification testing*)
NAG	N-acetyloglukozamina
NAM	kwas N-acetylomuraminowy
NGS	sekwencjonowanie nowej generacji (*next generation sequencing*)
NOP	niepożądany odczyn poszczepienny
odczyn USR	(*unheated serum reagin* (*test*)) inaczej odczyn RPR (*rapid plasma reagin* (*test*))
odczyn VDRL	odczyn kłaczkujący stosowany w diagnostyce serologicznej kiły (Venereal Disease Research Laboratories)
OOZN	ostre odmieniczkowe zapalenie nerek
OUN	ośrodkowy układ nerwowy
PAF	czynnik aktywujący płytki (*platelet activating factor*)
PAMP	molekularne wzorce patogenów (*pathogen-associated molecular patterns*)
PASI	infekcje gronkowcowe związane z polimerami (*polymer associated staphylococcal infections*)
PBP	białko wiążące penicylinę (*penicillin binding protein*)
PCR	reakcja łańcuchowa polimerazy (*polymerase chain reaction*)
PDR	całkowita oporność (*pandrug resistance*)
PMR	płyn mózgowo-rdzeniowy
PRP	pneumokoki oporne na penicylinę (*penicillin resistant Streptococcus pneumoniae*)

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

PRR	receptory rozpoznające wzorce (*pattern recognition receptors*)
PZP	pozaszpitalne zapalenie płuc
RM	rezonans magnetyczny
RNA	kwas rybonukleinowy (*ribonucleic acid*)
RSV	syncytialny wirus oddechowy (*respiratory syncytial virus*)
SIRS	zespół uogólnionej reakcji zapalnej (*systemic inflammatory response syndrome*)
SSSS	gronkowcowy zespół poparzonej skóry (*staphylococcal scalded skin syndrome*)
SZP	szpitalne zapalenie płuc
TK	tomografia komputerowa
TLR	receptory Toll-podobne (*Toll-like receptors*)
TMA	amplifikacja sterowana transkrypcją (*transcription-mediated amplification*)
TMB	tetrametylobenzydyna
TNF-α	czynnik martwicy nowotworów α (*tumor necrosis factor α*)
TP-PA	swoisty odczyn hemaglutynacji biernej stosowany w diagnostyce serologicznej kiły (*Treponema pallidum passive particle agglutination* (*test*))
TPHA	swoisty odczyn hemaglutynacji stosowany w diagnostyce serologicznej kiły (*Treponema pallidum hemagglutination assay*)
TPI	swoisty odczyn unieruchamiania krętków stosowany w diagnostyce serologicznej kiły (*Treponema pallidum immobilization* (*test*))
TSST-1	toksyna zespołu wstrząsu toksycznego 1 (*toxic shock syndrome toxin 1*)
UPEC	uropatogenne szczepy *Escherichia coli* (*uropathogenic Escherichia coli*)
VAP	respiratorowe zapalenie płuc (*ventilator-associated pneumonia*)
VISA	gronkowiec złocisty średniooporny na wankomycynę (*vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus*)
VRE	*Enterococcus* oporny na wankomycynę (*vancomycin-resistant Enterococcus*)
VRSA	gronkowiec złocisty oporny na wankomycynę (*vancomycin-resistant Staphylococcus aureus*)
XDR	rozszerzona oporność (*extensively drug resistance*)
ZOMR	zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych
ZUM	zakażenia układu moczowego

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

I. Bakteriologia i wirusologia ogólna. Diagnostyka mikrobiologiczna

Małgorzata Kłósek, Elżbieta Bobela

Nazwa „mikrobiologia" pochodzi od greckich słów: *mikros* 'mały', *bios* 'życie', *logos* 'wiedza'. Mikrobiologia jest dziedziną nauki, zajmuje się zagadnieniami związanymi z charakterystyką bakterii, jednokomórkowych grzybów, jednokomórkowych glonów, pierwotniaków i wirusów.
Początki mikrobiologii sięgają XVII w., kiedy Antonie van Leeuwenhoek po raz pierwszy opisał i narysował bakterie za pomocą skonstruowanego przez siebie jednosoczewkowego mikroskopu. Wiek XIX to intensywny rozwój mikrobiologii medycznej, początek epidemiologii chorób zakaźnych i sposobów zapobiegania im. W tabeli I.1 przedstawiono ważne odkrycia, których dokonali zagraniczni i polscy badacze w tej dziedzinie.

Tabela I.1. Ważniejsze odkrycia stanowiące podwaliny współczesnej mikrobiologii klinicznej

Badacz	Odkrycie
1	2
Ludwik Pasteur (1822–1895) francuski chemik i mikrobiolog	obalił teorię samorództwa (mikroorganizmy nie powstają samoistnie; odpowiednio wyjałowione substancje organiczne, jeśli nie mają kontaktu z powietrzem, nie ulegają gniciu ani fermentacji) wprowadził metodę pasteryzacji odkrył metodę atenuacji (pozbawiania zjadliwości drobnoustrojów), którą można było zastosować w szczepionkach uzyskał szczepionki przeciwko cholerze drobiu, wąglikowi, różycy świń i wściekliźnie
Robert Koch (1843–1910) niemiecki lekarz i bakteriolog	odkrył prątki gruźlicy nazwane od jego nazwiska prątkami Kocha odkrył laseczkę wąglika
Edward Jenner (1749–1823) angielski lekarz	wprowadził szczepienia zapobiegające ospie prawdziwej
Aleksander Fleming (1881–1955) szkocki lekarz	odkrył penicylinę (na pozostawionej w laboratorium płytce Petriego pleśnie *Penicillium notatum* przerosły hodowle bakterii i spowodowały ich lizę – wywnioskował, że pleśń wydziela substancję hamującą wzrost bakterii)
Joseph Lister (1827–1912) angielski chirurg	pionier antyseptyki – wprowadził opatrunki nasączone kwasem karbolowym
Hilary Koprowski (1916–2013) polski lekarz, wirusolog i immunolog	jako pierwszy wprowadził doustną szczepionkę przeciwko wirusowi polio wywołującemu nagminne porażenie dziecięce
Rudolf Weigl (1883–1957) polski biolog	opracował pierwszą skuteczną szczepionkę przeciwko durowi plamistemu wywoływanemu przez *Rickettsia prowazekii*
Leon Cienkowski (1822–1887) polski mikrobiolog	opracował metodę osłabiania laseczek wąglika i otrzymał własną szczepionkę przeciwwąglikową

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cd. tab. I.1

1	2
Odo Bujwid (1857–1942) polski bakteriolog	zmodyfikował przygotowywanie i stosowanie szczepionki przeciwko wściekliźnie, co przyczyniło się do zwiększenia jej skuteczności
Ludwik Hirszfeld (1884–1954) polski lekarz, immunolog i mikrobiolog	odkrył pałeczkę duru rzekomego (*Salmonella paratyphi C – Salmonella hirschfeldi*)

Źródło: opracowanie własne wg Mikrobiologia lekarska. Red. P.B. Heczko, M. Wróblewska, A. Pietrzyk. Wyd. Lekarskie PZWL. Warszawa 2014.

Bakterie oraz grzyby jednokomórkowe są niewidoczne gołym okiem; do ich obserwacji stosowany jest mikroskop świetlny. Wielkość komórek bakterii i grzybów jednokomórkowych wyrażana jest w mikrometrach (μm). Wirusy człowieka mają znacznie mniejsze rozmiary niż bakterie; wynoszą od kilkunastu nanometrów (nm) do 300 nm (*Poxwirus*), stąd do ich obserwacji przeznaczony jest mikroskop elektronowy. W tabeli I.2 przedstawiono cechy różniące bakterie, wirusy i grzyby jednokomórkowe.

Tabela I.2. Różnice pomiędzy bakteriami, wirusami i grzybami

Cechy	Bakterie	Wirusy	Grzyby jednokomórkowe
Wielkość	0,5–5 μm	20–400 nm	3–10 μm
Ściana komórkowa	zbudowana z peptydoglikanu (mureiny), wyjątkiem są mykoplazmy z błoną zawierającą sterole	brak	złożona głównie z chityny, glukanów, mannanów, polimerów galaktozaminy i galaktozy
Błona komórkowa	dwuwarstwa lipidowa, nie zawiera cholesterolu	brak (część wirusów posiada osłonkę pochodzącą z błony komórkowej gospodarza)	zbudowana z ergosterolu
Jądro komórkowe	brak (materiał genetyczny występuje w postaci nukleoidu, który nie jest otoczony błoną jądrową)	brak (materiał genetyczny znajduje się bezpośrednio w kapsydzie)	obecne

Źródło: opracowanie własne wg Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A. Mikrobiologia. Red. wyd. pol. A. Przondo-Mordarska, G. Martirosian, A. Szkaradkiewicz. Edra Urban and Partner. Wrocław 2018.

Bakteriologia ogólna – morfologia komórki bakteryjnej

Morfologia komórki bakteryjnej stanowi jedno z kryteriów podziału drobnoustrojów. Komórki bakterii mają kształt:

- **kulisty**: do grupy tej zaliczamy tzw. ziarenkowce, które mogą występować jako formy pojedyncze, np. *Micrococcus luteus*, formy podwójne, np. *Streptococcus pneumoniae* (dwoinka zapalenia płuc), *Neisseria gonorrhoeae* (dwoinka rzeżączki), czworaczki, pakietowce, paciorkowce, np. *Streptococcus pyogenes* (paciorkowiec ropotwórczy), gronkowce, np. *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty);
- **wydłużony**: pałeczki, np. *Escherichia coli* (pałeczka okrężnicy), laseczki, np. *Clostridium tetani* (laseczka tężca), maczugowce, np. *Corynebacterium diphtheriae* (maczugowiec błonicy), wrzecionowce, np. *Fusobacterium nucleatum*;
- **rozgałęziony**: promieniowce, np. *Actinomyces israelii*;
- **spiralny**: krętki, np. *Treponema pallidum* (krętek blady), przecinkowce, np. *Vibrio cholerae* (przecinkowiec cholery), śrubowce, np. *Spirillum minus*.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

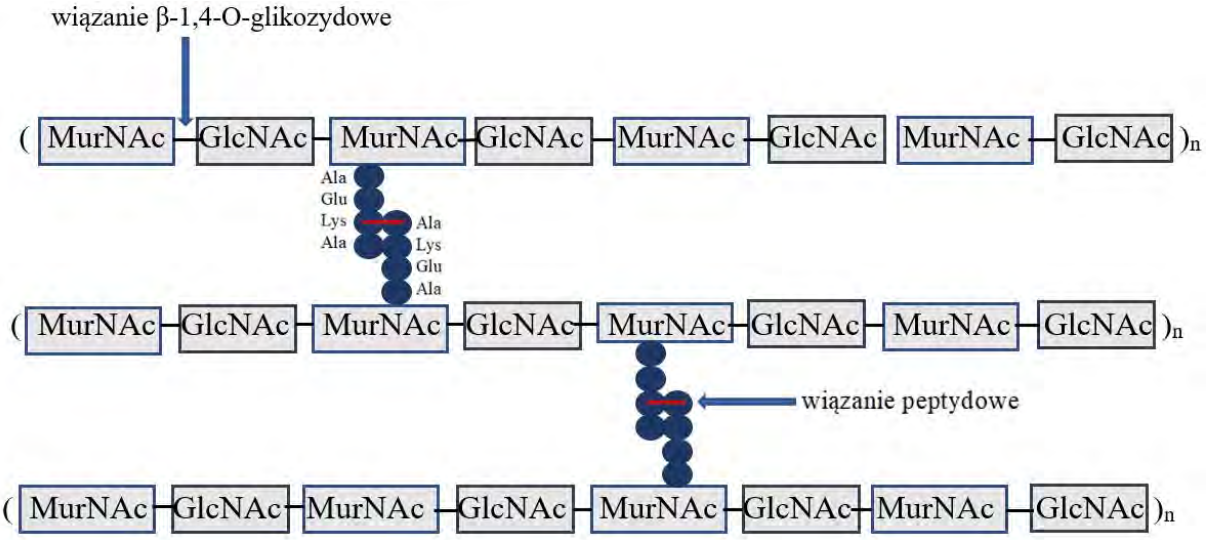
Do elementów budowy komórki bakteryjnej należą:

1. Ściana komórkowa

Bakterie (z wyjątkiem *Mycoplasma* spp.) mają ścianę komórkową zbudowaną z peptydoglikanu (mureiny), a w jej skład wchodzą:

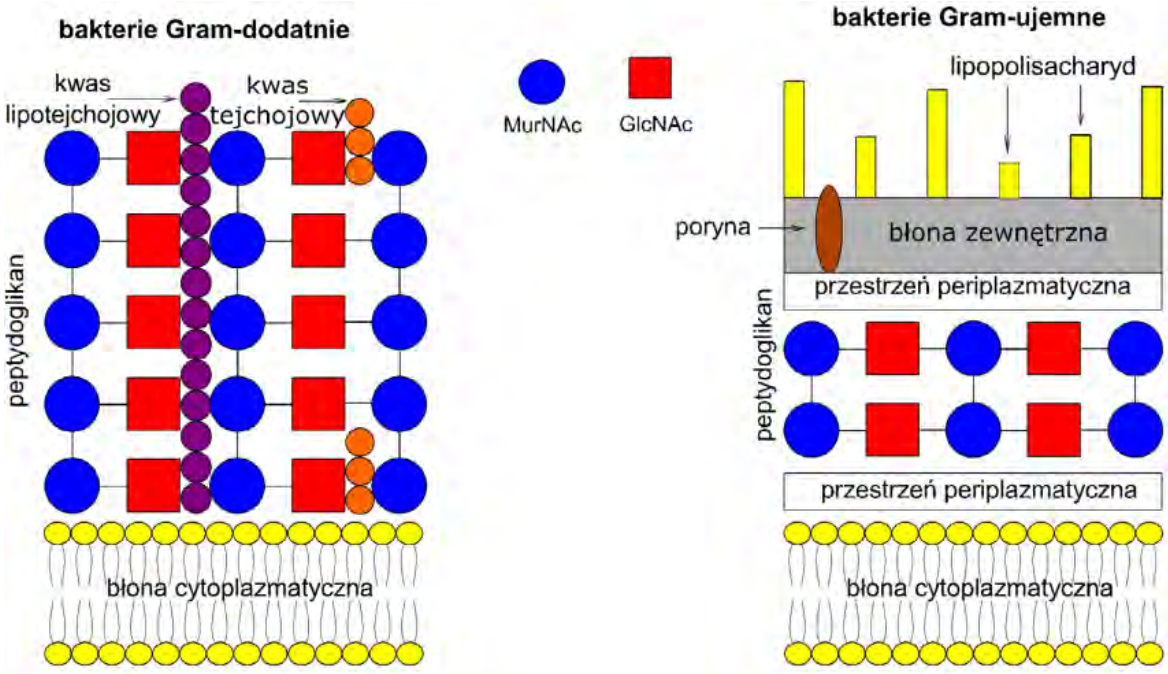
- długie łańcuchy polisacharydowe zbudowane z wielu powtarzających się dwucukrów: kwasu N-acetylomuraminowego (MurNAc) i N-acetyloglukozaminy (GlcNAc), połączonych ze sobą wiązaniem β-1,4-O-glikozydowym,
- krótkie łańcuchy peptydowe zbudowane z czterech aminokwasów, czyli tzw. tetrapeptydy.

Kwasy N-acetylomuraminowe będące składowymi łańcuchów polisacharydowych połączone są z aminokwasami wchodzącymi w skład tetrapeptydów. Dzięki temu powstają wiązania peptydowe pomiędzy sąsiadującymi łańcuchami polisacharydowymi, co umożliwia utrzymanie zwartej struktury ściany komórkowej (ryc. I.1a). Ze względu na różnice w budowie ściany komórkowej wyróżniamy bakterie Gram-dodatnie (G+) oraz bakterie Gram-ujemne (G-; ryc. I.1b, tab. I.3). Ściana komórkowa prątków zbudowana jest z kwasów mikolowych.



Ryc. I.1a. Struktura peptydoglikanu bakterii.
Źródło: opracowanie własne wg Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A. Mikrobiologia. Red. wyd. pol. A. Przondo-Mordarska, G. Martirosian, A. Szkaradkiewicz. Edra Urban and Partner. Wrocław 2018.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska



Ryc. I.1b. Przekroje osłon komórkowych bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.
Źródło: Mikrobiologia i immunologia dla studentów kierunku lekarsko-dentystycznego. Red. B. Mazur, Z. Czuba. Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach. Katowice 2020.

Bakterie Gram-dodatnie mają grubą (30–100 nm) warstwę mureiny, która stanowi od 60 do 100% masy całej ściany komórkowej. Ważnym jej składnikiem są kwasy tejchojowe i lipotejchojowe. Komórkę Gram-dodatnią, po usunięciu ściany komórkowej w wyniku działania np. lizozymu, nazywamy **protoplastem**.

Bakterie Gram-ujemne mają cienką (20–30 nm) warstwę mureiny, stanowiącą od 5 do 10% masy całej ściany komórkowej. Występuje dodatkowa struktura zwana **błoną zewnętrzną**, zbudowana z fosfolipidów, białek transbłonowych i **lipopolisacharydu (LPS)**.

LPS jest endotoksyną uwalnianą w wyniku rozpadu komórki bakteryjnej. Składa się z **lipidu A**, który odpowiada za efekt toksyczny, **polisacharydu rdzeniowego** i **antygenu somatycznego O**. LPS jest cząsteczką silnie immunogenną.

Efektem działania endotoksyny jest uogólniony stan zapalny wynikający z nadprodukcji cytokin prozapalnych. Wpływają one na obniżenie ciśnienia krwi, podwyższenie temperatury ciała oraz zwiększenie przepuszczalności naczyń włosowatych, co może prowadzić do rozsianego wewnątrznaczyniowego wykrzepiania krwi, powodując upośledzenie funkcji różnych narządów. Uwolnienie dużych ilości endotoksyny może prowadzić do **wstrząsu septycznego**, co jest stanem zagrożenia życia.

Pomiędzy błoną zewnętrzną a błoną cytoplazmatyczną znajduje się **przestrzeń peryplazmatyczna**, z enzymami (kolagenazy, proteazy, β-laktamazy) oraz systemami transportowymi dla żelaza, białek czy cukrów. Komórki bakterii Gram-ujemnych z uszkodzoną ścianą komórkową to **sferoplasty**.

Postacie L bakterii to hodowle protoplastów i sferoplastów utrzymywane *in vitro* i *in vivo*. Hodowane na podłożach stałych tworzą małe kolonie, które wrastają w podłoże i przybierają kształt nieregularny (sadzonego jajka).

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela I.3. Porównanie struktur ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych

Cecha	Bakterie Gram-dodatnie	Bakterie Gram-ujemne
Grubość peptydoglikanu	30–100 nm	20–30 nm
Kwasy tejchojowe i lipotejchojowe	występują	brak
Lipopolisacharyd	brak	występuje
Błona zewnętrzna	brak	występuje

Źródło: opracowanie własne wg Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A. Mikrobiologia. Red. wyd. pol. A. Przondo-Mordarska, G. Martirosian, A. Szkaradkiewicz. Edra Urban and Partner. Wrocław 2018.

2. Błona komórkowa

Błona komórkowa składa się z dwóch warstw fosfolipidów; wbudowane są w nią białka. Przypomina błonę komórek eukariotycznych, jednak w przeciwieństwie do nich nie zawiera cholesterolu. Uczestniczy w transporcie elektronów z udziałem enzymów cytochromowych (synteza adenozynotrifosforanu – ATP), w syntezie i transporcie prekursorów enzymów ściany komórkowej i błony zewnętrznej, a także w sekrecji różnych białek, m.in. egzotoksyn.

3. Nukleoid

Bakterie to organizmy prokariotyczne, nie posiadające jądra komórkowego. Materiał genetyczny występuje w postaci pojedynczej, dwuniciowej struktury DNA (zwanej chromosomem bakteryjnym lub nukleoidem).

4. Plazmidy i transpozony

W komórkach bakteryjnych niezależnie od nukleoidu mogą występować plazmidy i transpozony.
Plazmidy to cząsteczki DNA, które ulegają autonomicznej replikacji (niezależnie od replikacji nukleoidu). Wyróżniamy plazmidy: **koniugacyjne** (plazmid F) – warunkujące proces koniugacji, **opornościowe** (plazmid R) – zawierające geny oporności, np. na antybiotyki, **bakteriocynogenne –** kodujące białka zwane bakteriocynami, hamujące wzrost innych drobnoustrojów.
Transpozony (Tn) to fragmenty DNA, podatne na translokację i włączane w nowe miejsce DNA tej samej komórki w procesie zwanym transpozycją. Kodują geny oporności bakterii na antybiotyki.

5. Rybosomy

W cytoplazmie bakterii zlokalizowane są rybosomy **70S** (stała sedymentacji Svedberga). Składają się z dwóch podjednostek – 30S i 50S – zbudowanych z rybosomowego RNA (rRNA) i białek. Rybosomy odpowiadają za syntezę białek w procesie translacji z udziałem DNA, mRNA, tRNA oraz rRNA.

6. Mezosomy

Mezosomy to wpuklenia błony cytoplazmatycznej do wnętrza komórki bakteryjnej. Stanowią miejsce przyczepienia nukleoidu do błony (mezosomy ścienne), umożliwiając równomierny podział materiału genetycznego w komórkach potomnych. Są miejscem występowania m.in. enzymów oddechowych (cytochromów).

7. Struktury dodatkowe: otoczka, rzęski, fimbrie, przetrwalniki

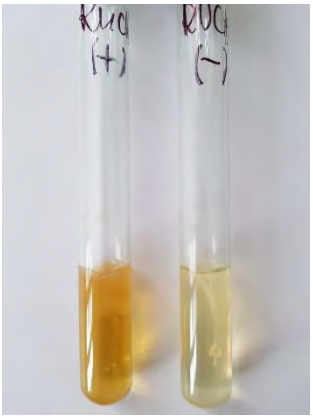
Otoczki bakterii są najczęściej polisacharydowe (rzadziej polipeptydowa jak u *Bacillus anthracis*, zbudowana z kwasu D-glutaminowego, czy alginianowa u *Pseudomonas aeruginosa*). Funkcją otoczki jest ochrona komórki bakteryjnej przed wysychaniem, działaniem antybiotyków i fagocytozą oraz udział w adhezji. Obecność otoczki bakterii zwiększa chorobotwórczość bakterii.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Rzęski umożliwiają bakteriom poruszanie się. Zbudowane są z białka flageliny. Ze względu na sposób rozmieszczenia rzęsek wyróżnia się następujące typy urzęsienia bakterii:

- monotrychalne – obecność tylko jednej rzęski,
- ditrychalne – obecność dwóch rzęsek,
- lofotrychalne (czuborzęse) – rzęski na jednym lub dwóch biegunach,
- peritrychalne (wkołorzęse) – rzęski na całej powierzchni komórki.

Ruch bakterii można obserwować pod mikroskopem, wykonując preparat przyżyciowy w tzw. kropli wiszącej. Do tego celu stosuje się specjalne szkiełko z wgłębieniem. Ruch bakterii można także wykazać, wykonując posiew wgłębny do stożka agarowego z podłożem półpłynnym (ryc. I.2).



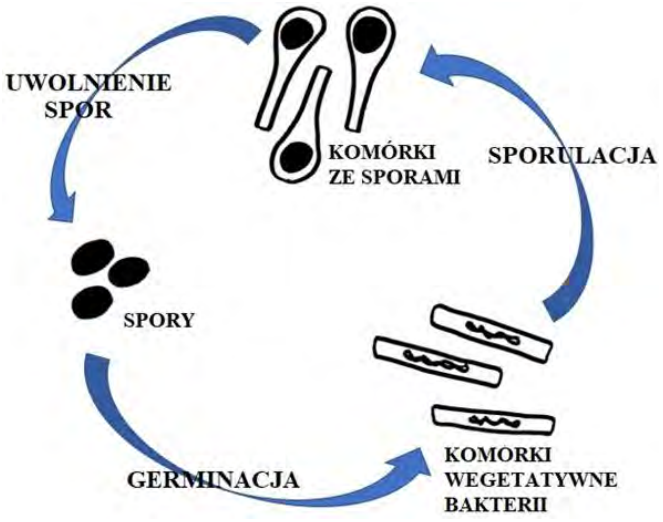
Ryc. I.2. Podłoże półpłynne
(probówka ze znakiem „+" oznacza ruch bakterii, ze znakiem „-" brak ruchu).

Fimbrie (**pile**) to rurkowate struktury, występujące licznie na powierzchni głównie komórek bakterii Gram-ujemnych, zbudowane z białka piliny. Wyróżniamy dwa rodzaje fimbrii:

- adhezyjne – warunkują adhezję do innych komórek bakterii lub do komórek gospodarza,
- płciowe (fimbrie F) – służą do połączenia z inną komórką bakteryjną i wymiany fragmentów chromosomów w procesie koniugacji.

Przetrwalniki (endospory) to formy przetrwalne bakterii, które tworzą się w procesie **sporulacji** wewnątrz komórki bakteryjnej w momencie nastania niekorzystnych warunków środowiska, takich jak: wysuszenie, działanie wysokiej temperatury, działanie substancji chemicznych czy promieniowanie. Wytwarzanie endospor jest procesem wieloetapowym. Z fazy wzrostu logarytmicznego bakterie przechodzą w fazę stacjonarną, w której następuje zahamowanie podziałów komórkowych. Następuje ekspresja (uaktywnienie) genów odpowiedzialnych za rozpoczęcie sporulacji. W komórce zachodzi podział nukleoidu, wokół którego gromadzi się gruby *cortex* (warstwa korowa), zbudowany głównie z peptydoglikanu. Endospora zawiera duże ilości kwasu dipikolinowego związanego z jonami wapnia, którego obecność odpowiada za ciepłooporność. Przejście spor do form wegetatywnych bakterii, kiedy pojawią się sprzyjające warunki środowiska, to **germinacja** (ryc. I.3). Przetrwalniki wytwarzają bakterie beztlenowe, laseczki z rodzaju *Clostridium* oraz tlenowe z rodzaju *Bacillus*.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska



Ryc. I.3. Schemat tworzenia przetrwalników w komórce bakteryjnej.
Źródło: opracowanie własne.

Bakteriologia ogólna – fizjologia komórki bakteryjnej

Czynniki zjadliwości bakterii

Czynnikami zjadliwości, inaczej czynnikami wirulencji, nazywamy cechy, które umożliwiają bakteriom wywołanie zakażenia i jego dalsze rozprzestrzenianie się w obrębie wrażliwych tkanek gospodarza. Bakterie mogą posiadać jeden lub kilka takich czynników, co determinuje ich chorobotwórczość. Czynniki zjadliwości mogą być jednakowe w obrębie danego gatunku bądź danego szczepu bakterii. Dzięki różnym mechanizmom wymiany materiału genetycznego możliwe jest nabywanie czynników zjadliwości.

Znajomość czynników wirulencji oraz mechanizmów, za pomocą których bakterie są w stanie wywołać zakażenie, leży u podstaw zrozumienia patogenezy chorób infekcyjnych. Dzięki temu możliwe jest wdrożenie skutecznej profilaktyki i leczenie zakażeń.

Do najpowszechniejszych czynników zjadliwości zaliczamy:

- otoczki,
- adhezyny – nazywane czynnikami przylegania, do których należą: fimbrie, antygen O, białko M (u *Streptococcus pyogenes*),
- „inwazyjność" – warunkowana właściwościami morfologicznymi i metabolizmem bakterii,
- egzoenzymy – wytwarzane w obrębie komórki i wydzielane do środowiska otaczającego drobnoustrój, umożliwiają szerzenie się zakażenia poprzez: rozkład włóknika, kolagenu, materiału komórkowego, macierzy pozakomórkowej czy enzymatyczną modyfikację i inaktywację antybiotyków,
- toksyny – egzotoksyny i endotoksyny:
  a) egzotoksyny to białka wydzielane na zewnątrz komórki przez żywe bakterie Gram-dodatnie oraz Gram-ujemne; należą tu:
     – cytotoksyny (np. toksyna błonicza, toksyna Shiga)
     – neurotoksyny (np. toksyna botulinowa, toksyna tężca – tetanospazmina)
     – enterotoksyny (np. ciepłochwiejna, ciepłostała, toksyna cholery)
     – hemolizyny

     Przykłady drobnoustrojów i wydzielanych przez nie egzotoksyn:
     – *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty) – **enterotoksyny**, eksfoliatyny, toksyna zespołu wstrząsu toksycznego (TSST-1)
     – *Streptococcus pyogenes* (paciorkowiec ropotwórczy) – **toksyny pirogenne**

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

- *Corynebacterium diphtheriae* (maczugowiec błonicy) – **toksyna błonicza**
- *Bordetella pertussis* (pałeczka krztuśca) – **toksyna krztuścowa**
- *Escherichia coli* (pałeczka okrężnicy) – **enterotoksyny**, toksyny typu czerwonkowego (werotoksyny)
- *Shigella dysenteriae* – **toksyna czerwonkowa**
- *Vibrio cholerae* – **choleragen**
- *Pseudomonas aeruginosa* (pałeczka ropy błękitnej) – **egzotoksyna A**
- *Clostridium tetani* – **tetanospazmina**
- *Clostridium botulinum* – **toksyna jadu kiełbasianego**
- *Clostridium perfringens* – **toksyna alfa**

b) endotoksyny (lipopolisacharyd lub lipooligosacharyd) wchodzą w skład błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych. Uwalniane są podczas lizy komórki. Za efekt toksyczny odpowiedzialny jest lipid A. W odróżnieniu od egzotoksyn są stabilne termicznie.

Zmienność genetyczna bakterii

Bakterie dysponują mechanizmami umożliwiającymi międzykomórkowy transfer DNA. Do mechanizmów tych należą:

- **transformacja** – pobieranie przez bakterie wolnych cząsteczek DNA ze środowiska i wbudowywanie ich do swojego genomu,
- **transdukcja** – przenoszenie informacji genetycznej między komórkami bakteryjnymi za pośrednictwem bakteriofagów (wirusów bakteryjnych),
- **koniugacja** – wymiana informacji genetycznej pomiędzy jedną komórką bakteryjną, tzw. dawcą, a drugą komórką, tzw. biorcą, z udziałem fimbrii koniugacyjnych.

Zapotrzebowanie bakterii na tlen

Ze względu na różne zapotrzebowanie bakterii na tlen wyróżnia się sześć grup drobnoustrojów (tab. I.4). Różna tolerancja bakterii na tlen ma istotne znaczenie podczas pobierania materiału do badania bakteriologicznego, a także jego transportu do laboratorium. Jeśli materiału w kierunku hodowli beztlenowców nie zabezpieczymy przed dostępem tlenu, wówczas uzyskamy wyniki fałszywie ujemne.

Tabela I.4. Podział bakterii ze względu na zapotrzebowanie na tlen

Grupa bakterii	Przykłady	Zapotrzebowanie na tlen
1	2	3
Bezwzględne tlenowce	*Pseudomonas aeruginosa* *Mycobacterium tuberculosis*	do wzrostu wymagają obecności tlenu atmosferycznego (21%)
Względne beztlenowce	większość bakterii stanowiących naturalną mikroflorę oraz bakterii chorobotwórczych dla człowieka, np. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*	mogą wzrastać zarówno w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych
Mikroaerofilne	*Helicobacter pylori*	do wzrostu wymagają tlenu, jednak jego stężenie w atmosferze powinno być obniżone; optymalny wzrost odbywa się przy jednoczesnym zwiększeniu ciśnienia parcjalnego CO_2 (2–10% O_2 i 10% CO_2)
Kapnofilne	*Haemophilus influenzae* *Neisseria gonorrhoeae* *Neisseria meningitidis*	do wzrostu wymagają zwiększonego stężenia CO_2 (do 15%)

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cd. tab. I.4

1	2	3
Bezwzględne beztlenowce	*Clostridium tetani* *Clostridioides difficille*	nie są zdolne do wzrostu, gdy zawartość tlenu w atmosferze przekracza 0,5%; tlen jest dla nich toksyczny
Beztlenowce aerotolerancyjne	niektóre laseczki z rodzaju *Clostridium*	mogą krótko przeżyć, ale nie rosnąć w obecności tlenu atmosferycznego

Źródło: opracowanie własne wg Mikrobiologia. Red. J. Baj. Wyd. Naukowe PWN. Warszawa 2018.

Wymagania temperaturowe bakterii

Bakterie ze względu na różną tolerancję termiczną możemy podzielić na cztery grupy (tab. I.5). Bakterie patogenne dla człowieka należą głównie do mezofilów i najkorzystniej namnażają się w temperaturze ciała ludzkiego (około 37ºC). Bakterie psychrofilne, termofilne oraz hipertermofilne to tzw. **ekstremofile**. Dzięki pewnym modyfikacjom ich błon, białek i kwasów nukleinowych są przystosowane do życia w ekstremalnych warunkach środowiska.

Tabela I.5. Podział bakterii ze względu na wymagania temperaturowe

Grupa bakterii	Optymalna temperatura do wzrostu	Charakterystyka
Psychrofile	0–20°C	naturalnym środowiskiem ich występowania są głębiny mórz i oceanów, regiony podbiegunowe oraz strumienie lodowcowe
Mezofile	20–40°C (optymalny zakres to 35–37°C)	do grupy tej należy większość bakterii chorobotwórczych dla człowieka, a także bakterie wchodzące w skład flory fizjologicznej
Termofile	40–70°C	naturalnym środowiskiem ich występowania są gorące źródła
Hipertermofile	> 70°C	naturalnym środowiskiem ich występowania są gorące źródła

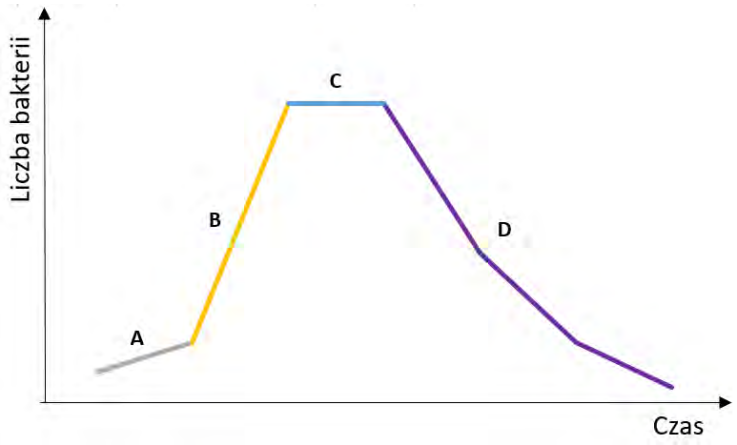
Źródło: opracowanie własne wg Mikrobiologia. Red. J. Baj. Wyd. Naukowe PWN. Warszawa 2018.

Krzywa wzrostu bakterii

Komórki bakteryjne dzielą się przez podział prosty. Wykres przedstawiający liczbę komórek bakteryjnych w hodowli w zależności od czasu jej rozwoju to tzw. krzywa wzrostu bakterii. Dynamikę wzrostu populacji bakterii możemy podzielić na cztery fazy:

- spoczynkową (pierwotnego zahamowania) – liczba komórek bakteryjnych nie ulega zmianie,
- wzrostu logarytmicznego – intensywne podziały komórek bakteryjnych; w tej fazie komórki bakterii są bardzo wrażliwe na antybiotyki β-laktamowe, co wynika z syntezy ich ściany komórkowej,
- równowagi – zwalnia się tempo podziału komórek, liczba dzielących się i obumierających komórek jest w równowadze,
- wymierania – procesy metaboliczne ulegają spowolnieniu, w komórkach następują zmiany degeneracyjne (ryc. I.4).

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska



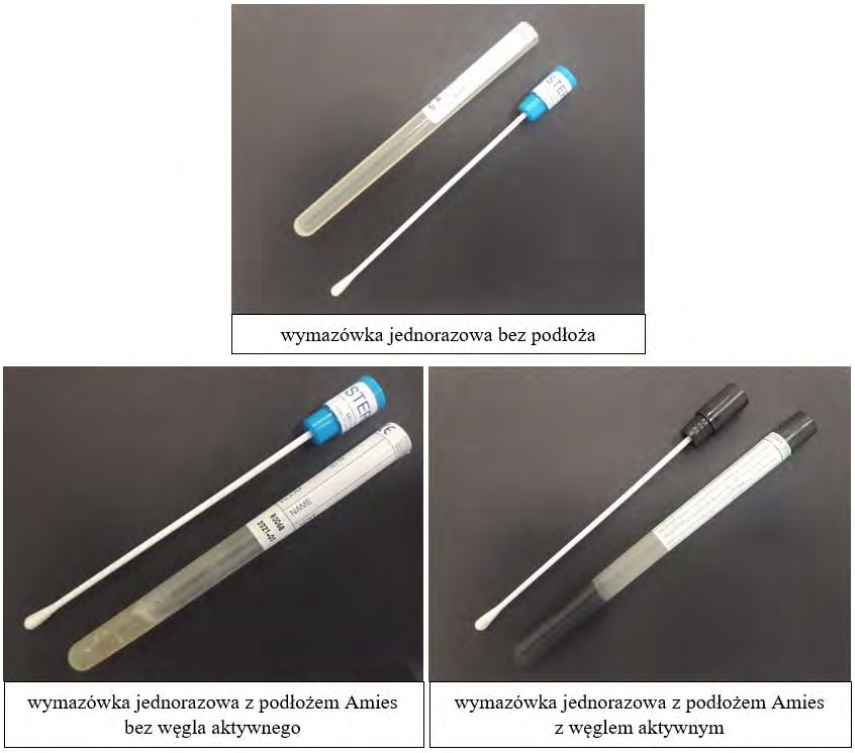
Ryc. I.4. Fazy wzrostu bakterii: A – faza spoczynkowa, B – faza wzrostu logarytmicznego, C – faza równowagi, D – faza wymierania.
Źródło: opracowanie własne na podstawie Mikrobiologia lekarska. Red. P.B. Heczko, M. Wróblewska, A. Pietrzyk. Wyd. Lekarskie PZWL. Warszawa 2014.

Czas generacji to czas między dwoma podziałami komórki. Do szybko dzielących się komórek bakterii należy *Escherichia coli* (czas generacji to około 20 minut), natomiast wolno dzielące się komórki to m.in. *Mycobacterium tuberculosis* (18–24 godziny).

Diagnostyka bakteriologiczna

W procesie diagnostyki i leczenia zakażeń bakteryjnych ważne są prawidłowa identyfikacja i rozpoznanie czynnika etiologicznego schorzenia. Identyfikację mikroorganizmu przeprowadza się w laboratorium bakteriologicznym; procesowi temu zostaje poddany materiał kliniczny pobrany od pacjenta. Decydujący wpływ na wynik badania mikrobiologicznego ma sposób pobrania materiału oraz jego transport do laboratorium. Materiał do badań mikrobiologicznych pobierany jest przed wdrożeniem antybiotykoterapii lub dwa tygodnie po jej zakończeniu. Wyjątkowo materiał można pobrać w trakcie antybiotykoterapii przed kolejną dawką leku. Materiał badany powinien pochodzić z miejsca, w którym toczy się proces infekcyjny. Należy go pobierać w taki sposób, aby uniknąć ewentualnego zanieczyszczenia pochodzącego z okolicznych tkanek czy wydzielin. Wszelkie wymazy pobiera się za pomocą tzw. wymazówek, czyli pałeczek z tworzywa sztucznego pokrytych wacikiem, często z dołączoną probówką zawierającą podłoże transportowe lub bez podłoża (ryc. I.5). Odpowiedni skład podłoża zapewnia przeżywalność drobnoustrojów podczas transportu do laboratorium. Rodzaj podłoża należy dobrać do rodzaju wykonywanych badań, np. podłoże Stuart stosowane jest do transportu materiału pobranego z miejsca zakażenia wywołanego prawdopodobnie przez bakterie tlenowe i względnie beztlenowe; podłoże Amies – do transportu materiału pobranego z miejsca zakażenia wywołanego prawdopodobnie przez bakterie tlenowe, beztlenowe oraz *Neisseria gonorrhoeae*; podłoże Cary Blair – do transportu materiału z bakteriami z grupy beztlenowców. Dodatek węgla aktywnego do podłoża absorbuje i neutralizuje m.in. toksyny bakteryjne, zwiększając przeżywalność patogennych drobnoustrojów.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska



Ryc. I.5. Rodzaje wymazówek.

Zasady pobierania wymazu z nosa (badanie na nosicielstwo gronkowca złocistego)

Materiał z nosa, przed jego oczyszczeniem, można pobrać o każdej porze dnia. Przez 2–3 godziny przed badaniem nie powinny być stosowane środki antybakteryjne, w tym krople, maści, kremy. Materiał pobierany jest z obu przedsionków nosa za pomocą suchej wymazówki lub zwilżonej jałową solą fizjologiczną. Wymazówkę z pobranym materiałem umieszcza się w probówce z podłożem transportowym.

Zasady pobierania wymazu z gardła i jamy nosowo-gardłowej (w tym z migdałków)

Pacjent powinien być na czczo. Jamę ustną należy przepłukać przegotowaną wodą (nie należy myć zębów). Język przytrzymuje się szpatułką w celu uwidocznienia miejsc pobrania materiału. Zdecydowanym, uciskającym, kolistym ruchem jałową wymazówką pobiera się materiał z miejsc zmienionych zapalnie, w tym z powierzchni migdałków i łuków podniebiennych, czopów ropnych, nalotów lub okolic tylnej ściany gardła pokrytych wydzieliną. W przypadku suchych błon śluzowych wacik wymazówki można zwilżyć jałowym roztworem soli fizjologicznej. Nie należy dotykać języka ani języczka podniebiennego, starając się nie zanieczyścić wymazówki śliną. Wymazówkę z pobranym materiałem umieścić w probówce z podłożem transportowym. W przypadku podejrzenia zakażenia grzybiczego badanie należy powtórzyć.

Zasady pobierania wymazu z rany powierzchniowej

Przed pobraniem wymazu okolice rany należy odkazić środkiem dezynfekcyjnym i pozostawić do wyschnięcia. Materiał pobierany jest jałową wymazówką z centralnej części i pogranicza rany. Wymazówkę umieszcza się w podłożu transportowym.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Zasady pobierania krwi, płynu mózgowo rdzeniowego i innych materiałów do badania bakteriologicznego

Wskazaniem do badania bakteriologicznego krwi jest podejrzenie sepsy lub jej kliniczne rozpoznanie, infekcyjne zapalenie wsierdzia (IZW), gorączka o nieustalonej etiologii czy zakażenie związane z obecnością cewnika naczyniowego. Procedura pobierania krwi na posiew w celu wykrycia czynnika etiologicznego zakażenia należy do zabiegów inwazyjnych i wymaga ścisłego przestrzegania zasad, pozwalających na otrzymanie wiarygodnego wyniku. Krew na posiew pobiera się do butelek z płynnym podłożem namnażającym, osobno dla bakterii tlenowych i beztlenowych. Przed pobraniem krwi butelki należy ogrzać do temperatury 37ºC. Krew pobierana jest przy łóżku chorego około 30–60 minut przed spodziewanym szczytem gorączki, tzn. gdy pojawią się niespecyficzne objawy, np. dreszcze. Objętość krwi pobieranej u dorosłych powinna wynosić około 10–20 ml, u dzieci 2–5 ml, natomiast u noworodków 1–2 ml. Liczba próbek krwi zależy od stanu klinicznego pacjenta. Hodowlę krwi prowadzi się w automatycznych systemach monitorujących, np. BacT/ALERT. Po uzyskaniu z aparatu informacji o wyniku dodatnim, wykonuje się preparat barwiony metodą Grama oraz posiew na podłoża stałe. Jeżeli preparat potwierdzi dodatni wynik hodowli, informację należy natychmiast przekazać lekarzowi oraz przeprowadzić identyfikację drobnoustroju i ocenę jego lekowrażliwości.

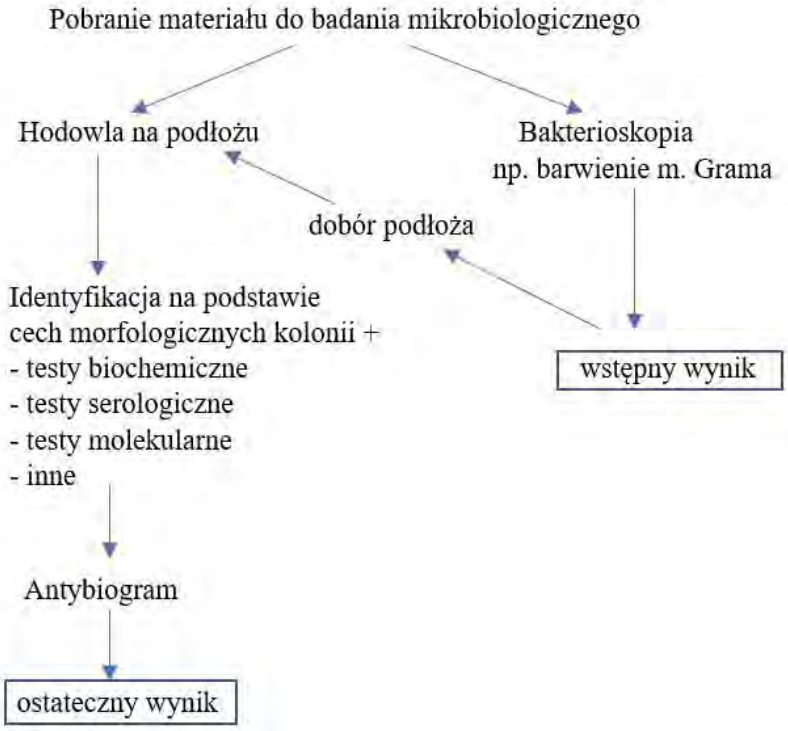
Wskazaniem do badania mikrobiologicznego płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR) jest m.in. podejrzenie bakteryjnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych. PMR pobierany jest przez lekarza w warunkach aseptycznych podczas nakłucia lędźwiowego. Polega ono na wprowadzeniu igły punkcyjnej w przestrzeń podpajęczynówkową kręgosłupa między 4 i 5 kręgiem lędźwiowym. Materiał pobierany jest w objętości 3–4 ml do sterylnej plastikowej probówki i przesyłany do laboratorium w temperaturze 37°C. Zakażenie ośrodkowego układu nerwowego (OUN) może przebiegać z bakteriemią, dlatego do badania mikrobiologicznego równolegle z PMR pobierana jest krew. W laboratorium część PMR posiewa się na podłoże płynne, a pozostałą część zagęszcza poprzez odwirowanie. Osad wykorzystywany jest do dalszych testów mikrobiologicznych.

Materiały płynne, takie jak mocz, plwocina, aspiraty oskrzelowe, pobierane są do jałowych, szczelnie zakręcanych pojemników. Do pobierania kału stosowane są specjalne pojemniki zaopatrzone w szpatułkę lub łyżeczkę zespoloną z pokrywą pojemnika. Przesyłając materiał do laboratorium, należy do niego dołączyć skierowanie wypełnione przez lekarza wraz z następującymi informacjami: dane do identyfikacji pacjenta (imię, nazwisko, adres zamieszkania, pesel), rodzaj materiału, kierunek badania oraz badań specjalnych, czas pobrania materiału (data i godzina), rodzaj przyjmowanych aktualnie leków przeciwdrobnoustrojowych.

Hodowla bakterii na podłożu mikrobiologicznym uznawana jest za złoty standard w diagnostyce bakteriologicznej. Bakterie hoduje się przeważnie na podłożach sztucznych, których skład zapewnia odpowiednie warunki do wzrostu. Czas prowadzenia hodowli wynosi od 18 do 24 godzin dla bakterii tlenowych i względnie beztlenowych. W przypadku beztlenowców czas ten wynosi około 7 dni, z kolei bakterie „wybredne", np. *Mycobacterium tuberculosis*, wzrastają po około 4–6 tygodniach. Równolegle przeprowadza się badanie mikroskopowe bakterii (**bakterioskopię**), stanowiące wstępną ocenę materiału pobranego od pacjenta, a także dostarczające istotnych informacji przed wykonaniem pełnej diagnostyki mikrobiologicznej. Barwienie umożliwia ocenę kształtu komórek bakteryjnych i ich ułożenia względem siebie. Najczęściej stosowaną metodą barwienia jest metoda Grama. Po wyhodowaniu bakterii kolejnym etapem jest identyfikacja (oznaczenie) gatunku bakterii. Wstępna identyfikacja polega na ocenie cech kolonii (zbiór bakterii widoczny makroskopowo, powstały w wyniku podziałów z jednej komórki bakteryjnej) na podłożu. Obserwuje się wielkość kolonii, kształt, barwę, a na agarze krwawym także rodzaj hemolizy. Identyfikację gatunku prowadzi się zwykle z zastosowaniem gotowych zestawów testów biochemicznych, m.in. umożliwiających wykrycie produkcji określonego enzymu. Coraz częściej stosowane są również nowoczesne metody, takie jak spektrometria masowa MALDI-TOF MS

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

oparta na analizie profilu białkowego drobnoustroju, umożliwiająca identyfikację wyhodowanego drobnoustroju w ciągu kilku minut. Ostatnim etapem diagnostyki jest ocena lekowrażliwości drobnoustrojów (ryc. I.6).



Ryc. I.6. Etapy badania mikrobiologicznego.
Źródło: opracowanie własne wg Podstawy mikrobiologii i epidemiologii szpitalnej. Red. M. Bulanda, S. Szostek. Wyd. Lekarskie PZWL. Warszawa 2020.

W przypadku zakażeń wywołanych przez drobnoustroje, których nie można hodować na podłożach bakteriologicznych lub jeśli wymagane są szczególne warunki hodowli, stosuje się badania serologiczne. Umożliwiają one wykrycie czynnika etiologicznego w sposób pośredni. W diagnostyce serologicznej stosowane są testy aglutynacji, immunochromatograficzne czy immunoenzymatyczne służące do wykrywania antygenów bakterii (np. elementów ściany komórkowej, toksyn) lub przeciwciał, które powstają w odpowiedzi na zakażenie.

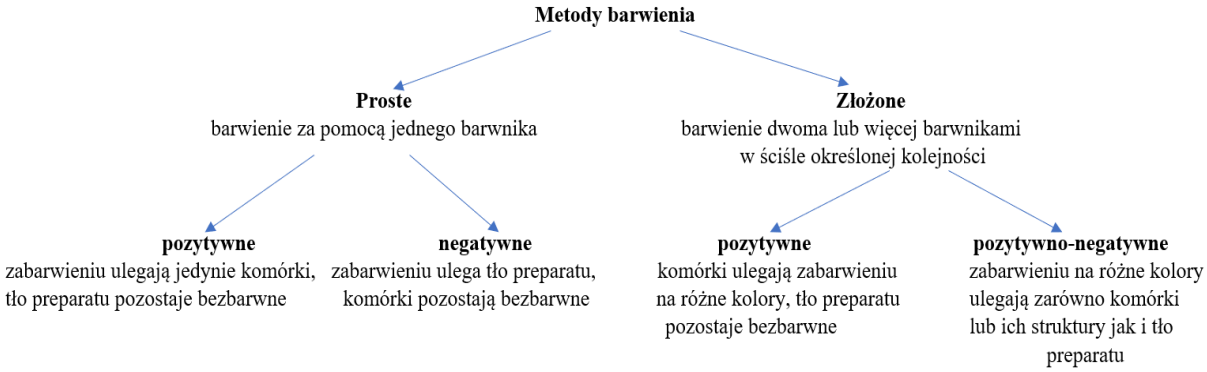
Jak wspomniano, preparat z hodowli bakterii na wstępnym etapie diagnostyki poddawany jest barwieniu. Celem barwienia jest ułatwienie obserwacji cech anatomicznych, morfologicznych i diagnostycznych komórek mikroorganizmów, np. ich wielkości, kształtu, ułożenia, obecności i rozmieszczenia wici czy rzęsek, obecności otoczki czy rozmieszczenia form przetrwalnikowych. Metody barwienia możemy podzielić na:

Barwienie proste pozytywne – polega na zabarwieniu komórki bakterii z zastosowaniem jednego barwnika, tło preparatu pozostaje bezbarwne. W barwieniu stosowane są barwniki anilinowe, takie jak: błękit metylenowy, zieleń malachitowa, zieleń brylantowa, fuksyna zasadowa, czerwień obojętna, fiolet krystaliczny. Barwniki zasadowe wykazują silne powinowactwo z kwaśną cytoplazmą, tworząc z nią trwałe i barwne kompleksy.

Barwienie proste negatywne – polega na zabarwieniu tła preparatu nieutrwalonego z zastosowaniem jednego barwnika, wskutek czego powstaje kontrast między wybarwionym tłem a bezbarwną komórką. W barwieniu stosowane są barwniki grubodyspersyjne: nigrozyna, tusz chiński, lub kwaśne: fuksyna kwaśna, eozyna, czerwień Kongo. Preparat barwiony metodą negatywną nie jest utrwalany, tylko suszony.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Barwienie złożone pozytywne – polega na zastosowaniu dwóch lub większej liczby barwników w celu zabarwienia komórek na różne kolory (np. barwienie Grama) lub zabarwienia struktur wewnątrzkomórkowych, np. przetrwalników.
Barwienie złożone pozytywno-negatywne – to połączenie dwóch metod barwienia. Stosowane jest w celu uwidocznienia otoczek u bakterii (ryc. I.7).
W laboratorium bakteriologicznym najczęściej stosowane jest barwienie metodą Grama, umożliwiające odróżnienie bakterii Gram-dodatnich od Gram-ujemnych.



Ryc. I.7. Metody barwienia bakterii.
Źródło: opracowanie własne wg Borowski J., Zaremba M.L. Mikrobiologia lekarska: podręcznik dla studentów medycyny. Wyd. Lekarskie PZWL. Warszawa 2004.

Przygotowanie preparatu do barwienia

Przed przystąpieniem do barwienia należy odtłuścić szkiełko podstawowe. W płomieniu palnika wyżarza się ezę bakteriologiczną i za jej pomocą na szkiełku umieszcza się 1–2 krople soli fizjologicznej. Za pomocą ponownie wyżarzonej ezy nanosi się badany materiał, który rozprowadzany jest na szkiełku. Tak przygotowany preparat pozostawia się do wyschnięcia. Preparat należy utrwalić, przeprowadzając 3-krotnie przez płomień palnika szkiełko zwrócone rozmazem ku górze w pozycji poziomej.

1. Barwienie metodą Grama

Na przygotowane szkiełko nalewa się fiolet krystaliczny. Preparat spłukuje się wodą i nalewa płyn Lugola (roztwór jodu w jodku potasu). Ponownie należy spłukać preparat wodą, odbarwić 96-proc. etanolem i ponownie spłukać wodą. Następnie dodawana jest fuksyna karbolowa lub safranina. Preparat spłukiwany jest wodą i pozostawiany do wyschnięcia. Na szkiełko dodaje się kroplę olejku immersyjnego i ogląda pod mikroskopem świetlnym z obiektywem immersyjnym.
Bakterie Gram-dodatnie barwią się na fioletowo/granatowo, bakterie Gram-ujemne na kolor różowy/czerwony.

2. Barwienie metodą Ziehla-Neelsena

Bakterie z rodzaju *Mycobacterium* spp. (prątki) ze względu na wysoką zawartość lipidów (obecność kwasów mikolowych) w ścianie komórkowej trudno barwią się metodą Grama, stąd do barwienia prątków stosowana jest m.in. metoda Ziehla-Neelsena. Na utrwalony preparat dodawana jest stężona fuksyna karbolowa i 3-krotnie podgrzewa się barwnik, aż do pojawienia się pary. Następnie odbarwia się preparat mieszaniną kwasu solnego z alkoholem. Preparat spłukuje się wodą i podbarwia błękitem metylenowym.
W wyniku tego barwienia prątki jako bakterie kwasooporne wybarwiają się na kolor czerwony i widoczne są na tle innych drobnoustrojów oraz składników preparatu, które przyjmują kolor niebieski.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

3. Barwienie metodą Neissera

Barwienie Neissera umożliwia wykrycie ciałek zapasowych Ernsta-Babesa (ziaren wolutyny) w komórkach maczugowców (*Corynebacterium*). Utrwalony na szkiełku preparat należy zalać mieszaniną barwnika A (błękit metylenowy) i barwnika B (fiolet krystaliczny) w stosunku 2:1. Preparat należy spłukać wodą, a następnie dobarwić chryzoidyną. Na koniec nie spłukuje się preparatu, należy go jedynie wysuszyć i oglądać pod immersją. Ciałka Ernsta-Babesa zabarwią się na granatowo, natomiast komórki na żółto.

W celu wyizolowania określonego gatunku bakterii należy zastosować odpowiednie warunki hodowli oraz dobrać odpowiednie podłoże mikrobiologiczne.

Podłoża mikrobiologiczne możemy podzielić ze względu na ich skład chemiczny:

- **podłoża naturalne** – skład chemiczny nie jest w pełni zdefiniowany, zawierają hydrolizaty białek lub wyciągi z tkanek,
- **podłoża syntetyczne** – skład jakościowy i ilościowy jest ściśle określony,
- **podłoża półsyntetyczne** – o częściowo znanym składzie chemicznym, zawierają składniki syntetyczne i pochodzenia naturalnego.

Inny podział dotyczy konsystencji podłoży:

- **podłoża płynne** – umożliwiają szybkie namnażanie drobnoustrojów,
- **podłoża półpłynne** – stosowane do obserwacji ruchu bakterii, zawierają 0,1–0,7-proc. agar,
- **podłoża stałe** – stosowane przy izolacji poszczególnych kolonii bakteryjnych; dostarczają informacji na temat morfologii i cech biochemicznych drobnoustrojów; sporządzane są na płytkach Petriego bądź w probówce w postaci słupków i skosów, zawierają 1,5–2-proc. agar.

Kolejny podział podłoży odnosi się do dodatku składników odżywczych:

- **podłoża minimalne** – zawierają najbardziej podstawowe składniki odżywcze niezbędne do podtrzymania wzrostu drobnoustrojów,
- **podłoża proste** – zawierają niezbędne substancje odżywcze umożliwiające wzrost drobnoustrojów o niezbyt wysokich wymaganiach,
- **wzbogacone** – dla drobnoustrojów o większych wymaganiach wzrostowych, zawierają czynniki wzbogacające, takie jak krew, surowica, glukoza.

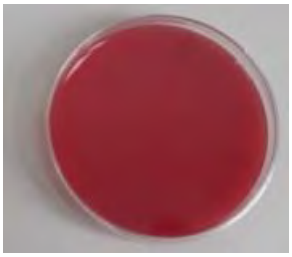
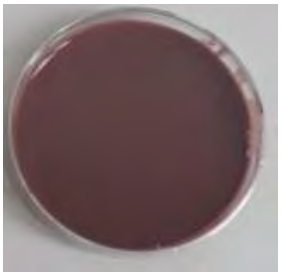
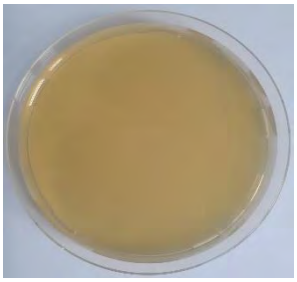
Ostatni podział dotyczy zastosowania podłoży:

- **podłoża namnażające** – służą do otrzymania dużej biomasy drobnoustrojów, najczęściej są to podłoża płynne,
- **podłoża wybiórczo-namnażające** (**selektywne**) – zawierają czynnik wybiórczy, który hamuje wzrost pewnej grupy drobnoustrojów (tzw. florę towarzyszącą), oraz czynnik namnażający, który umożliwia wzrost określonego gatunku,
- **podłoża wybiórczo-różnicujące** – zawierają czynnik wybiórczy, który hamuje wzrost flory towarzyszącej, oraz czynnik różnicujący, który pozwala na identyfikację drobnoustroju na podstawie jego metabolizmu; identyfikacji dokonuje się, produkując enzym, który wytwarza jeden ze szczepów rosnący na tym podłożu; dodatek wskaźnika do podłoża informuje o reakcji chemicznej,
- **podłoża specjalne** – dla bakterii o szczególnie wysokich wymaganiach hodowlanych, np. podłoże Loewensteina-Jensena, Loefflera, podłoża dla beztlenowców (Tarrozziego-Wrzoska, Hiblera),
- **podłoża transportowe** – podłoża służące do transportu próbek z drobnoustrojami.

W tabeli I.6 przedstawiono wybrane podłoża mające zastosowanie w diagnostyce mikrobiologicznej.

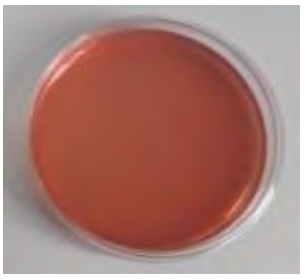
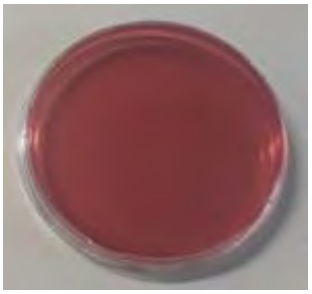
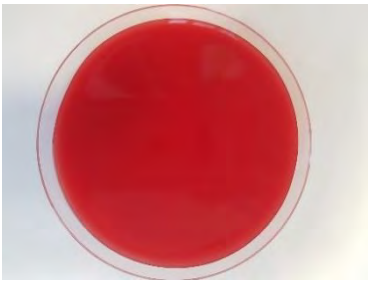
Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela I.6. Rodzaje podłoży mikrobiologicznych

Rodzaj podłoża	**Przykładowe podłoża wraz ze zdjęciem czystego podłoża**	Charakterystyka
1	2	3
Proste	**bulion zwykły** (wyciąg mięsny z 1-proc. peptonem i 0,5-proc. NaCl) **agar zwykły**	umożliwiają wzrost bakteriom mało wymagającym
Wzbogacone	 **bulion cukrowy**	z dodatkiem glukozy, dodatkowo podłoże namnażające dla większości bakterii
	 **agar krwawy** (z dodatkiem 5-proc. odwłóknionej krwi baraniej)	można na nim zaobserwować zdolność bakterii do wywoływania hemolizy; drobnoustroje, które wydzielają hemolizyny lub nie mają takiej zdolności, wywołują różne typy hemolizy: α – częściowa hemoliza krwinek z zazielenieniem podłoża (przekształcenie hemoglobiny w methemoglobinę), np. *Streptococcus pneumoniae*; β – całkowita hemoliza krwinek ze strefą przejaśnienia wokół kolonii, np. *Streptococcus pyogenes*; γ – brak hemolizy, np. *Streptococcus mutans*
	 **agar czekoladowy** (zdenaturowana krew barania)	w wyniku ogrzania podłoża do temp. 80°C następuje liza erytrocytów i uwolnienie do podłoża dwóch czynników: V (NAD – dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy) i X (hemina); podłoże umożliwia wzrost m.in. *Haemophilus influenzae* i *Neisseria gonorrhoeae*
Wybiórczo--namnażające	**bulion z żółcią**  **podłoże Sabourauda**	do hodowli *Salmonella* spp. do hodowli grzybów, np. drożdżaków z rodzaju *Candida* spp.

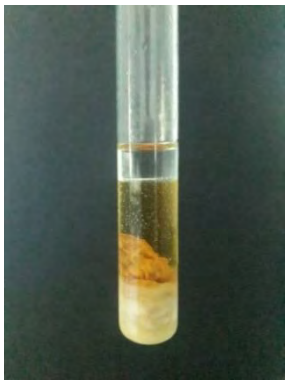
Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cd. tab. I.6

1	2	3
Wybiórczo- -różnicujące	 **podłoże Chapmana**	do hodowli gronkowców; czynnik wybiórczy: 7,5-proc. NaCl; czynnik różnicujący: mannitol (*Staphylococcus aureus* fermentuje mannitol, wrasta na tym podłożu w postaci złocistych kolonii)
	 **podłoże MacConkeya**	do hodowli pałeczek Gram-ujemnych; czynnik wybiórczy: deoksycholan sodu, fiolet krystaliczny; czynnik różnicujący: laktoza (*Escherichia coli* rozkłada laktozę, wrasta na tym podłożu w postaci różowych kolonii)
Do hodowli beztlenowców	 **podłoże Schaedlera (z wit. K1 i L-cystyną)**	do hodowli beztlenowców
	 podłoże płynne z tioglikolanem sodu	tioglikolan sodu obniża potencjał oksydoredukcyjny

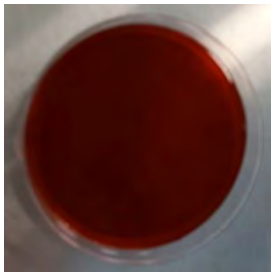
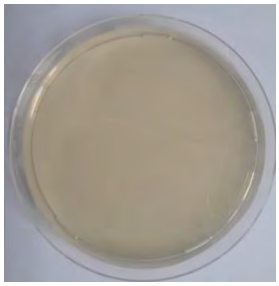
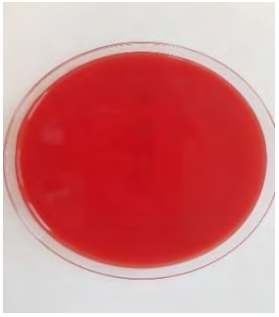
Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cd. tab. I.6

1	2	3
Do hodowli beztlenowców	**podłoże Tarrozziego-Wrzoska**	podłoże bulionowe zawierające kawałki tkanki zwierzęcej (wątroba) przykryte warstwą parafiny
	 **podłoże Hiblera**	podłoże bulionowe zawierające kawałki tkanki zwierzęcej (mózg) przykryte warstwą parafiny
Specjalne	**podłoże Loewensteina-Jensena**	do hodowli prątków (np. dla *Mycobacterium tuberculosis* – prątek gruźlicy)
	podłoże Loefflera	do hodowli maczugowców (np. dla *Corynebacterium diphtheriae* – maczugowiec błonicy)

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cd. tab. I.6

1	2	3
Specjalne	 **podłoże z tellurynem potasu**	do hodowli maczugowców (np. dla *Corynebacterium diphtheriae* – maczugowiec błonicy)
Do badania lekowrażliwości bakterii	 **podłoże Muellera-Hinton**  **agar Muellera-Hinton z dodatkiem 5-proc. krwi końskiej i β-NAD**	z dodatkiem 20 mg/l β-NAD dla bakterii bardziej wymagających

Diagnostyka mikologiczna

Hodowla szczepu grzyba wyizolowanego z materiału klinicznego stanowi złoty standard w diagnostyce grzybic inwazyjnych. Pozwala na identyfikację gatunku wyhodowanego grzyba i umożliwia ocenę lekowrażliwości danego szczepu. Wadą metod hodowlanych jest stosunkowo długi czas potrzebny do uzyskania wzrostu i oceny morfologii kolonii, zwłaszcza w przypadku grzybów pleśniowych. Do badań mikologicznych pobiera się: treść jamy ustnej, wydzielinę narządów płciowych, plwocinę, popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe (*bronchoalveolar lavage* – BAL), płyn z opłucnej, płyn z otrzewnej, krew, PMR, mocz, kał, bioptaty, a także materiały śródoperacyjne. Materiał należy pobrać przed rozpoczęciem terapii przeciwgrzybiczej lub przed podaniem kolejnej dawki leku, do sterylnych pojemników w ilości optymalnej dla danego badania. Do badań mikologicznych nie zaleca się podłoży transportowych, gdyż utrudnione staje się wykonanie preparatu oraz zmianie ulega rzeczywista liczba komórek grzyba w badanym materiale. Diagnostyka zakażeń grzybiczych jest trudna i czasochłonna. Wybór podłoża do izolacji grzybów z materiałów klinicznych zależy od rodzaju badanego materiału oraz od podejrzewanego czynnika etiologicznego. Jeśli wykonuje się posiew materiału pobranego z miejsca pierwotnie niejałowego, należy zastosować podłoża hodowlane zawierające substancje hamujące wzrost bakterii – chloramfenikol i gentamycynę, a w przypadku próbek skontaminowanych grzybami pocho-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

dzącymi ze środowiska również cykloheksymid (aktidion). Dodatek aktidionu hamuje wzrost grzybów pleśniowych, przez co mogą wzrastać dermatofity. Do izolacji i pasażowania większości grzybów patogennych dla człowieka stosuje się **podłoże Sabourauda** (z chloramfenikolem i/lub gentamycyną; z chloramfenikolem i cykloheksymidem). Po 24–48 godzinach hodowli na podłożu będą wzrastać grzyby drożdżopodobne, po około 5 dniach do 2 tygodni grzyby pleśniowe, jeszcze później dermatofity. Dużą wartość diagnostyczną ma wykonanie preparatu bezpośredniego ze zmian klinicznych. Obecność w preparacie blastospor i pseudogrzybni sugeruje zakażenie grzybami drożdżopodobnymi; grube nitki w preparacie bezpośrednim wskazują na obecność pleśni.

Próba filamentacji (test kiełkowania, *germ tube* test) umożliwia szybką identyfikację *Candida albicans* i *Candida dubliniensis*, które wykazują zdolność do tworzenia wypustek (filamentów). Do probówki zawierającej około 0,5 ml surowicy przenosi się komórki grzyba z 24-godzinnej hodowli i inkubuje w temperaturze 35–37°C przez 1–3 godziny. Następnie kroplę hodowli przenosi się na szkiełko podstawowe, nakrywa szkiełkiem nakrywkowym i w preparacie poszukuje się komórek tworzących wypustki.

Preparat rozjaśniony KOH (wodorotlenkiem potasu), **podbarwiony bielą Calcofluor** (Calcofluor White), wykorzystywany jest do bezpośredniego badania większości materiałów klinicznych. Barwnik (biel Calcofluor) nieswoiście wiąże się z chityną i celulozą w ścianie komórkowej grzybów, co powoduje jej fluorescencję w mikroskopie fluorescencyjnym na kolor od jasnozielonego do niebieskiego (w zależności od użytego filtra). Preparaty mogą być przechowywane przez kilka dni w temperaturze 4°C w komorze wilgotnej.

Preparat barwiony tuszem chińskim (India Ink) jest rutynowo wykonywany w przypadku podejrzenia kryptokokozy. Umożliwia uwidocznienie polisacharydowej otoczki *Cryptococcus neoformans.* Aby wykonać preparat, kroplę osadu PMR umieszcza się na szkiełku podstawowym, dodaje kroplę tuszu chińskiego, dokładnie miesza i przykrywa szkiełkiem nakrywkowym. Preparat ocenia się w mikroskopie świetlnym w powiększeniu 400×. Komórki grzyba pozostają niewybarwione, tło barwi się na kolor czarny, natomiast otoczki widoczne są w postaci przejaśnienia „halo" wokół komórki. Należy mieć na uwadze, iż inne gatunki z rodzaju *Cryptococcus* oraz niektóre szczepy *Rhodotorula* sp. także posiadają otoczki.

Wirusologia ogólna

Struktura wirusów

Wirusy nie są organizmami żywymi, gdyż nie mają struktury komórkowej ani własnego metabolizmu. Niezdolne są do namnażania poza organizmem gospodarza. Ich replikacja jest całkowicie uzależniona od żywych komórek gospodarza (eukariotycznych i prokariotycznych). Pojedyncze, pozakomórkowe zakaźne cząstki wirusowe to tzw. wiriony. Zbudowane są z kwasu nukleinowego otoczonego płaszczem białkowym, tzw. kapsydem. Kapsyd zbudowany jest z podjednostek białkowych zwanych kapsomerami. Kwas nukleinowy wraz z kapsydem tworzy tzw. nukleokapsyd.

Kapsyd wirusów może mieć symetrię:

- helikalną – podjednostki białkowe układają się w pierścienie, które z kolei nakładają się na siebie, tworząc kształt wydłużony,
- ikosaedralną (kubiczną) – dwudziestościan foremny o ścianach w kształcie trójkątów równobocznych; struktura zbliżona do kuli,
- złożoną – o bardziej skomplikowanej strukturze, zawierają dodatkowe elementy strukturalne (np. pokswirusy).

Genom wirusów jest utworzony tylko z jednego rodzaju kwasu nukleinowego:

- DNA, który jest dwuniciowy (wyjątek stanowią parwowirusy)
  lub

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

- RNA, który jest jednoniciowy, tzw. ssRNA (wyjątkiem są reowirusy, które mają dwuniciowy RNA, tzw. dsRNA). Kryterium klasyfikacji wirusów ssRNA jest określenie polarności ich genomu:
  (+)ssRNA to materiał genetyczny o dodatniej polarności (RNA może być czytany przez komórkowe rybosomy jako mRNA)
  (-)ssRNA to materiał genetyczny o ujemnej polarności (nie może służyć jako matryca w procesie translacji, musi być przepisany na mRNA komórki gospodarza).

Niektóre wirusy mogą dodatkowo posiadać **osłonkę** pochodzącą z błony komórkowej gospodarza. Wirusy osłonkowe łatwiej ulegają inaktywacji niż wirusy bezosłonkowe, ponieważ lipidy osłonki są wrażliwe na rozpuszczalniki organiczne i detergenty.

Klasyfikacja wirusów

Systematykę wirusów zatwierdza Międzynarodowy Komitet Taksonomii Wirusów (International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV). Klasyfikacja wirusów ustalana jest na podstawie takich cech, jak symetria kapsydu, struktura genomu (DNA lub RNA) oraz polarność kwasu nukleinowego.
W tabelach I.7 i I.8 zestawiono wybrane wirusy DNA i RNA z podaniem genomu, symetrii kapsydu oraz oznaczeniem obecności lub braku osłonki.

Tabela I.7. Wybrane wirusy DNA

Nazwa	Przykład	Osłonka	Symetria	Genom
Herpeswirusy *(Herpesviridae)*	wirus opryszczki pospolitej (HSV), wirus ospy wietrznej i półpaśca (VZV), wirus Epsteina-Barr (EBV)	+	ikozaedralna	dsDNA (linearny)
Hepadnawirusy (*Hepadnaviridae*)	wirus zapalenia wątroby typu B (HBV)	+	helikalna	dsDNA (kolisty – jedna nić niekompletna)
Papillomawirusy (*Papillomaviridae*)	wirus brodawczaka ludzkiego (HPV)	-	ikozaedralna	dsDNA (kolisty)
Adenowirusy (*Adenoviridae*)	ludzki adenowirus	-	ikozaedralna	dsDNA (linearny)
Pokswirusy (*Poxviridae*)	wirus ospy prawdziwej	-	złożona	dsDNA (linearny)
Parwowirusy (*Parvoviridae*)	parwowirus B19	-	ikozaedralna	ssDNA (kolisty)

Źródło: opracowanie własne wg Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A. Mikrobiologia. Red. wyd. pol. A. Przondo-Mordarska, G. Martirosian, A. Szkaradkiewicz. Edra Urban and Partner. Wrocław 2018.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela I.8. Wybrane wirusy RNA

Nazwa	Przykład	Osłonka	Symetria	Genom
Pikornawirusy (*Picornaviridae*)	poliowirusy (3 serotypy), wirusy Coxsackie, wirusy Echo, enterowirusy, wirus zapalenia wątroby typu A (HAV)	–	ikozaedralna	(+)ssRNA
Togawirusy (*Togaviridae*)	wirus różyczki	+	ikozaedralna	(+)ssRNA
Flawiwirusy (*Flaviviridae*)	wirus zapalenia wątroby typu C (HCV), wirus zapalenia wątroby typu G (HGV), wirus Dengi, wirus Zachodniego Nilu	+	ikozaedralna	(+)ssRNA
Kaliciwirusy (*Caliciviridae*)	wirus zapalenia wątroby typu E (HEV)	–	ikozaedralna	(+)ssRNA
Ortomiksowirusy (*Orthomyxoviridae*)	wirus grypy typu A, B i C	+	helikalna	(-)ssRNA
Paramiksowirusy (*Paramyxoviridae*)	wirus paragrypy, wirus świnki, wirus odry, wirus RS (RSV)	+	helikalna	(-)ssRNA
Koronawirusy (*Coronaviridae*)	ludzki koronawirus SARS-CoV-2, wirus SARS	+	helikalna	(+)ssRNA
Retrowirusy (*Retroviridae*)	ludzki wirus niedoboru odporności (HIV-1 i HIV-2)	+	helikalna lub ikozaedralna	(+)ssRNA
Reowirusy (*Reoviridae*)	rotawirusy	–	ikozaedralna	(-)dsRNA

Źródło: opracowanie własne wg Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A. Mikrobiologia. Red. wyd. pol. A. Przondo-Mordarska, G. Martirosian, A. Szkaradkiewicz. Edra Urban and Partner. Wrocław 2018.

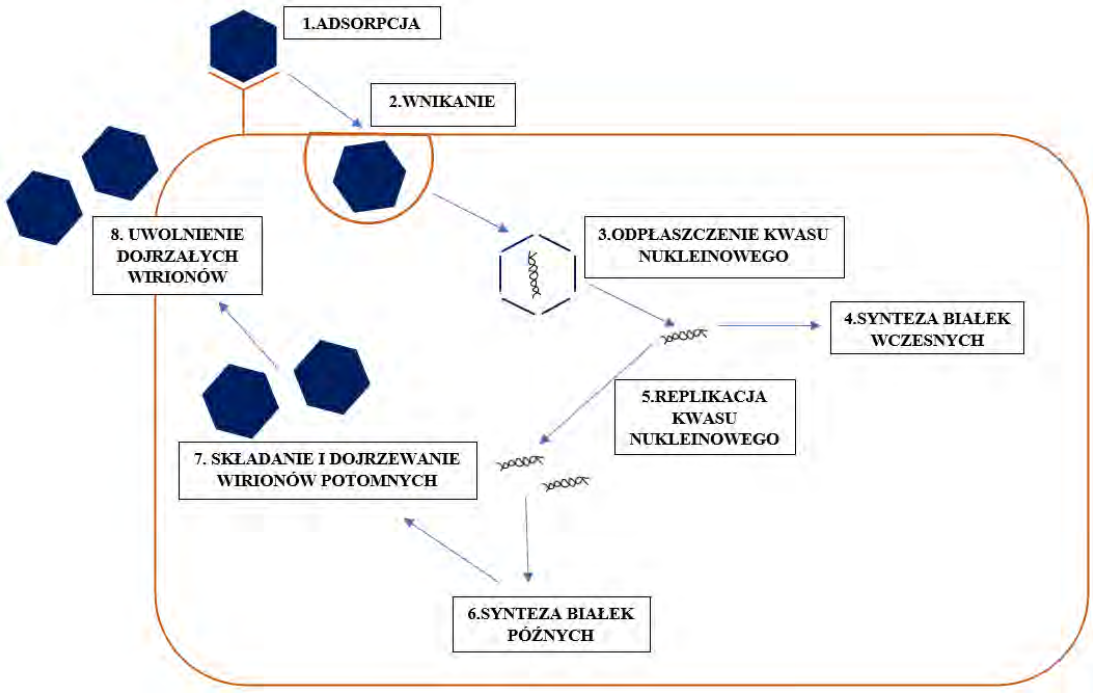
Cykl replikacyjny wirusów

Jak wspomniano, wirusy namnażają się wyłącznie w żywej komórce. Proces ten, określany jako cykl replikacyjny, obejmuje kilka etapów:

1. Adsorpcja – wiązanie się białek lub glikoprotein wirusa ze swoistym receptorem na powierzchni błony komórkowej gospodarza. Komórkę docelową, w której powstają w pełni zakaźne wiriony, nazywamy komórką permisywną.
2. Wnikanie (penetracja) – wirus wnika do komórki, zlewając się z jej błoną komórkową (wirusy osłonkowe), lub w wyniku endocytozy z udziałem receptora, tzw. wiropeksja (wirusy bezosłonkowe i niektóre wirusy osłonkowe).
3. Odpłaszczenie kwasu nukleinowego (uwalnianie genomu) – uwolnienie kwasu nukleinowego odbywa się z udziałem komórkowych i wirusowych proteaz, które trawią białka ochronne związane z genomem. Gdy proces odpłaszczenia materiału genetycznego zostanie ukończony, następuje faza eklipsy (utajenia), w której nie wykrywa się pozakomórkowo zakaźnych cząstek wirusowych.
4. Synteza białek wczesnych – synteza enzymów niezbędnych do replikacji kwasu nukleinowego (polimeraza wirusowa RNA lub DNA), białek regulatorowych i białek matrycowych; jeśli białka wczesne wchodzą w skład wirionów, ich synteza nie jest potrzebna).
5. Replikacja kwasu nukleinowego (powielenie genomu) – polimeraza kodowana przez wirus umożliwia replikację genomu wirusa. Replikacja materiału genetycznego wirusów DNA (z wyjątkiem pokswirusów) zachodzi w jądrze komórkowym, a większości wirusów RNA w cytoplazmie.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

6. Synteza białek późnych – synteza białek strukturalnych niezbędnych do utworzenia potomnych cząstek wirusowych.
7. Składanie i dojrzewanie wirionów potomnych (morfogeneza) – tworzenie wirusów potomnych, co oznacza koniec fazy eklipsy.
8. Uwolnienie dojrzałych wirionów – wirusy osłonkowe uwalniane są z komórki poprzez tzw. pączkowanie, natomiast wirusy bezosłonkowe w wyniku lizy komórki zakażonej (ryc. I.8).



Ryc. I.8. Cykl replikacyjny wirusów.
Źródło: opracowanie własne na podstawie Mikrobiologia lekarska. Red. P.B. Heczko, M. Wróblewska, A. Pietrzyk. Wyd. Lekarskie PZWL. Warszawa 2014; Mikrobiologia i immunologia dla studentów kierunku lekarsko-dentystycznego. Red. B. Mazur, Z. Czuba. Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach. Katowice 2020.

Diagnostyka wirusologiczna

W przypadku zakażeń wirusowych przed rozpoczęciem badań diagnostycznych należy uwzględnić czas, jaki upłynął od wystąpienia pierwszych objawów choroby. W miarę trwania procesu chorobowego zmniejsza się liczba cząstek zakaźnych wirusa w materiale klinicznym. Największa szansa na ich wykrycie najczęściej jest możliwa tylko w okresie wiremii, która występuje na początku choroby. W ostrych zakażeniach utrzymuje się ona stosunkowo krótko i często wyprzedza pojawienie się objawów choroby (okres utajenia). W późniejszym okresie rozpoznanie można ustalić metodami pośrednimi na podstawie oznaczenia swoistych przeciwciał w surowicy pacjenta. Dla powodzenia badania diagnostycznego duże znaczenie ma prawidłowe pobranie materiału biologicznego oraz jego natychmiastowy transport do laboratorium. Materiał diagnostyczny do badań w zależności od manifestacji klinicznej zakażenia może stanowić: wymaz z gardła, wymaz z nosa, BAL, PMR, krew, mocz, kał lub materiał tkankowy.

Zakażenie wirusowe można potwierdzić na podstawie:

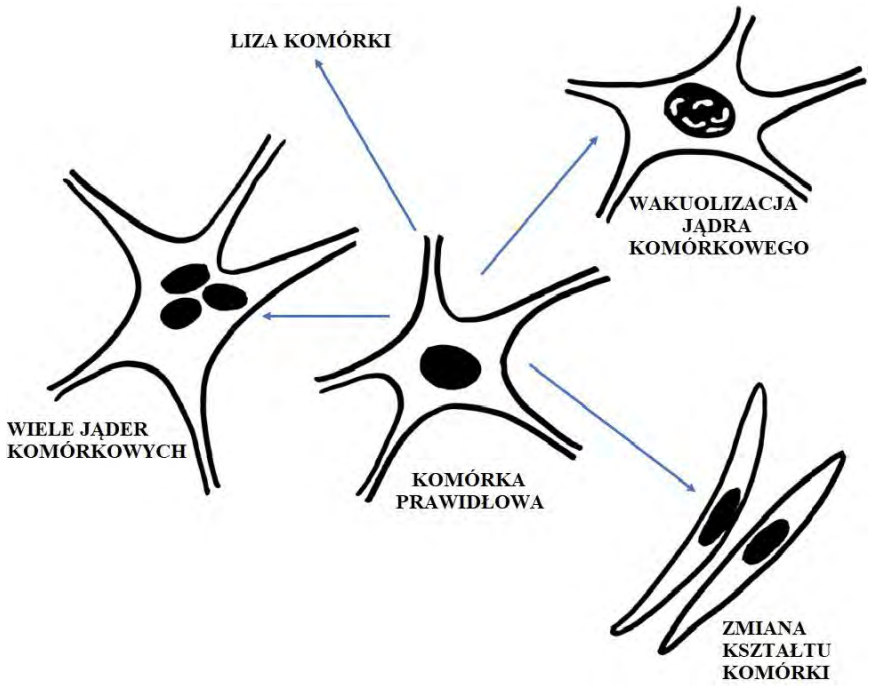
- wykrycia wirusa lub jego białek, enzymów, kwasu nukleinowego bezpośrednio w materiale klinicznym pacjenta lub po namnożeniu wirusa w komórkach hodowli tkankowej;
- obecności przeciwciał powstałych w wyniku swoistej odpowiedzi immunologicznej na zakażenie. O niedawno przebytym lub toczącym się zakażeniu świadczą: obecność przeciwciał klasy IgM, serokonwersja (zmiana wyniku negatywnego na dodatni w odstępie 2–3 tygodni), co najmniej

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

4-krotny wzrost miana przeciwciał oznaczonych w dwóch próbkach surowicy pobranych w odstępie 2–3 tygodni. Zbyt wczesne wykonanie badań serologicznych może dać wyniki fałszywie ujemne ze względu na tzw. okienko serologiczne. Jest to czas, w którym przeciwciała mogą się jeszcze nie pojawić lub ich stężenie może być poniżej poziomu wykrywalności. Wraz ze spadkiem stężenia IgM wzrasta stężenie przeciwciał klasy IgG u ozdrowieńców. Wzrost miana przeciwciał klasy IgG występuje także w odpowiedzi immunologicznej na szczepienie.

Morfologię niektórych wirusów można obserwować bezpośrednio w mikroskopie elektronowym, jednak jest to metoda rzadko stosowana w rutynowej diagnostyce. Ograniczeniem tej metody jest niewielka liczba laboratoriów dysponujących odpowiednim sprzętem oraz niemożliwość różnicowania wirusów należących do tej samej rodziny ze względu na zbliżoną morfologię.

Do namnażania wirusów stosuje się hodowle komórek tkankowych (pierwotne, diploidalne lub unieśmiertelnione), zarodki jaj kurzych lub, rzadziej, zwierzęta laboratoryjne. Wirus w hodowli komórkowej może zostać wykryty poprzez obserwację tzw. efektu cytopatycznego (*cytopathic effect* – CPE), jaki wywołał w komórce. Do najczęściej obserwowanych CPEs w komórce zakażonej wirusem należą: zmiana morfologii komórki, liza komórki, wakuolizacja, tworzenie syncytiów （komórek wielojądrowych powstałych w wyniku zlania się błon plazmatycznych) i obecność ciałek wtrętowych (ryc. I.9). Ograniczeniem tej metody jest długi czas badania oraz trudność w jednoznacznej interpretacji wyniku.



Ryc. I.9. Możliwe efekty cytopatyczne.

W diagnostyce najczęściej stosuje się immunofluorescencję bezpośrednią lub metodę ELISA, umożliwiające wykrycie antygenów wirusowych na powierzchni lub wewnątrz komórek. Znacznie czulsze są techniki biologii molekularnej wykrywające materiał genetyczny wirusa, takie jak: PCR lub LAMP (*loop-mediated isothermal amplification*) dla genomu DNA, RT-PCR dla genomu RNA, amplifikacja sterowana transkrypcją (*transcription-mediated amplification* – TMA), sekwencjonowanie nowej generacji (*next generation sequencing* – NGS), hybrydyzacja *in situ*.

ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) to test immunoenzymatyczny powszechnie stosowany w diagnostyce chorób wirusowych i bakteryjnych. Został opracowany w latach 60. XX w. U podstaw metody leżą specyficzne reakcje między antygenem i przeciwciałem. Wyróżnia się cztery podstawowe odmiany testu ELISA: bezpośrednią (*direct* ELISA), pośrednią (*indirect* ELISA), kanapkową (*sandwich*

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

ELISA) oraz konkurencyjną (kompetycyjną). Do pomiaru stężenia antygenu służą odmiany kanapkowa oraz konkurencyjna, natomiast w celu ilościowego oznaczania przeciwciał powinno się przeprowadzać test bezpośredni lub pośredni.

W metodzie bezpośredniej pierwszym etapem jest opłaszczenie płytki antygenem. Następnie przeprowadza się inkubację z przeciwciałem pierwszorzędowym, skoniugowanym z enzymem. Po dodaniu odpowiedniego chromogennego substratu (np. tetrametylobenzydyny – TMB) zawarty w koniugacie enzym (np. peroksydaza chrzanowa, *horseradish peroxidase* – HRP) katalizuje reakcję, utleniając substrat w obecności nadtlenku wodoru. Produkt wykrywa się spektrofotometrycznie – ocenia się intensywność barwy, która jest proporcjonalna do stężenia przeciwciał w surowicy.

W metodzie pośredniej wykorzystuje się pierwszo- i drugorzędowe przeciwciała, przy czym znakowane enzymem jest dopiero przeciwciało drugorzędowe, rozpoznające określony izotyp przeciwciała pierwszorzędowego.

W odmianie konkurencyjnej fazę stałą opłaszcza się przeciwciałami. Następnie stosuje się znakowane antygeny, które rywalizują o miejsca wiążące w immunoglobulinach z antygenami obecnymi w badanej próbce. Uzyskany sygnał zależy od proporcji obu rodzajów konkurujących ze sobą cząsteczek i jest tym większy, im mniejsze jest stężenie antygenów w badanym materiale.

Metodę kanapkową rozpoczyna się od opłaszczenia fazy stałej warstwą przeciwciał pierwszorzędowych. Dopiero po ich związaniu z powierzchnią płytki nanosi się badaną próbkę, z której wychwytywane są tylko te antygeny, przeciw którym skierowane są unieruchomione immunoglobuliny. Skutkuje to wyeliminowaniem zjawiska konkurencji oznaczanego antygenu o miejsca wiążące na przeciwciałach z innymi cząsteczkami obecnymi w badanym materiale, co przekłada się na większą specyficzność testu. W kolejnym etapie można zastosować wariant bezpośredni lub pośredni, w którym dodatkowo używa się warstwy detekcyjnych przeciwciał pierwszorzędowych skierowanych przeciw oznaczanemu antygenowi. Antygen wiązany jest zatem pomiędzy dwiema „warstwami" przeciwciał.

PCR to łańcuchowa reakcja polimerazy (*polymerase chain reaction*) pozwalająca na powielanie (amplifikację) specyficznego fragmentu materiału genetycznego w badanej próbce w warunkach laboratoryjnych w ilościach sięgających milionów kopii. Proces PCR został opracowany w 1983 r. w USA przez zespół Kary'ego Mullisa, za co Mullis w 1993 r. otrzymał Nagrodę Nobla. PCR należy do testów amplifikacji kwasów nukleinowych (*nucleic acid amplification testing* – NAAT).

W reakcji PCR projektuje się odpowiednie startery (primery), które pozwalają na wyznaczenie końców powielanej sekwencji DNA i umożliwiają przyłączenie enzymu, jakim jest polimeraza DNA. Starterami są krótkie, zawierające około 20 nukleotydów sekwencje DNA. Aby powielić fragment DNA, potrzebny jest starter przedni (*forward*) oraz wsteczny (*reverse*). Starter przedni jest identyczny z powielaną sekwencją, a starter wsteczny to odcinek komplementarny do powielanej sekwencji. Ważnym parametrem jest temperatura topnienia (Tm) stosowanych starterów. Parametr ten służy do ustalenia temperatury przyłączania starterów do matrycy w czasie reakcji. Obecność starterów pozwala polimerazie DNA na przyłączenie się do kompleksu DNA-starter.

Polimeraza DNA odpowiada za katalizowanie reakcji syntezy DNA na matrycy DNA (polimeraza DNA zależna od DNA). W reakcji PCR używa się polimeraz DNA, które są termostabilne, czyli nie ulegają denaturacji w wysokich temperaturach. W reakcji PCR denaturację DNA osiąga się poprzez ogrzanie mieszaniny do temperatury 95–98°C. Polimerazą oporną na działanie wysokiej temperatury jest polimeraza Taq (wyizolowana z bakterii *Thermus aquaticus*). Optimum aktywności, jaką osiąga polimeraza Taq, występuje w przedziale od 75°C do 80°C, jednak najczęściej stosowaną temperaturą w etapie wydłużania (gdy polimeraza jest aktywna) są 72°C. Polimeraza podczas syntezy nowych nici DNA zużywa nukleotydy, które są dostarczone w nadmiarze w postaci mieszaniny reakcyjnej. Mieszanina ta opisywana jest jako dNTP (trifosforany deoksynukleotydów), w której skład wchodzą: dATP – nukleotyd adeninowy, gGTP – nukleotyd guaninowy, dCTP nukleotyd – cytozynowy oraz dTTP – nukleotyd tyminowy.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Aby zapewnić prawidłową pracę polimerazy, niezbędne jest dodanie buforu do mieszaniny reakcyjnej. Każda polimeraza do reakcji PCR ma przypisany bufor, który zawiera m.in. jony potrzebne do jej aktywności. Ponadto bufor zapewnia mieszaninie reakcyjnej odpowiednie pH. Z kolei do prawidłowego działania polimerazy Taq konieczna jest obecność jonów magnezu, które są jej kofaktorami. Częstym składnikiem buforów są również barwniki, dzięki którym możliwe jest śledzenie migracji DNA podczas elektroforezy.

Etapy PCR:

1. **Denaturacja** – mieszanina reakcyjna zostaje podgrzana do 95°C, dzięki czemu zachodzi denaturacja matrycowego DNA. Wiązania wodorowe ulegają rozerwaniu, następuje rozplecenie helisy DNA. Efektem są jednoniciowe fragmenty DNA, do których mogą się przyłączyć sekwencje starterów. Działanie wysoką temperaturą na DNA trwa około 15 sekund.
2. **Przyłączanie** (hybrydyzacja; *annealing*) – temperatura mieszaniny ulega obniżeniu do 40–60°C (w zależności od obliczonej temperatury topnienia starterów). Startery odnajdują samoistnie komplementarne sekwencje na jednoniciowych fragmentach DNA. Dodatek nadmiaru starterów do mieszaniny reakcyjnej zapewnia wysokie prawdopodobieństwo przyłączenia tych sekwencji do nici matrycowych. Utworzenie kompleksu DNA-starter umożliwia przyłączenie polimerazy DNA. Etap hybrydyzacji trwa około 20 sekund.
3. **Elongacja** – właściwa synteza DNA. Następuje synteza nici komplementarnej przez polimerazę DNA z użyciem dostarczonych do mieszaniny dNTP. Czas wydłużania zależy od wydajności użytej polimerazy (ilości dobudowywanych nukleotydów do nowej nici w jednostce czasu) oraz wielkości spodziewanego produktu.

Wszystkie etapy są cyklicznie powtarzane (około 25–35 razy). Z każdym kolejnym cyklem zwiększa się ilość matrycy, na której bazie syntezowane są nowe odcinki DNA. Efektem tego jest wzrost liczby kopii DNA, którego końce zostały wyznaczone sekwencjami starterów. Nadmierne powtarzanie cykli nie jest zalecane ze względu na wzrastające prawdopodobieństwo błędów wynikających z nieprawidłowej pracy polimerazy. Po zakończeniu ustalonej liczby cykli przeprowadza się elongację kończącą. Etap ten zachodzi w tych samych warunkach, co zwykła elongacja, lecz wydłuża się czas jej trwania. Zapewnia to polimerazie, która syntezuje wszystkie nieskończone wcześniej fragmenty DNA, odpowiedni czas działania. Cały proces może trwać kilka godzin. Ostatnim etapem jest chłodzenie. Temperatura bloku grzejnego spada wtedy do 4°C, dzięki czemu pozostawione w termocyklerze DNA nie ulega szybkiej degradacji.

UWAGA: Od czasu opracowania techniki PCR poznano wiele jej modyfikacji. Jedną z takich odmian jest **real-time PCR** (rt-PCR), czyli PCR w czasie rzeczywistym, zwana również ilościową reakcją PCR (*quantitative* PCR – qPCR). Oprócz dwóch starterów potrzebnych do amplifikacji w metodzie tej stosuje się sondę, która ulega hybrydyzacji z sekwencją docelową znajdującą się pomiędzy parą starterów. Sonda (hydrolizująca typu TaqMan) zawiera fluorogenny barwnik reporterowy na końcu 5' i wygaszacz na końcu 3'. Wygaszacz blokuje emisję fluorescencji, o ile znajduje się w bliskiej odległości od barwnika. Jeżeli w mieszaninie reakcyjnej znajduje się swoisty produkt PCR, następuje hybrydyzacja sondy do komplementarnej nici DNA. Podczas wydłużania produktu reakcji sonda ulega degradacji przez zmodyfikowaną polimerazę Taq o własnościach 5'-egzonukleolitycznych, w wyniku czego fluorochrom zostaje oddzielony od wygaszacza. Proces ten powoduje emisję fluorescencji, której natężenie mierzone jest po każdym cyklu reakcji. W porównaniu z klasyczną PCR nie jest wymagany etap elektroforezy, co skraca czas analizy. Automatyzacja rt-PCR pozwala na zastosowanie oprogramowania optymalizującego odczyt i łatwą interpretację wyników.

rt-PCR nie należy mylić z **RT-PCR** (*reverse transcription* PCR). W RT-PCR jako matrycę wykorzystuje się nici mRNA; metoda RT-PCR stosowana jest w przypadku wirusów, które jako materiał genetyczny posiadają RNA. Niezbędne przed reakcją PCR jest przeprowadzenie odwrotnej transkrypcji (RT), czyli „przepisania" RNA wirusa na DNA (cDNA – komplementarne DNA). W mieszaninie

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

reakcyjnej używa się specjalnej polimerazy „odwrotnej transkryptazy" oraz tylko jednego startera. Sama reakcja zachodzi w takim samym termocyklerze, jak w przypadku zwykłej reakcji PCR, jednak stosuje się tylko jedną temperaturę dla całej reakcji. Po przeprowadzeniu reakcji odwrotnej transkrypcji jej produkty będą służyły jako matryca dla normalnej reakcji PCR.

Multiplex PCR służy do amplifikowania wielu matryc podczas jednej reakcji PCR. Można wykryć materiał genetyczny kilku drobnoustrojów chorobotwórczych występujących jednocześnie w tej samej próbce.

Na koniec należy zaznaczyć, że zaletami PCR są z pewnością wysoka czułość i swoistość oraz krótki czas od momentu pobrania materiału do uzyskania wyniku. Niemniej jednak metoda ta wykrywa materiał genetyczny patogenów zarówno żywych, jak i martwych, stąd też mogą się pojawić wyniki fałszywie dodatnie lub nieistotne klinicznie.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

II. Podstawy antybiotykoterapii

Elżbieta Bobela, Małgorzata Kłósek

Antybiotyki to naturalne i wtórne produkty metabolizmu mikroorganizmów. Działają wybiórczo w niskich stężeniach i w ten sposób wpływają na struktury komórkowe, a także procesy metaboliczne innych mikroorganizmów, hamując ich wzrost. Antybiotyki stosuje się w leczeniu zakażeń bakteryjnych, nierzadko są stosowane w profilaktyce, aby zapobiegać zakażeniom bakteryjnym. Dzielą się na naturalne, półsyntetyczne i syntetyczne. Pierwszym antybiotykiem odkrytym w 1928 r. przez Aleksandra Fleminga była penicylina (w tłumaczeniu z greckiego: *anti* 'przeciw' i *biotikos* 'życiowy', czyli tłumacząc dosłownie 'przeciw życiu').

Chemioterapeutyki to substancje lub związki chemiczne otrzymane metodą syntezy chemicznej, nie mające odpowiedników w przyrodzie.

Antybiotyki można podzielić na:

- antybiotyki o działaniu bakteriobójczym – zabijają komórki drobnoustrojów,
- antybiotyki o działaniu bakteriostatycznym – wpływają na zmianę metabolizmu komórki bakteryjnej, uniemożliwiając jej wzrost i namnażanie.

Podział antybiotyków opiera się na ich budowie chemicznej lub spektrum terapeutycznym.

O oporności drobnoustrojów na antybiotyk (chemioterapeutyk) mówi się wtedy, gdy średnie stężenia hamujące populację drobnoustrojów *in vitro* są większe od stężeń możliwych do uzyskania *in vivo*.

Najprostszym typem oporności jest **oporność naturalna** (pierwotna), związana z zaprogramowaną genetycznie strukturą bakterii. Drobnoustrój jest niewrażliwy na antybiotyk, posiada „wrodzoną" oporność na poszczególne grupy antybiotyków, wynikającą z braku receptora dla antybiotyku, ze zbyt niskiego powinowactwa, z nieprzepuszczalnej ściany komórkowej czy z powodu wytwarzaniu enzymów. Przykładem są: *Pseudomonas aeruginosa* – naturalnie oporny na trimetoprim/sulfametoksazol, pałeczki z rodziny *Enterobacterales* – oporne na glikopeptydy lub linezolid, *Proteus mirabilis* – naturalnie oporny na nitrofurantoinę i kolistynę, *Serratia marcescens* – naturalnie oporna na kolistynę, *Stenotrophomonas maltophilia* – naturalnie oporny na karbapenemy (imipenem, meropenem, ertapenem).

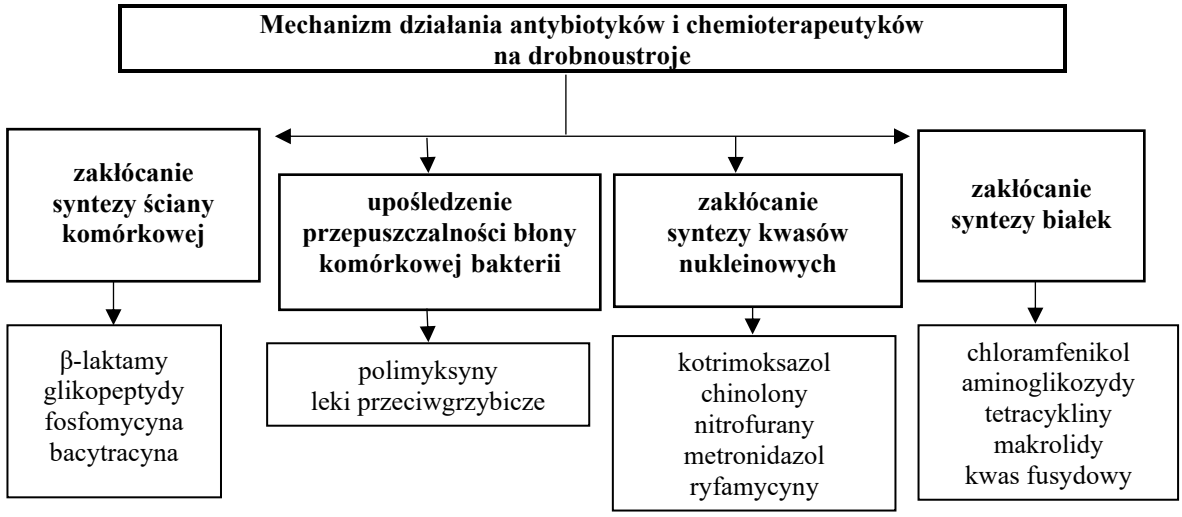
Oporność nabyta powstaje u bakterii, które pierwotnie były wrażliwe na dany antybiotyk/chemioterapeutyk, pojawia się w wyniku spontanicznej mutacji, bez kontaktu z antybiotykiem (oporność pierwotna) lub pod wpływem kontaktu z bakteriami opornymi na antybiotyk i w warunkach kontaktu z lekiem przeciwbakteryjnym (oporność wtórna).

Oporność pierwotna jest kodowana chromosomalnie i nie może być przekazywana innym gatunkom bakterii. Częstość pojawiania się zmutowanych bakterii jest niewielka, jednak w stosunku do reszty populacji przeżywają i przewyższają ilością populacje wrażliwe. Mogą rozprzestrzeniać się do innych nisz ekologicznych u tego samego osobnika lub też mogą być przeniesione na inne osoby.

Oporność wtórna, w odróżnieniu od pierwotnej, ma charakter pozachromosomalny. Geny warunkujące oporność – w procesach koniugacji, transdukcji i transformacji – mogą zostać przekazane szczepom wrażliwym na antybiotyki. Do mobilnych elementów zawierających geny oporności należą plazmidy, integrony i transpozony. Wertykalne przenoszenie genów oznacza dziedziczenie oporności przez potomne komórki bakterii.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Mechanizm działania antybiotyków i chemioterapeutyków na drobnoustroje ilustruje rycina II.1.



Ryc. II.1. Mechanizm działania antybiotyków i chemioterapeutyków na drobnoustroje.

Główne grupy antybiotyków i chemioterapeutyków

Tabela II.1. Podział antybiotyków oraz spektrum ich działania

Grupa antybiotyków	Podgrupa antybiotyków	Spektrum działania
1	2	3
β-laktamy (działanie bakteriobójcze) najstarsza grupa antybiotyków, w strukturze zawiera pierścień tiazolidynowy sprzężony z pierścieniem β-laktamowym	penicyliny, penicyliny z inhibitorem β-laktamaz, cefalosporyny, cefalosporyny z inhibitorem β-laktamaz, monobaktamy, karbapenemy	paciorkowce, gronkowce penicylinazo-ujemne, beztlenowe ziarenkowce, *Clostridium*, *Actinomyces*, krętki, *Neisseria*, *Haemophilus influenzae* β-laktomazo-ujemny, *Shigella*, *Salmonella*
Aminoglikozydy (działanie bakteriobójcze) w większości są substancjami naturalnymi, wytwarzanymi przez promieniowce z rodzaju *Streptomyces* oraz *Micromonospora*	naturalne: streptomycyna, neomycyna, gentamycyna, kanamycyna, tobramycyna, półsyntetyczne: amikacyna, netylmycyna	bakterie Gram-ujemne, zwłaszcza pałeczki (z wyjątkiem *Haemophilus*), prątki gruźlicy, gronkowce, paciorkowce

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cd. tab. II.1

1	2	3
Tetracykliny (działanie bakteriostatyczne) grupa antybiotyków o szerokim spektrum działania, pierwotnie otrzymywana ze szczepów promieniowca *Streptomyces aureofaciens*	naturalne: chlorotetracyklina, tetracyklina, oksytetracyklina półsyntetyczne: doksycyklina, minocyklina, rolitetracyklina, metacyklina	bakterie Gram-dodatnie, bakterie Gram-ujemne, *Rickettsia*, *Coxiella*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Ureoplasma*, pierwotniaki, krętki, *Leptospira*, *Borrelia*, *Helicobacter pylori*, *Propionibacterium acnes*
Glicylcykliny (działanie bakteriostatyczne) charakteryzują się szerokim spektrum działania, o budowie podobnej do budowy tetracyklin	tygecyklina	MRSA, VRSA
Makrolidy/ketolidy (działanie bakteriostatyczne)	starej generacji: erytromycyna, spiramycyna nowej generacji: cykliczny węglan erytromycyny (dawercin), roksytromycyna, klarytromycyna, azytromycyna ketolidy i pochodne: telitromycyna, solitromycyna	ziarenkowce Gram-dodatnie i Gram-ujemne, tlenowe i beztlenowe, pałeczki Gram-ujemne, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia*, *Ureoplasma*, *Legionella*, pierwotniaki
Linkozamidy (działanie bakteriostatyczne) produkowane przez bakterie z rodzaju *Streptomyces lincolnensis*; klindamycyna − półsyntetyczna pochodna linkomycyny	naturalne: inkomycyna półsyntetyczne: klindamycyna	*Streptococcus* z wyjątkiem *Enterococcus*, *Staphylococcus*, bakterie beztlenowe, pierwotniaki
Oksazolidynony (działanie bakteriostatyczne) grupa chemioterapeutyków o aktywności przeciwdrobnoustrojowej	linezolid, tedizolid	ziarenkowce Gram-dodatnie
Peptydy (działanie bakteriobójcze) organiczne związki chemiczne	glikopeptydy: wankomycyna, teikoplanina lipoglikopeptydy: dalbawancyna cykliczne lipopeptydy: daptomycyna	*Streptococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus pneumoniae*, paciorkowce β-hemolizujące, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Clostridium difficile* (biegunka poantybiotykowa), *Corynebacterium jeikeium*

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cd. tab. II.1

1	2	3
Fenikole (działanie bakteriostatyczne) antybiotyk wytwarzany przez bakterie z gatunku *Streptomyces venezuelae*, obecnie otrzymywany przez syntezę chemiczną	chloramfenikol	*Salmonella typhi*, *Haemophilus influenzae*, riketsje, *Brucella* sp., *Francisella tularensis,* *Yersinia pestis*, bakterie beztlenowe, prątki gruźlicy, *Bordetella pertussis*, *Shigella* sp.
Polimyksyny (działanie przeciwbakteryjne) grupa antybiotyków peptydowych, po raz pierwszy wyizolowane w procesie fermentacji u *Bacillus polymyxa*, podgatunku *colistinus* (1947 r.), skąd wzięły nazwę (kolistyna). Gatunek pierwotnie izolowano z gleby.	kolistyna (polimyksyna E)	bakterie Gram-ujemne (*Pseudomonas aeruginosa*), przecinkowce (oprócz *Vibrio eltor*)
Ansamycyny (działanie bakteriobójcze) wytwarzane przez *Streptomyces* lub sztucznie	ryfampicyna, ryfambityna	bakterie Gram-dodatnie, bakterie Gram-ujemne
Sulfonamidy (działanie bakteriostatyczne) organiczne związki chemiczne będące amidami kwasów organosulfonowych, stosowane w medycynie jako środki bakteriostatyczne i odkażające	sulfametoksazol + trimetoprim (kotrimoksazol)	bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne, promieniowce, chlamydie, pierwotniaki, pasożyty, grzyby
Nitroimidazole (działanie bakteriobójcze) stosowane do zwalczania infekcji beztlenowych bakterii i pasożytów	metronidazol, tynidazol, ornidazol	beztlenowe laseczki Gram-dodatnie, beztlenowe ziarenkowce Gram-dodatnie i Gram-ujemne beztlenowe pałeczki z grupy *Bacteroides* spp., *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Campylobacter*, *Helicobacter pylori*, *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Mycoplasma hominis*, *Encephalitozoon cuniculi*
Nitrofurany (działanie bakteriobójcze) grupa organicznych związków chemicznych zawierających w strukturze szkielet nitrofuranu (furanu z przyłączoną grupą nitrową)	nitrofurantoina, furazydyna, nifuroksazyd	ziarenkowce Gram-dodatnie, pałeczki Gram-ujemne, beztlenowce

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cd. tab. II.1

1	2	3
Chinolony i fluorochinolony (działanie bakteriobójcze) grupa syntetycznych chemioterapeutyków podzielona na 4 grupy, zwane generacjami	kwas pipemidynowy, kwas nalidyksowy, norfloksacyna, pefloksacyna, cyprofloksacyna, ofloksacyna, lewofloksacyna, moksyfloksacyna	bakterie tlenowe Gram-dodatnie i Gram-ujemne, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, pałeczki Gram-ujemne z rodziny *Enterobacterales*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Moraxella catarrhalis*, *Chlamydia*, *Legionella*, *Mycoplasma*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*
Fusydyny (działanie bakteriostatyczne) naturalny antybiotyk o budowie steroidowej, uzyskany po raz pierwszy w 1960 r. w Ballerup (Dania) z hodowli grzyba *Fusidium coccineum*, wyizolowanego z kału małpy. Po dwóch latach wprowadzony do leczenia.	kwas fusydowy	*Staphylococcus aureus* (także MRSA), *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Bordetella pertussis*, *Corynebacterium diphteriae*, *Clostridium difficile*, *Mycobacterium leprae* (słabsza aktywność w stosunku do *Mycobacterium tuberculosis*)
Fosfomycyna (działanie bakteriobójcze) fosforoorganiczny związek chemiczny z grupy fosfonianów, występuje naturalnie, wyizolowany z różnych szczepów *Streptomyces*, będący pochodną kwasu fosfonowego	trometamol fosfomycyny	bakterie Gram-ujemne, izolowane najczęściej w zakażeniach układu moczowego: *Escherichia coli,* *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp.

MRSA – *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*; VRSA – *vancomycin-resistant Staphylococcus aureus*

Leki przeciwgrzybicze

1. **Polieny** – są najstarszą grupą leków przeciwgrzybiczych, powstają w wyniku hodowli promieniowców *Streptomyces nursei* (nystatyna) oraz *Streptomyces nodosus* (amfoterycyna B – AmB). Wykazują działanie grzybobójcze i grzybostatyczne, posiadają dużą objętość dystrybucji i są potencjalnie nefrotoksyczne. Z innych działań niepożądanych należy wymienić uszkodzenie czynności wątroby, głęboką hipokaliemię i hipomagnezemię. Toksyczność AmB znacząco ogranicza możliwość jej stosowania, zwłaszcza w terapii długotrwałej. Podstawowym mechanizmem działania antymikotycznych antybiotyków polienowych jest wiązanie się z ergosterolem błony komórkowej grzybów i powodowanie wzrostu przepuszczalności błony komórkowej. Spektrum działania przeciwgrzybiczego jest bardzo szerokie i obejmuje następujące gatunki: *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Mucormycetes*, *Fusarium*, *Sporothrix schenckii*, dermatofity, *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Coccidioides*.
2. **Azole –** wprowadzone do terapii w latach 80. XX w., są najczęściej stosowanymi lekami w terapii przeciwgrzybiczej, mają szerokie spektrum działania przeciwko grzybom chorobotwórczym, które są istotne klinicznie, mogą być toksyczne, wchodzić w interakcje lekowe i wywoływać działania niepożądane (flukonazol, itrakonazol, ketokonazol, ekonazol, worikonazol). Azole wywierają efekt antymikotyczny poprzez zahamowanie syntezy ergosterolu w błonie komórkowej. Spektrum prze-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

ciwgrzybicze obejmuje drożdżaki z rodzaju *Candida*, grzyby pleśniowe z rodzaju *Aspergillus*, *Fusarium*, *Zygomycetes.*

3. **Echinokandyny –** kaspofungina, mykafungina, anidulafungina – działają na grzyby poprzez blokadę syntezy glukanu ściany komórkowej. Wykazują działanie grzybobójcze wobec *Candida*, jednak przy niskiej aktywności wobec *C. parapsilosis*, oraz działanie grzybostatyczne wobec *Aspergillus* sp. Nie posiadają aktywności wobec *Cryptococcus*, *Fusarium*, *Mucormycetes* oraz *Scedosporium*. Wykazują niewiele interakcji lekowych, są dobrze tolerowane przez pacjentów i powodują niewiele działań niepożądanych. Dobrze penetrują do biofilmu *Candida*, natomiast słabo do OUN, gałki ocznej i moczu.
4. **Antymetabolity –** flucytozyna, wprowadzona do lecznictwa w latach 70. XX w. Spektrum działania obejmuje: *Candida* (z wyjątkiem *C. krusei*), *Torulopsis* oraz *Cryptococcus* sp. Ponieważ używanie flucytozyny wiąże się z szybkim narastaniem oporności, powinna być stosowana w skojarzeniu z innymi lekami przeciwgrzybiczymi, np. AmB, gdyż występuje wówczas synergizm działania poprzez ułatwioną penetrację flucytozyny do komórki grzyba. Wskazaniem do stosowania flucytozyny (w skojarzeniu z AmB) są ciężkie zakażenia *Candida* lub *Cryptococcus* oraz (w monoterapii) zakażenia układu moczowego o etiologii *Candida*. Lek wydalany jest z moczem w formie niezmienionej. Do objawów niepożądanych należy supresja szpiku.

Leki przeciwwirusowe

Oferta leków przeciwwirusowych w porównaniu z antybiotykami i chemioterapeutykami przeciwbakteryjnymi jest stosunkowo uboga. Wynika to z trudności w otrzymaniu skutecznego związku o działaniu przeciwwirusowym, który hamując proces namnażania wirusa w żywej komórce, nie byłby toksyczny dla ludzkiej komórki. Co więcej, leki przeciwwirusowe mają dość wąski zakres działania.

Związki przeciwwirusowe naturalne

Do naturalnych związków przeciwwirusowych wytwarzanych przez organizm człowieka należą interferony (grupa cytokin należących do glikoprotein), które mają możliwości ingerencji (*interfere*) w proces replikacji wirusów wewnątrz komórek organizmu.
Ludzkie interferony zostały podzielone na trzy grupy w zależności od tego, na jakie receptory oddziałują:

1. Interferony typu I – wszystkie interferony z tej grupy działają na zespół receptorów na powierzchni komórki. Interferony z tej grupy wydzielane w ludzkim organizmie to:
   - IFN-α: produkowany przez leukocyty, wykazuje najsilniejsze działanie przeciwwirusowe, ma także właściwości hamujące rozwój komórek nowotworowych, głównie poprzez nasilanie apoptozy komórek nowotworowych (np. glejaka, czerniaka) oraz poprzez wzmacnianie cytotoksyczności komórek NK (*natural killer*);
   - IFN-β: produkowany przez fibroblasty, wykazuje działanie przeciwzapalne, antyproliferacyjne i chroniące tkanki, ma słabsze działanie przeciwwirusowe; potencjalny lek przeciw stwardnieniu rozsianemu; IFN-β prawdopodobnie również powoduje powstawanie reakcji autoimmunologicznych;
   - IFN-κ: produkowany przez keratynocyty chorych ze skórną postacią tocznia; w skórze chorych na łuszczycę również dochodzi do syntezy IFN-κ może odgrywać rolę w regulacji funkcji komórek odpornościowych; jest w stanie bezpośrednio modulować uwalnianie cytokin z monocytów i komórek dendrytycznych; wiąże heparynę;
   - IFN-λ: produkowany przez leukocyty, może być stosowany jako potencjalny środek terapeutyczny, np. w niektórych typach raka;
   - IFN-ω: produkowany przez leukocyty.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

2. Interferon typu II – jedynym przedstawicielem tej grupy jest IFN-γ (interferon immunologiczny), który oprócz pewnych właściwości przeciwwirusowych odgrywa zasadniczą rolę jako mediator odpowiedzi odpornościowej; produkowany głównie przez komórki T i NK, w mniejszym stopniu przez makrofagi, komórki B czy komórki dendrytyczne. Może być także produkowany przez enterocyty jelita, nabłonek dróg oddechowych czy szpikowe komórki dendrytyczne.
3. Interferony typu III – odgrywają nie tylko wyjątkową rolę w odpowiedzi przeciwwirusowej (m.in. w odpowiedzi na wirusy HBV i HCV), ale też oddziałują na układ immunologiczny poprzez wpływ na komórki dendrytyczne (*dendritic cells* – DCs) i komórki T.

Obecnie interferony używane są do leczenia zakażeń wirusowych wątroby typu B i C. Interferony mogą być stosowane w monoterapii lub łączone z innymi lekami. Stosuje się naturalne IFN-α, rekombinowane IFN-α (różnica w składzie aminokwasów) oraz pegylowany IFN-α (rekombinowane cząsteczki IFN-α związane z dużymi, obojętnymi cząsteczkami glikolu polietylenowego, dzięki czemu dłużej utrzymują się w surowicy).

Związki przeciwwirusowe syntetyczne

Obecnie stosuje się preparaty skuteczne w zakażeniach wywołanych:
- wirusami z rodziny *Herpesviridae* (m.in. wirusy opryszczki pospolitej, wirus ospy wietrznej i półpaśca, wirus choroby Mareka, cytomegalowirus, wirus rumienia nagłego, wirus Epsteina-Barr, wirus mięsaka Kaposiego),
- wirusami z rodziny *Retroviridae* (wirus wywołujący wiele chorób, w tym AIDS i niektóre nowotwory),
- u chorych z ciężkimi postaciami wirusowego zapalenia wątroby (HCV, HBV),
- u chorych z RSV (syncytialny wirus oddechowy).

Szczepienia profilaktyczne są na razie jedynym globalnym rozwiązaniem problemu zakażeń wirusowych.

Ze względu na mechanizm działania syntetyczne związki przeciwwirusowe można podzielić na:
1. Hamujące proces odpłaszczania i uwalniania genomu do cytoplazmy (amantadyna i rymantadyna) – związki te uniemożliwiają wniknięcie wirusa do komórki, stosowane są w profilaktyce i leczeniu zakażeń wirusem grypy A; hamują odpłaszczanie wirusa.
2. Hamujące wirusową polimerazę DNA (widarabina, idoksyurydyna, triflurydyna, cydofowir) – są to analogi naturalnych nukleozydów, które wbudowują się do łańcucha DNA, uniemożliwiając dalszą syntezę kwasu nukleinowego; mogą wywoływać działania niepożądane, czyli wbudowywać się także do DNA komórki gospodarza.
3. Analogi nukleozydów (acyklowir, walacyklowir, pencyklowir, famcyklowir, gancyklowir) – znajdują zastosowanie w leczeniu zakażeń herpeswirusowych.
4. Inhibitory rewertazy HIV (nukleozydowe – zydowudyna, zalcytabina, stawudyna, lamiwudyna, didanozyna; nienukleozydowe – delawirydyna, efawirenz, newirapina) – hamują odwrotną transkryptazę, enzym kluczowy w procesie replikacji wirusa, przepisujący informację zawartą w RNA na komplementarną nić DNA.
5. Inhibitory proteaz (amprenawir, indinawir, nelfinawir, sakwinawir, ritonawir) – działają poprzez hamowanie wirusowej proteazy aspartylowej, podczas gdy ludzkie proteazy są niewrażliwe na ich działanie; blokują miejsce aktywne enzymu, który jest niezbędny w procesie dojrzewania i formowania cząstek wirusa HIV.
6. Związki o szerokim zakresie działania (rybawiryna, foskarnet) – hamują polimerazy wirusowe, a przez to namnażanie zarówno DNA, jak i RNA wirusów (m.in. grypy, paragrypy), buniawirusów, arenawirusów, retrowirusów, adenowirusów.
7. Związki hamujące uwalnianie potomnych wirionów (zanamiwir i oseltamiwir) – to niedawno odkryte selektywne inhibitory neuraminidazy wirusa grypy typu A i B.

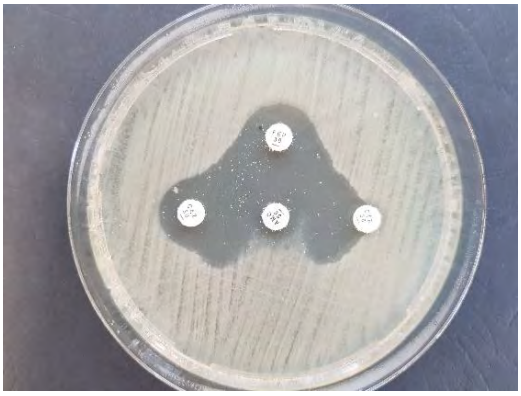
Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Związki przeciwwirusowe stosuje się szczególnie u osób zakażonych HIV, HBV i HCV. Schemat leczenia obejmujący kombinację trzech lub więcej leków przeciwretrowirusowych określa się jako HAART (*highly active antiretroviral therapy*). Istotą HAART jest jednoczesne podawanie różnych leków, które hamują replikację wirusa za pomocą kilku różnych mechanizmów działania, więc potencjalna oporność na jeden z leków nie musi warunkować braku satysfakcjonującego efektu terapeutycznego. Terapia HAART to sposób leczenia rekomendowany przez Światową Organizację Zdrowia, Europejskie Towarzystwo Kliniczne AIDS oraz Polskie Towarzystwo Naukowe AIDS.

Lekooporność

Oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe to naturalne zjawisko występujące w sytuacji, gdy mikroorganizmy, takie jak bakterie, wirusy, pasożyty i grzyby, są niewrażliwe na działanie leków, w tym także antybiotyków. Oporność dotyczy zarówno mikroorganizmów występujących w środowisku szpitalnym, jak i w przestrzeni pozaszpitalnej. Nadużywanie antybiotyków oraz chemioterapeutyków, niewłaściwe dobieranie leku, niewłaściwe dobieranie dawki i czasu trwania kuracji, brak wykonywania posiewów przed włączeniem leczenia – na podstawie których terapię empiryczną można zastąpić celowaną – doprowadziło do występowania i szerzenia się na całym świecie zjawiska oporności drobnoustrojów. Wynikiem tego jest realne zagrożenie dla zdrowia publicznego. Wszystkie antybiotyki i chemioterapeutyki mają zdolność selekcjonowania szczepów opornych. Przy tak rozpowszechnionym stosowaniu tych leków występowanie oporności na nowe leki wciąż wzrasta, co skutkuje zmniejszeniem skuteczności leczenia, zwiększeniem ryzyka przenoszenia opornych drobnoustrojów z człowieka na człowieka, wydłużeniem czasu choroby oraz zwiększonym ryzykiem śmierci. Antybiotykooporność utrudnia kontrolę chorób zakaźnych, zwiększa koszty leczenia, zagraża skuteczności innych osiągnięć medycyny. Bez skutecznych antybiotyków i chemioterapeutyków zapobieganie i leczenie infekcji w transplantologii, chirurgii i onkologii jest niezwykle trudne.

MDR – wielolekooporność (*multidrug resistance*), czyli oporność danego szczepu drobnoustroju na co najmniej jeden antybiotyk z trzech lub więcej grup leków przeciwbakteryjnych lub oporność na jeden kluczowy w danej klasie antybiotyk, mający największe znaczenie w terapii. Przykładami drobnoustrojów MDR są: *Staphylococcus aureus* oporny na metycylinę (MRSA) czy *Escherichia coli* produkująca β-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL; ryc. II.2).



Ryc. II.2. Szczep *Escherichia coli* na podłożu Muellera-Hinton (produkujący β-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym ESBL (+) dodatni. Szczep wytwarzający enzymy zdolne do hydrolizy wszystkich penicylin, cefalosporyn (oprócz cefamycyn) i monobaktamów. Aktywność większości tych β-laktamaz jest hamowana przez kwas klawulanowy, sulbaktam i tazobaktam).
Źródło: opracowanie własne.

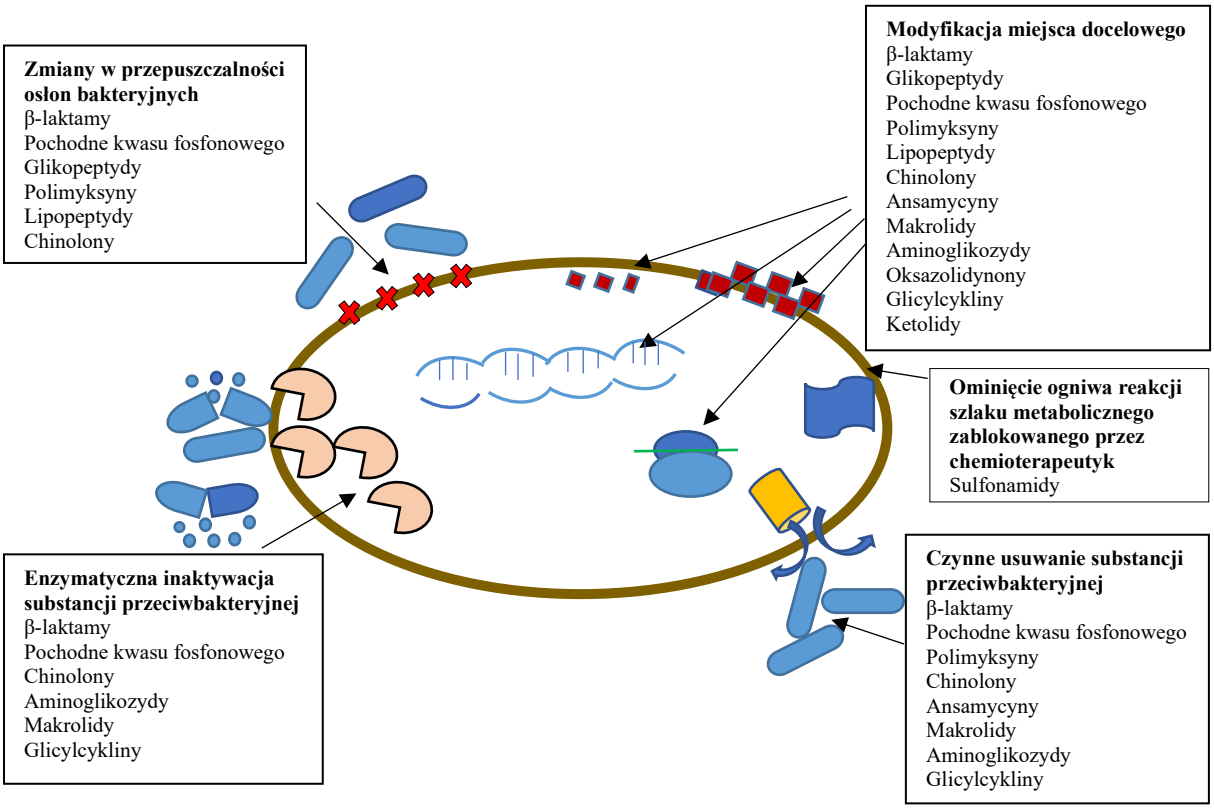
XDR – rozszerzona oporność (*extensively drug resistance*), czyli oporność szczepu drobnoustroju na co najmniej jeden antybiotyk ze wszystkich, z wyjątkiem dwóch lub mniej grup antybiotyków. Oznacza to, że drobnoustrój pozostaje wrażliwy tylko na antybiotyk z jednej lub dwóch grup leków stosowanych

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

w terapii zakażeń przez niego wywołanych. Leczenie wiąże się często ze stosowaniem stosunkowo toksycznych leków, wysokich dawek leków lub kombinacji leków. Nabycie dodatkowych mechanizmów oporności może przekształcić takie drobnoustroje w organizmy całkowicie oporne na wszystkie dostępne antybiotyki (PDR). Przykładem drobnoustrojów XDR izolowanych w Polsce są: *Klebsiella pneumoniae* wytwarzające ESBL, *Klebsiella pneumoniae* produkujące karbapenemazę (KPC) czy *Enterococcus faecium* oporne na aminoglikozydy (HLAR) i glikopeptydy (VRE).

PDR – całkowita oporność (*pandrug resistance*), czyli oporność szczepu drobnoustroju na wszystkie dostępne, zarejestrowane antybiotyki, ze wszystkich grup stosowanych do zwalczania tego gatunku drobnoustroju. Do kategorii PDR kwalifikowane są najczęściej szczepy należące do gatunków: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* sp., *Klebsiella pneumoniae* i *Enterococcus faecium*.

Bakterie wykształciły liczne mechanizmy, dzięki którym stają się oporne na substancje przeciwbakteryjne w wyniku procesu horyzontalnej wymiany materiału genetycznego pomiędzy poszczególnymi szczepami danego gatunku, a nawet między gatunkami. Mechanizmy te polegają na modyfikacjach miejsca działania leku, aktywnym wypompowywaniu cząsteczek substancji przeciwbakteryjnej (*efflux pumps*), wytwarzaniu specyficznych enzymów zdolnych do „unieszkodliwienia" antybiotyku lub zmianie szlaków metabolicznych, na które wpływa dana substancja czynna. Mechanizmy te w uproszczony sposób ilustruje rycina II.3.

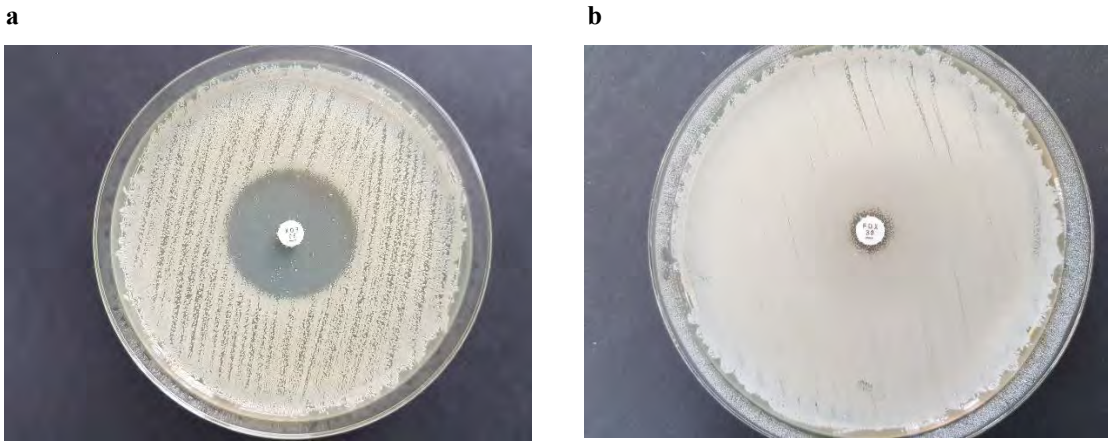


Ryc. II.3. Schemat mechanizmów oporności na substancje przeciwbakteryjne.
Źródło: opracowanie własne na podstawie Skarżyńska M., Zając M., Wasyl D. Antybiotyki i bakterie: Mechanizmy działania i strategie oporności. Post. Mikrobiol. 2020; 59(1): 49–62, doi: 10.21307/PM-2020.59.1.005.

Przykłady bakterii o oporności na wiele antybiotyków, zwane bakteriami alarmowymi:

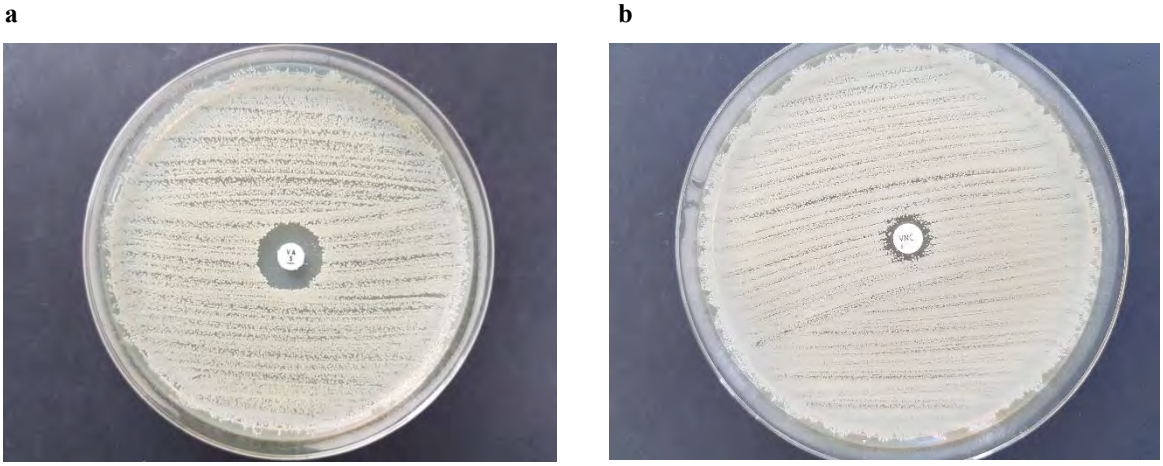
MRSA (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) – *Staphylococcus aureus* oporny na metycylinę, co oznacza oporność na wszystkie antybiotyki β-laktamowe, w tym penicyliny, cefalosporyny, monobaktamy i karbapenemy (ryc. II.4). MRSA z reguły posiadają także oporność na wiele innych grup leków przeciwbakteryjnych.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska



Ryc. II.4. Szczep *Staphylococcus aureus*: a) MSSA – wrażliwy na metycylinę, b) MRSA – oporny na metycylinę na podłożu Muellera-Hinton. (Ten typ oporności oznacza brak wrażliwości na wszystkie antybiotyki z grupy β-laktamów, w tym penicyliny, cefalosporyny, monobaktamy czy karbapenemy).
Źródło: opracowanie własne.

VRSA (*vancomycin-resistant Staphylococcus aureus*) – *Staphylococcus aureus* oporny na wankomycynę (ryc. II.5). W 2002 r. w Michigan (USA) wyizolowano pierwszy szczep gronkowca złocistego wykazujący wysoki poziom oporności na glikopeptydy VRSA. Jak udowodniono, szczep uzyskał geny oporności od bakterii z rodzaju *Enterococcus* sp.

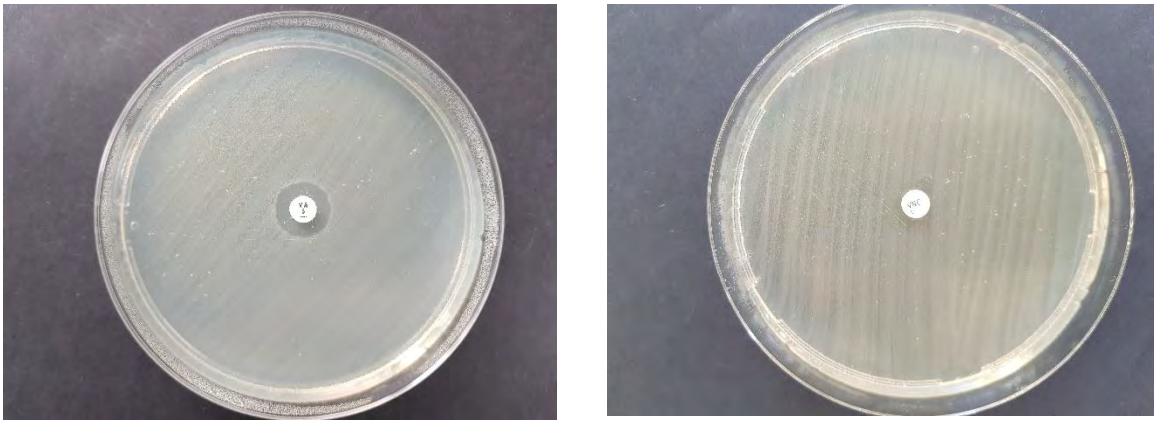


Ryc. II.5. Szczep *Staphylococcus aureus*: a) wrażliwy, b) oporny na wankomycynę (VRSA) na podłożu Muellera-Hinton. (Ze względu na postępujący wzrost oporności *Staphylococcus aureus* na metycylinę, wankomycyna jest najczęściej stosowanym antybiotykiem w zakażeniach tymi bakteriami, szczególnie wobec szczepów MRSA. Pojawienie się VRSA oznacza, że leczenie zakażeń gronkowcem może być dużo trudniejsze).
Źródło: opracowanie własne.

VRE (*vancomycin-resistant Enterococcus*) – enterokoki oporne na wankomycynę w wyniku działania mechanizmu modyfikującego cel działania antybiotyku w ścianie komórkowej bakterii (ryc. II.6). Tego typu oporność jest klinicznie ważna, ponieważ antybiotyki glikopeptydowe uważane są często za leki ostatniej szansy przy zakażeniach bakteriami Gram-dodatnimi. Szczepy VRE zawsze przejawiają oporność na liczne, inne grupy leków. Zakażenia szczepami VRE są jednymi z najczęstszych zakażeń szpitalnych.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

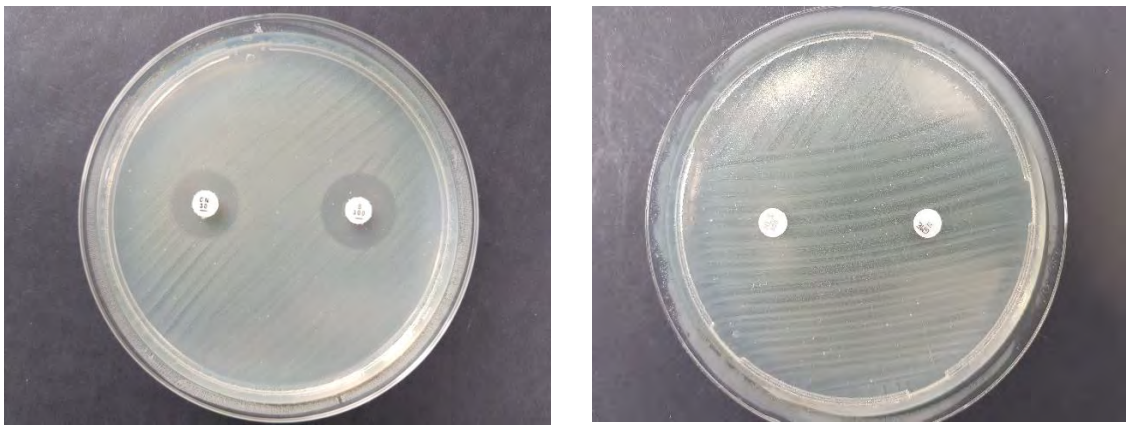
a **b**



Ryc. II.6. Szczep *Enterococcus faecalis*: a) wrażliwy, b) oporny na wankomycynę (VRE) na podłożu Muellera-Hinton. (Szczep należący do rodzaju enterokoków, który wykształcił mechanizm oporności na glikopeptydy – wankomycynę albo teikoplaninę).
Źródło: opracowanie własne.

HLAR (*high-level aminoglycoside resistance*) – rodzaj *Enterococcus* oporny na wysokie stężenia aminoglikozydów (gentamycyny i/lub streptomycyny; ryc. II.7). HLAR jest kolejnym istotnym czynnikiem oporności nabytej. Drobnoustroje te wykazują naturalną oporność na cefalosporyny i niskie stężenie aminoglikozydów.

a **b**

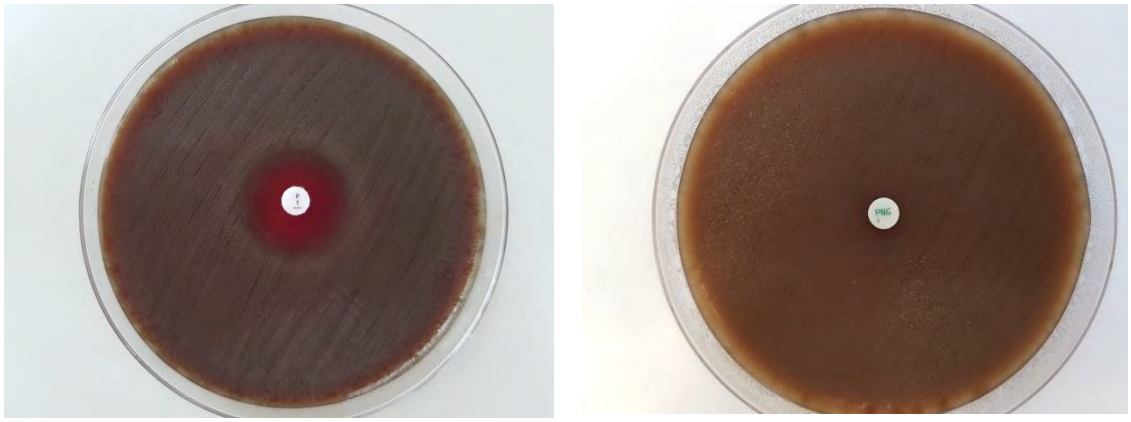


Ryc. II.7. Szczep *Enterococcus faecalis*: a) wrażliwy, b) oporny na wysokie stężenie gentamycyny i streptomycyny (HLAR) na podłożu Muellera-Hinton.
Źródło: opracowanie własne.

PRP (*penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae*) – pneumokoki oporne na penicylinę w wyniku zmian w białkach odpowiedzialnych za biosyntezę ściany komórkowej bakterii, które są celem ataku antybiotyków β-laktamowych (ryc. II.8). Szczepy PRP z reguły wykazują też oporność na inne grupy leków. Największym problemem związanym ze zjawiskiem penicylinooporności jest często towarzysząca jej oporność na pozostałe antybiotyki β-laktamowe, takie jak aminopenicyliny i cefalosporyny.

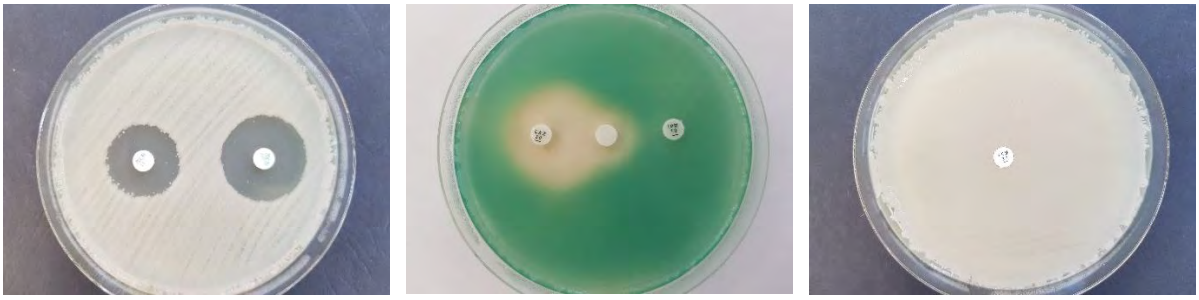
Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

a **b**



Ryc. II.8. Szczep *Streptococcus pneumoniae*: a) wrażliwy, b) oporny na penicylinę na podłożu Muellera-Hinton z 5-proc. krwią końską + 20 mg/L β-NAD.
Źródło: opracowanie własne.

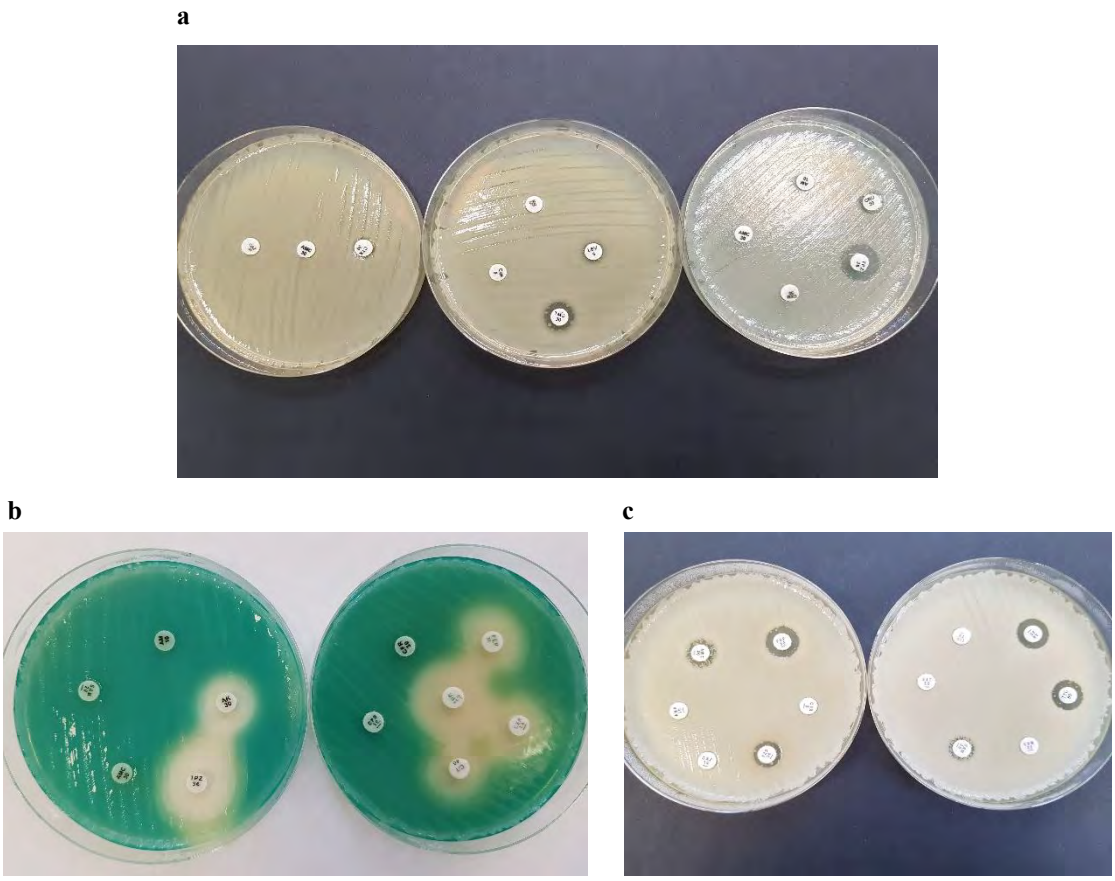
CPE (*carbapenemase-producing Enterobacterales*) – pałeczki *Enterobacterales* wytwarzające β-laktamazy o aktywności karbapenemaz typu KPC, MBL lub OXA-48 (ryc. II.9). Szczepy CPE niemal zawsze są oporne na zdecydowaną większość antybiotyków (niekiedy wręcz na wszystkie) i obecnie brak leków o udowodnionej naukowo skuteczności leczenia zakażeń CPE. To czyni je dzisiaj najgroźniejszymi drobnoustrojami ze względu na lekooporność.



Ryc. II.9. Od lewej: szczep *Klebsiella pneumoniae* KPC (+) dodatni, *Pseudomonas aeruginosa* MBL (+) dodatni i *Acinetobacter baumannii* OXA-48 (+) dodatni na podłożu Muellera-Hinton. (Wszystkie szczepy wytwarzają β-laktamazy hydrolizujące antybiotyki z grupy karbapenemów).
Źródło: opracowanie własne.

Szczepy wieloantybiotykooporne, np. *Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*, zwłaszcza te, u których wraz z opornością na rozmaite grupy leków obserwuje się również oporność na karbapenemy i pozostałe β-laktamy (ryc. II.10). Często wynika ona z obecności wspomnianych wcześniej karbapenemaz, głównie MBL (*Pseudomonas aeruginosa*) i OXA-48 (*Acinetobacter baumannii*).

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska



Ryc. II.10. Antybiogram *Serratia marcescens* (a), *Pseudomonas aeruginosa* (b), *Acinetobacter baumannii* (c) na podłożu Muellera-Hinton. *Źródło: opracowanie własne*.

Badanie lekowrażliwości

W diagnostyce stosuje się aktualnie kilka metod oznaczania lekowrażliwości. Są to:

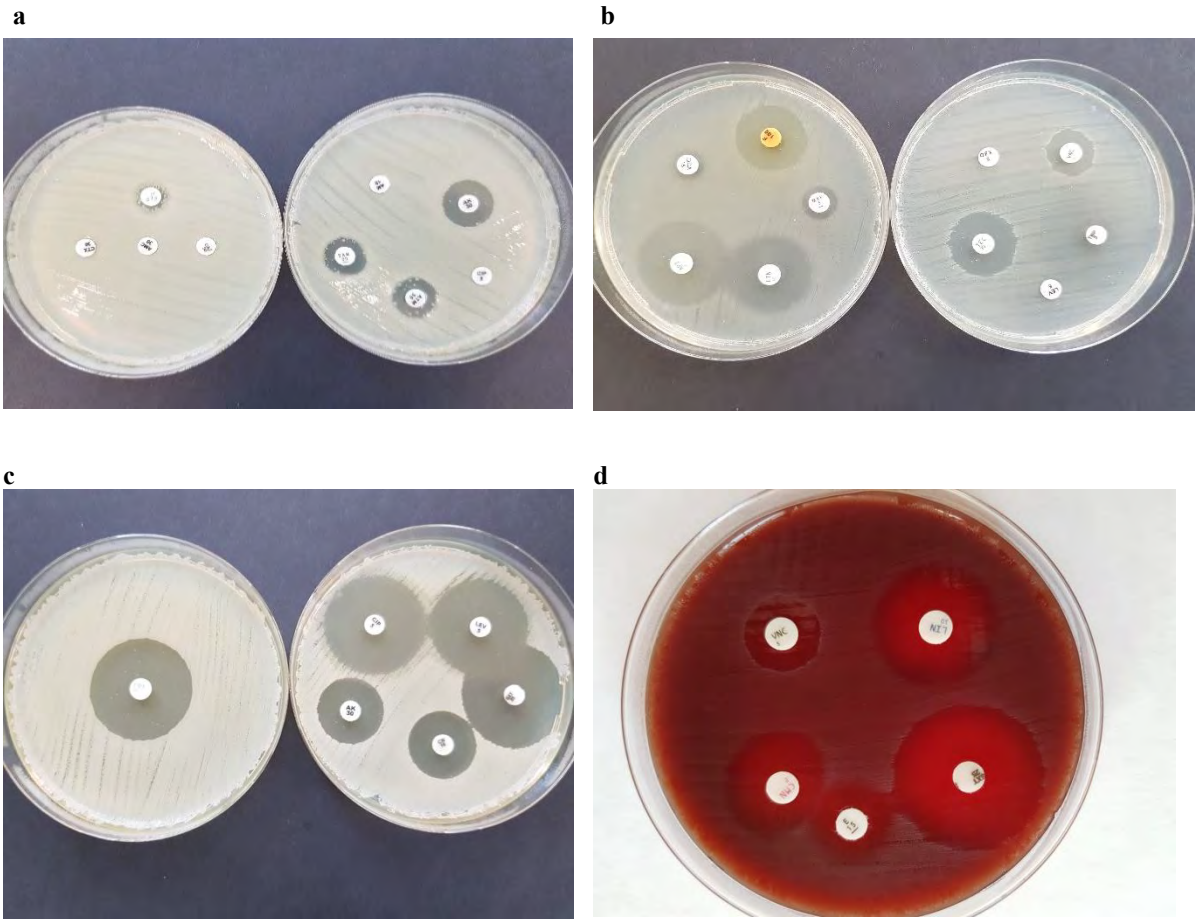
1. Metoda jakościowa

Metoda dyfuzyjno-krążkowa (Kirby-Bauer) z użyciem krążków bibułowych nasączonych antybiotykami jest jedną z najstarszych sposobów badania lekowrażliwości drobnoustrojów i pozostaje jedną z najszerzej stosowanych metod oceny lekowrażliwości w laboratoriach klinicznych. Jest odpowiednia do badania większości patogenów bakteryjnych, w tym bakterii wymagających, umożliwia badanie szerokiej gamy antybiotyków i nie wymaga specjalnego wyposażenia. Metoda polega na nanoszeniu odpowiednich krążków z antybiotykami na powierzchnię płytek agarowych z odpowiednim, rekomendowanym podłożem po równomiernym rozprowadzeniu zawiesiny badanego szczepu o odpowiedniej gęstości. Po wymaganym czasie inkubacji w odpowiedniej temperaturze i atmosferze dokonuje się odczytu i interpretacji według Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości (EUCAST). Wytyczne EUCAST zawierają kliniczne wartości graniczne minimalnych stężeń hamujących (MIC), odpowiadające im wielkości stref zahamowania wzrostu dla poszczególnych grup drobnoustrojów oraz wskazówki do interpretacji wyników.
Od 2019 r. EUCAST wprowadził nowe definicje klinicznych kategorii wrażliwości:
Wrażliwy, symbol „W" („S" w tabelach EUCAST) – drobnoustrój jest wrażliwy, dawkowanie standardowe. Przy zastosowaniu standardowych, rekomendowanych dawek antybiotyku istnieje wysokie prawdopodobieństwo sukcesu terapeutycznego.
Wrażliwy zwiększona ekspozycja, symbol „WZE" („I" w tabelach EUCAST) – drobnoustrój jest wrażliwy i istnieje wysokie prawdopodobieństwo sukcesu terapeutycznego przy zwiększeniu ekspozycji

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

na dany lek, uzyskanej poprzez modyfikację schematu dawkowania (wysoka dawka lub zmieniony sposób podawania leku) w celu zwiększenia stężenia leku w miejscu zakażenia. Według EUCAST ekspozycja jest funkcją tego, jak sposób podawania, dawkowanie, odstępy między dawkami, czas wlewu, a także dystrybucja i wydalanie antybiotyku wpływają na drobnoustrój chorobotwórczy w miejscu zakażenia.

Oporny, symbol „O" w raportach z badania („R" w tabelach EUCAST) – drobnoustrój jest oporny i istnieje wysokie prawdopodobieństwo niepowodzenia terapeutycznego, nawet w przypadku zwiększenia ekspozycji drobnoustroju na lek (wysokie dawki, inny sposób podawania leku; ryc. II.11).



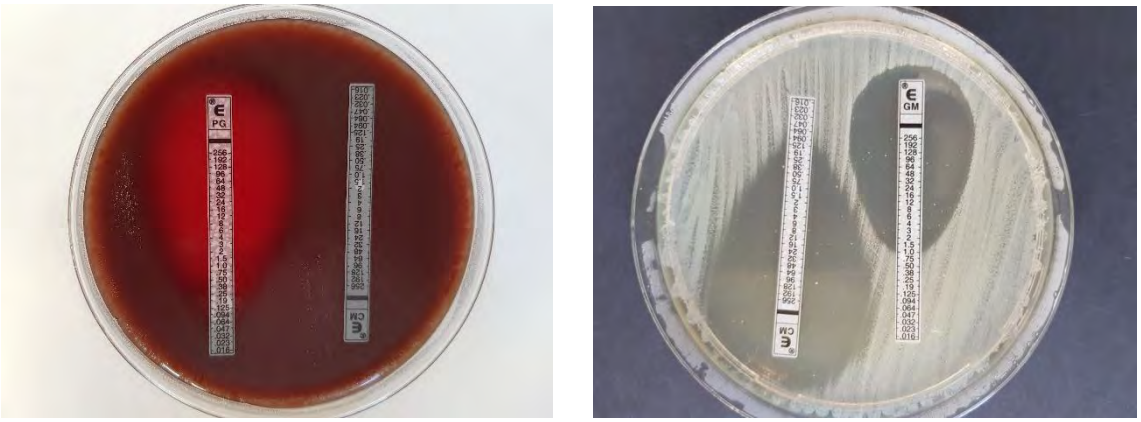
Ryc. II.11. Antybiogram *Escherichia coli* (a), *Enterococcus faecalis* (b), *Staphylococcus aureus* (c) na podłożu Muellera-Hinton oraz *Streptococcus agalactiae* (d) na podłożu Muellera-Hinton z 5-proc. krwią końską + 20 mg/L β-NAD. *Źródło: opracowanie własne.*

2. Metoda ilościowa

a) metoda gradientowo-dyfuzyjna (E-test) opracowana w Szwecji, służąca do ustalenia najmniejszego stężenia antybiotyku/chemioterapeutyku hamującego wzrost drobnoustroju (MIC); polega na nałożeniu wąskiego plastikowego lub papierowego paska nasączonego antybiotykiem na płytkę agarową posianą badanym szczepem bakterii; antybiotyk jest umieszczony gradientowo od najwyższego stężenia do najmniejszego na całej długości paska; po inkubacji w odpowiednich warunkach dokonuje się odczytu wartości MIC w punkcie przecięcia strefy zahamowania wzrostu (elipsa) ze skalą na pasku; pasek nasączony jest gradientem stężeń tylko jednego antybiotyku; E-testy powinny być używane zgodnie z instrukcją producenta, zawierającą wymagania dotyczące stosowanego podłoża hodowlanego, sposobu przygotowania inokulum bakterii, warunków inku-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

bacji, odczytu i interpretacji wyniku oraz kontroli jakości E-testu z użyciem szczepów wzorcowych (ryc. II.12);



Ryc. II.12. E-test penicyliny (MIC = 0,25 µg/ml – szczep wrażliwy na penicylinę) i gentamycyny (MIC = 256 µg/ml – szczep oporny na gentamycynę) dla *Streptococcus pneumoniae* na podłożu Muellera-Hinton z 5-proc. krwią końską + 20 mg/L β-NAD oraz E-test gentamycyny (MIC = 1,0 µg/ml – szczep wrażliwy na gentamycynę) i klindamycyny (MIC = 0,125 µg/ml – szczep wrażliwy na klindamycynę) dla *Staphylococcus aureus* na podłożu Muellera-Hinton.
Źródło: opracowanie własne.

b) metoda seryjnych rozcieńczeń antybiotyku w podłożu stałym lub płynnym:
- metoda seryjnych rozcieńczeń na podłożu płynnym – polega na przygotowaniu serii probówek z podłożem wzrostowym rekomendowanym do badania wrażliwości bakterii/grzybów; do podłoża dodaje się antybiotyk w odpowiednich, malejących stężeniach; następnie do wszystkich probówek dodaje się identyczne ilości zawiesiny danego drobnoustroju z hodowli 24-godzinnej o określonej gęstości; po odpowiednim czasie inkubacji (18–24 godziny), w temperaturze 37 lub 35°C należy sprawdzić, gdzie rozwinęły się hodowle (wizualnie obserwuje się zmętnienie); najniższe stężenie antybiotyku, przy jakim nie rozwijają się mikroorganizmy (podłoże jest przejrzyste), wyznacza wartość MIC; następnie wyznacza się wartość MBC, czyli najniższe stężenie leku zabijające badany szczep bakterii, oraz MFC – minimalne stężenie leku zabijające badany szczep grzyba; przeprowadza się to poprzez wysiew ilościowy na podłoże agarowe, zaczynając od probówki z wyznaczonym MIC i kończąc kolejno na probówce czwartej bez widocznego zmętnienia; najniższe stężenie antybiotyku, pod którego wpływem nie zaobserwowano wzrostu na podłożu agarowym, odpowiada wartości MBC/MFC; wartość MIC, MBC oraz MFC wyraża się w µg/ml lub mg/l; minimalne stężenie hamujące można także wyznaczyć analogicznie na 96-dołkowej płytce do mikrorozcieńczeń (płytka titracyjna); odczyt polega na obserwacji zmętnienia podłoża po określonym czasie inkubacji i może być dokonywany wizualnie lub spektrometrycznie (z użyciem tzw. czytnika mikropłytek; ryc. II.13).

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

a **b**

Ryc. II.13. Metoda seryjnych rozcieńczeń antybiotyków na podłożu płynnym na płytce titracyjnej odczytywanej spektrometrycznie (a); MIC kolistyny oznaczony metodą seryjnych mikrorozcieńczeń: 1 – szczep kontrolny *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 – MIC = 0,5 mg/l, 2 – szczep kontrolny *Escherichia coli* ATCC 25922 – MIC = 2 mg/l, 3 – szczep badany – MIC = 4 mg/l (b).
Źródło: opracowanie własne.

- metoda seryjnych rozcieńczeń na podłożu stałym (z agarem) – polega na przygotowaniu podwójnej serii płytek ze stałym podłożem wzrostowym i dodatkiem badanego antybiotyku w malejących stężeniach; na tak przygotowane płytki wysiewa się jednakową objętość zawiesiny badanego szczepu, odpowiednio inkubuje i po inkubacji obserwuje wzrost kolonii bakterii; wzrost na płytce więcej niż jednej kolonii bakteryjnej świadczy o tym, że stężenie antybiotyku było mniejsze od MIC; najniższe stężenie antybiotyku, przy jakim nie rozwinęła się więcej niż jedna kolonia, wyznacza wartość MIC.

c) systemy automatyczne, np. Vitek, MALDI-TOF – systemy automatyczne do identyfikacji bakterii i oznaczania ich lekowrażliwości oparte są na spektrometrii masowej, pozwalają na bezpośrednią identyfikację białek z hodowli bakteryjnej; stosowanie systemów automatycznych przynosi wymierne korzyści, np. skrócenie czasu oczekiwania na wynik identyfikacji i lekowrażliwości oraz szybkie wdrożenie terapii empirycznej po zidentyfikowaniu czynnika etiologicznego.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

III. Zakażenia ośrodkowego układu nerwowego

Joanna Bronikowska

Zakażenia OUN są chorobą o zróżnicowanej etiologii (bakteryjnej, wirusowej, grzybiczej, pierwotniakowej), obejmującą naciek zapalny opony miękkiej i pajęczej oraz przestrzeni podpajęczynówkowej.
Zakażenia OUN mogą manifestować się klinicznie jako:

- zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych
- zapalenie mózgu
- ropień mózgu
- ropniak mózgu
- encefalopatia.

Wyróżniamy następujące drogi zakażenia OUN:

- zakażenie w czasie wiremii w przebiegu choroby wirusowej;
- zakażenie drogą krwiopochodną z pozaczaszkowych ognisk zakażenia, np. w wyniku bakteriemii, posocznicy, zapalenia płuc, lub z miejsc kolonizacji bakterii, np. nosogardzieli;
- zakażenie poprzez przerwanie ciągłości tkanek w wyniku procesów zapalnych obejmujących okoliczne tkanki i narządy, np. zapalenie ucha środkowego, zapalenie zatok, ropienie;
- zakażenie poprzez wniknięcie bakterii przez uszkodzoną oponę twardą w wyniku urazów, zabiegów chirurgicznych.

1. Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych

Opony mózgowo-rdzeniowe (OMR) pełnią funkcję podporową, ochronną w stosunku do rdzenia kręgowego, w połączeniu z naczyniami tworzą strukturalną barierę krew–mózg. Wśród OMR można wyróżnić oponę twardą, pajęczą i miękką. Otoczone są płynem mózgowo-rdzeniowym.
Do charakterystycznych objawów zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych (ZOMR) zaliczamy objawy wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego i objawy oponowe. Typowymi objawami wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego są: ból głowy, nudności i wymioty, rozszerzone i słabo reagujące źrenice, objaw Cushinga (obecność podwyższonego ciśnienia przy bradykardii), natomiast do objawów oponowych zaliczamy: światłowstręt, sztywność karku oraz objawy Kerniga, Brudzińskiego, Flataua i Hermana, polegające na wzmożonym napięciu mięśni przykręgosłupowych. Objawy wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego wraz z objawami oponowymi tworzą tzw. zespół oponowy. Do najbardziej charakterystycznych objawów zespołu oponowego należą: wysoka gorączka (> 39°C), zaburzenia świadomości, do utraty przytomności włącznie, niedowłady spastyczne, drgawki, zaburzenia mowy, bradykardia. Objawy takie jak niewydolność oddechowa, wybroczyny skórne, wykrzepianie wewnątrznaczyniowe (*disseminated intravascular coagulation* – DIC) czy wstrząs są rzadsze i występują zazwyczaj w ostrych zapaleniach OMR i mózgu.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

2. Zapalenie mózgu

Zapalenie mózgu jest wynikiem wytworzenia się stanu zapalnego w obrębie tkanki mózgowej, może pojawić się niezależnie od ZOMR lub mu towarzyszyć. Do początkowych objawów zapalenia mózgu zaliczamy drażliwość, pogorszenie nastroju i niepokój. W tym okresie choroby obserwuje się drgawki, roztargnienie, a nawet splątanie. Wraz z narastaniem objawów zwiększa się prawdopodobieństwo wystąpienia drgawek i senności prowadzącej do śpiączki. Zapalenie mózgu może być powikłaniem zarówno zakażenia o etiologii wirusowej, jak i bakteryjnej.

3. Ropień mózgu

Ropień mózgu jest zakażeniem wewnątrzczaszkowym, prowadzącym do powstania ropnia w wyniku przedostania się drobnoustrojów do mózgowia lub drogą krwiopochodną. Około 10% przypadków ropni mózgu jest skutkiem uszkodzenia opony twardej w wyniku urazów. Objawy kliniczne są zależne od wielu czynników, m.in: umiejscowienia ropnia, jego wielkości, czynnika etiologicznego czy stanu odporności. Do typowych objawów ropnia mózgu zaliczamy: ból głowy, gorączkę (co drugi chory), wzrost ciśnienia śródczaszkowego, nudności, wymioty, napady padaczkowe i zaburzenia świadomości. Diagnostyka opiera się na wykonaniu tomografii komputerowej (TK) i rezonansu magnetycznego (RM). Diagnostyka laboratoryjna opiera się na posiewie krwi i PMR, jednak często posiewy te są ujemne. Obserwuje się wzrost stężenia białka C-reaktywnego (*C-reactive protein* – CRP) i OB (odczyn Biernackiego). Leczenie polega na usunięciu ropnia i wdrożeniu antybiotykoterapii.

4. Ropniak mózgu

Ropniakiem wewnątrzczaszkowym nazywamy zbiornik ropy umiejscowiony nad lub pod oponą twardą. Ropniak podtwardówkowy jest zazwyczaj powikłaniem infekcji laryngologicznych, ZOMR i operacji neurochirurgicznych, natomiast ropniak nadtwardówkowy jest skutkiem zakażenia okołooperacyjnego. Do charakterystycznych objawów klinicznych ropniaków należą gorączka, zespół oponowy i objawy nadciśnienia wewnątrzczaszkowego – bóle głowy, nudności, wymioty, zaburzenia świadomości. Rozpoznanie opiera się na obrazowych badaniach radiologicznych, najlepiej RM. W przypadku rozpoznania ropniaka konieczne są interwencja chirurgiczna i wdrożenie antybiotykoterapii. Możliwe są powikłania w postaci udaru niedokrwiennego, zakrzepicy, zapalenia kości czaszki, wodogłowia, ropnia mózgu czy padaczki. Śmiertelność pacjentów z ropniakiem mózgu sięga 10–20%.

5. Encefalopatia mózgu

Encefalopatia to przewlekłe lub trwałe uszkodzenia mózgu, prowadzące często do niewydolności OUN. Najczęściej stwierdza się objawy uszkodzenia nerwów czaszkowych, objawiające się upośledzeniem reakcji źrenic, a także oczopląs i niedowład nerwu twarzowego. Encefalopatia może być następstwem przebytych urazów czaszkowo-mózgowych, infekcji bakteryjnych i wirusowych czy chorób nowotworowych.

Diagnostyka ZOMR

Najważniejszym badaniem w rozpoznaniu ZOMR jest ocena PMR. Można go uzyskać, wykonując punkcję lędźwiową. Analiza laboratoryjna i bakteriologiczna PMR pozwala na rozpoznanie ZOMR, zróżnicowanie bakteryjnego, wirusowego, gruźliczego i grzybiczego ZOMR, jak również na szybką identyfikację patogenu bakteryjnego (preparat bezpośredni – barwienie metodą Grama). Płyn mózgowo-rdzeniowy powinien być pobrany na odpowiednie podłoże, podgrzane wcześniej do temperatury 37°C. Próbka powinna być niezwłocznie dostarczona do laboratorium (dopuszcza się 2 godziny).

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

1. Badanie laboratoryjne PMR

W przypadku ZOMR lub zapalenia mózgu PMR – który fizjologicznie jest jałowy, przejrzysty – staje się mętny, ropny i wypływa pod zwiększonym ciśnieniem. Stężenie białka całkowitego, które zwykle z nakłucia lędźwiowego waha się w granicach 0,1–0,4 g/l, jest znamiennie podwyższone (> 2 g/l), natomiast stężenie glukozy jest niższe. W patologicznym PMR stwierdza się podwyższoną ilość granulocytów obojętnochłonnych. Obserwuje się również leukocytozę i wzrost stężenia CRP.

2. Badanie bakteriologiczne PMR

W ramach badania bakteriologicznego PMR należy wykonać preparat bezpośredni i zabarwić go metodą Grama lub Ziehla-Neelsena (przy podejrzeniu gruźliczego ZOMR), a następnie wykonać posiew na odpowiednie podłoża bakteriologiczne. Wskazane jest również – zwłaszcza u pacjentów, u których z różnych przyczyn niemożliwe jest pobranie PMR – wykonanie posiewu krwi. Zarówno posiew PMR, jak i krwi pozwala na wykrycie czynnika etiologicznego i określenie jego wrażliwości na antybiotyki. Należy również pamiętać, że wszelkie posiewy materiałów wykonuje się przed podaniem antybiotyków.

3. Badanie molekularne PMR

Badanie PMR metodą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) wykonuje się w celu wykrycia kwasu nukleinowego różnych patogenów, które mogą występować w próbce. Metoda pozwala wykryć materiał genetyczny bakterii, wirusów, grzybów lub pasożytów i jest przydatna szczególnie, kiedy drobnoustroje nie wzrastają na standardowej pożywce lub pacjent został poddany antybiotykoterapii.

Bakteryjne ZOMR

Bakteryjne ZOMR charakteryzuje się zazwyczaj ciężkim przebiegiem klinicznym z objawami oponowymi, zaburzeniem świadomości i niewydolnością oddechową prowadzącą do śmierci. Bakteryjne ZOMR może mieć charakter ropny i nieropny w zależności od czynnika etiologicznego. Zapalenia ropne najczęściej są wywoływane przez bakterie otoczkowe, tj.: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae* czy *Escherichia coli*. Ropne zapalenie powoduje też *Listeria monocytogenes*, jednak jest to bakteria namnażająca się wewnątrzkomórkowo i bezotoczkowa. Czynnikami etiologicznymi nieropnych ZOMR są zazwyczaj *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira interrogans*, *Treponema pallidum* i *Mycobacterium tuberculosis*.

Neisseria meningitidis (meningokoki)

Zakażenia *Neisseria meningitidis* są najczęściej wywoływane u dzieci w wieku poniżej 5 roku życia przez serotypy B, C oraz Y. Drugą grupą wiekową narażoną na zakażenia meningokokami jest młodzież (od 18 do 24 lat), która często jest bezobjawowym nosicielem. Meningokoki bytują w ślinie oraz w wydzielinach dróg oddechowych.

Głównym czynnikiem zjadliwości meningokoków jest otoczka wielocukrowa, której różnice w budowie stały się podstawą do podziału *Neisseria meningitidis* na 12 grup serologicznych (A, B, C, X, Y, Z, W135, 29E, H, I, K i L). Za większość zakażeń odpowiedzialne są grupy A, B, C, Y i W135. Oprócz otoczki czynnikami determinującymi chorobotwórczość meningokoków są białka błony zewnętrznej (PorA i PorB). Integralną składową ściany komórkowej tych bakterii jest endotoksyna (lipopolisacharyd – LPS), przy czym ze względu na inną budowę (krótsze łańcuchy cukrowe) stosuje się nazwę lipooligosacharyd (LOS).

Neisseria meningitidis jest czynnikiem etiologicznym ZOMR. Choroba zazwyczaj rozwija się nagle z charakterystycznymi objawami, takimi jak ból głowy, objawy oponowe i gorączka. U małych dzieci mogą pojawić się wymioty jako objaw mniej swoisty. Szybkie wdrożenie leczenia daje dobre rokowania, a powikłania zwykle są rzadkie.

Zakażenia wywołane *Neisseria meningitidis* mogą też przebiegać jako posocznica meningokokowa, której może, ale nie musi towarzyszyć ZOMR. Wówczas choroba ma przebieg piorunujący (zespół

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Waterhouse'a-Friderichsena), prowadzący w ciągu kilku godzin – o ile nie zostanie podjęte leczenie – do wstrząsu i zgonu pacjenta. Do wczesnych objawów posocznicy meningokokowej należą dreszcze, zwiększona liczba oddechów, bóle mięśniowe i stawowe. Posocznicy mogą towarzyszyć: sinica, chłodne stopy i dłonie, oliguria, senność, niskie ciśnienie tętnicze krwi, zakrzepica małych naczyń krwionośnych, wybroczyny zlokalizowane na kończynach. Do wczesnych powikłań choroby meningokokowej można zaliczyć martwicę, owrzodzenie wokół wylewów krwawych i zmian wybroczynowych. Wśród późnych następstw po przebyciu ZOMR wywołanych przez *Neisseria meningitidis* wyróżniamy reaktywne zapalenie stawów, zapalenie błon surowiczych czy powikłania neurologiczne. U chorych z podejrzeniem ZOMR wywołanych *Neisseria meningitidis* rozpoznanie opiera się na badaniu ogólnym i mikrobiologicznym PMR. W takim przypadku PMR zazwyczaj jest mętny i podczas nakłucia lędźwiowego wypływa pod wzmożonym ciśnieniem. W badaniach laboratoryjnych stwierdza się podwyższone parametry stanu zapalnego (leukocytoza, wzrost prokalcytoniny i CRP). W celu ustalenia czynnika etiologicznego ZOMR należy założyć hodowlę z PMR lub krwi na odpowiednich podłożach. Przy podejrzeniu zakażenia *Neisseria meningitidis* należy wdrożyć antybiotykoterapię. Meningokoki są wrażliwe na większość antybiotyków. Dostępne są dwie szczepionki polisacharydowe przeciwko meningokokom grupy A i C oraz 4-walentna przeciwko grupom A, C, W135 i Y. Szczepienia te nie są obowiązkowe, jednak zaleca się ich stosowanie u pacjentów z chorobami układu immunologicznego (np. z niedoborami odporności).

Haemophilus influenzae

Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych wywołane jest zazwyczaj przez otoczkowy szczep *Haemophilus influenzae* typu b (Hib). Drobnoustrój ten kolonizuje nosogardziel u niemowląt i małych dzieci, bardzo rzadko u osób dorosłych. Do czynników determinujących chorobotwórczość tej pałeczki Gram-ujemnej należą: otoczka polisacharydowa (6 typów) i otoczka zbudowana z polifosforanu rybozy. Ważnymi czynnikami zjadliwości są też LPS, rzęski, białka błony zewnętrznej, a także zdolność do wytwarzania proteazy IgA.
U dzieci Hib oprócz ZOMR wywołuje zapalenie płuc, ostre zapalenie nagłośni, zapalenie tkanki podskórnej, kości i stawów. ZOMR rozwija się wolno (3–4 dni), rozpoczyna się zakażeniem dróg oddechowych. Do objawów tych dołączają objawy typowe dla ZOMR, takie jak: senność, wymioty, drgawki, płacz dziecka, u starszych dzieci ból głowy i światłowstręt. Do najczęstszych powikłań zakażenia tymi bakteriami zaliczamy nawrót gorączki z objawami neurologicznymi, które są związane z ogniskami zapalnymi przestrzeni podtwardówkowej lub mogą być związane z zakrzepicą żył mózgowych. Do rzadszych następstw ZOMR wywołanych przez Hib należą drgawki czy wodogłowie.
W celu rozpoznania zakażeń wywołanych przez Hib należy wykonać preparat bezpośredni (w PMR widoczne Gram-ujemne pałeczki), a także uzyskać dodatni wynik hodowli bakteryjnej z PMR i krwi. Metodą lateksową można stwierdzić specyficzny dla Hib antygen polifosforanu rybozy.
Podstawą leczenia jest wdrożenie antybiotykoterapii (cefalosporyny, cefotaksym, ceftriakson), którą należy kontynuować przez 7–10 dni. Alternatywą jest podawanie chloramfenikolu. Dodatkowo leczenie wspomaga się nawadnianiem, obniżeniem ciśnienia śródczaszkowego, zapobieganiem drgawkom. Jako profilaktykę stosuje się szczepionkę podawaną niemowlętom w 2, 3–4, 5–6 miesiącu życia, a następnie dawkę przypominającą w 16–18 miesiącu życia.

Escherichia coli

Escherichia coli jest Gram-ujemną pałeczką odpowiedzialną za różne zakażenia. Do czynników zjadliwości zaliczamy endotoksynę, fimbrie, enterotoksyny (toksyna ciepłostała – ST, toksyna ciepłochwiejna – LT) oraz otoczkę fagocytarną (K1). Szczepy otoczkowe *Escherichia coli* są odpowiedzialne za zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych u noworodków. Do zakażenia dochodzi zazwyczaj w wyniku nabycia drobnoustrojów ze skolonizowanych dróg rodnych matki. Na zakażenie narażeni są też pacjenci

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

po zabiegach neurochirurgicznych i z upośledzeniem układu immunologicznego. Rozpoznanie opiera się na hodowli i izolacji *Escherichia coli* na podłożu MacConkeya (różowe kolonie – rozkład laktozy), analizie biochemicznej i serotypowaniu (szczep otoczkowy K1 odpowiada za ZOMR u noworodków). Leczenie polega na podawaniu antybiotyków.

Streptococcus pneumoniae

Streptococcus pneumoniae jest jedną z najczęstszych przyczyn zachorowań i śmiertelności dzieci na świecie. Głównym naturalnym rezerwuarem *Streptococcus pneumoniae* jest człowiek. Zakażenie przenosi się drogą kropelkową. Najwyższą częstość kolonizacji pneumokokami obserwuje się u małych dzieci (do 5 lat), stopniowo maleje wraz z wiekiem. Okres kolonizacji może być bardzo różny i sięgać nawet kilku miesięcy. To drobnoustrój należący do ziarniaków Gram-dodatnich inwazyjnych, a jego chorobotwórczość związana jest głównie z zakażeniami układu oddechowego (patrz rozdział IV). ZOMR jest rzadkie u noworodków, częściej choroba dotyczy dzieci starszych i dorosłych. Śmiertelność oraz powikłania neurologiczne są dosyć częste.

Pneumokokowe ZOMR występuje we wszystkich grupach wiekowych z wyjątkiem noworodków. Ryzyko zachorowania jest większe u pacjentów z urazem opony twardej, z przewlekłym ropnym zapaleniem ucha środkowego, zatok, z asplenią wrodzoną (brak śledziony) lub nabytą (usunięcie śledziony wskutek różnych chorób). Początek choroby zwykle jest nagły, pojawiają się typowe objawy zespołu oponowego.

W przypadku podejrzenia ZOMR wywołanego przez *Streptococcus pneumoniae* w PMR stwierdza się znaczną pleocytozę oraz Gram-dodatnie dwoinki. Należy także wykonać posiewy krwi, które zazwyczaj są dodatnie w ciągu 24 godzin. Lekiem z wyboru jest penicylina, na którą większość pneumokoków jest wrażliwa. Zakażenia wywoływane szczepami *Streptococcus pneumoniae* wykazującymi oporność na penicylinę leczy się takimi antybiotykami, jak cefotaksym, ceftriakson czy wankomycyna. Obecnie dostępne są dwie szczepionki stosowane w profilaktyce zakażeń pneumokokami. Dla dzieci powyżej 2 roku życia i osób starszych (powyżej 65 lat) zaleca się stosowanie szczepionki 23-walentnej, która zawiera 23 różne wielocukry otoczkowe, natomiast dla dzieci poniżej 2 roku życia 13-walentną koniugowaną szczepionkę pneumokokową.

Streptococcus agalactiae

Streptococcus agalactiae jest ziarenkowcem Gram-dodatnim, β-hemolizującym, zaliczanym według podziału Lancefield do grupy B (*group B streptococcus* – GBS). Drobnoustroje te są komensalami kolonizującymi układ moczowo-płciowy oraz czasami układ pokarmowy zdrowych ludzi. Często zasiedlają pochwę. W przypadku gdy nosicielką jest kobieta ciężarna (10–30%), istnieje duże prawdopodobieństwo zakażenia okołoporodowego.

Do najważniejszych czynników wirulencji *Streptococcus agalactiae* należą: otoczka polisacharydowa, białka o aktywności enzymatycznej (umożliwiają adhezję, kolonizację i inwazję komórek gospodarza), cytolizyny (wykazują zdolność tworzenia porów w komórkach nabłonka i śródbłonka pęcherzyków płucnych *in vitro*) oraz adhezyny bakteryjne (są odpowiedzialne za bezpośredni kontakt z komórkami eukariotycznymi). Ważnym czynnikiem wydzielanym przez *Streptococcus agalactiae* jest białko CAMP (Christie-Atkins-Munch-Peterson), które jest zdolne do niszczenia błon komórkowych. Do czynników determinujących chorobotwórczość GBS należą także enzymy: peptydaza białka C5a układu dopełniacza, liaza kwasu hialuronowego oraz fimbrie.

Zakażenia okołoporodowe dzielą się na wczesno- i późnoobjawowe. Wczesne infekcje pojawiają się w ciągu pierwszych dni po urodzeniu, dotyczą około 2% noworodków i zazwyczaj manifestują się zapaleniem płuc, bakteriemią, ZOMR, a w konsekwencji wstrząsem septycznym. Zakażenie częściej dotyczy wcześniaków z niską masą urodzeniową. Do czynników, które zwiększają ryzyko wczesnych infekcji wywołanych *Streptococcus agalactiae*, należą również późne przerwanie błon płodowych,

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

bakteriemia poporodowa i zakażenie wód płodowych. Najczęstszymi objawami późnych infekcji, pojawiającymi się około 3–4 tygodnia po porodzie, są bakteriemia z towarzyszącym ZOMR. Śmiertelność w przypadku infekcji późnoobjawowych waha się w granicach 10–15%. U około połowy dzieci, które przebyły ZOMR wywołane GBS, pojawiają się powikłania neurologiczne.
U pacjentów dorosłych zakażenie GBS manifestuje się jako: zakażenia skóry, kości, stawów, zapalenie płuc, bakteriemia, ZOMR czy zapalenie mięśnia sercowego. *Streptococcus agalactiae* może być też czynnikiem etiologicznym zakażenia układu moczowego, odmiedniczkowego zapalenia nerek czy wstrząsu toksycznego. Jednak zazwyczaj zakażenia te dotyczą pacjentów z takimi chorobami jak cukrzyca, marskość wątroby, choroba nowotworowa, choroby układu moczowego, zatem chorych z wtórnymi niedoborami odporności. Zgodnie z aktualnymi wytycznymi u wszystkich ciężarnych w 35––37 tygodniu ciąży zaleca się przeprowadzenie badań przesiewowych w kierunku kolonizacji bakteriami GBS z pochwy i odbytu. Należy pobrać dwa wymazy – jeden z przedsionka pochwy, drugi z odbytu – i założyć hodowlę na podłożu wzbogaconym w krew baranią. Identyfikacja opiera się na analizie cech morfologicznych hodowli (hemoliza typu β), morfologii komórki bakteryjnej. W celu potwierdzenia obecności *Streptococcus agalactiae* przeprowadza się również testy biochemiczne, tj. ujemny test na katalazę, dodatni test CAMP, polegający na powiększonej strefie hemolizy β, hydrolizy hipuranu, a także wykazanie grupowo-swoistego wielocukru ściany komórkowej. Paciorkowce z grupy B są wrażliwe na antybiotyki β-laktamowe. U niektórych pacjentów uczulonych na penicylinę stosuje się wankomycynę. Bakterie te wykazują oporność na tetracyklinę i erytromycynę.

Listeria monocytogenes

Bakteria ta jest Gram-dodatnią pałeczką występującą w wodach ściekowych, glebie, odchodach ludzi i zwierząt, jak również w serze i mięsie. Co istotne, *Listeria monocytogenes* jest zdolna do wzrostu w temperaturze 4–40°C, może nawet przeżyć w 60°C.
Do czynników determinujących chorobotwórczość *Listeria monocytogenes* zaliczamy internalinę (białko błonowe ułatwiające wchłanianie przez komórki), listeriolizynę O (białko hemolityczne) i fosfolipazy, które ułatwiają rozpuszczanie błon komórkowych.
Listeria monocytogenes wywołuje chorobę zwaną listeriozą, która najczęściej dotyczy ciężarnych i noworodków. Listerioza dorosłych objawia się klinicznie u pacjentów z niedoborami odporności. Listerioza ciężarnych jest chorobą gorączkową, czasem dochodzi do kolonizacji bakteriami jelit i dróg rodnych, natomiast listerioza noworodków zazwyczaj manifestuje się ZOMR w pierwszych 3–4 tygodniach życia. Jak wspomniano, zakażenia wywołane przez *Listeria monocytogenes* u osób dorosłych dotyczą pacjentów z zaburzeniami odporności, a typowymi objawami są ZOMR, bakteriemia i zapalenie otrzewnej. Przy podejrzeniu listeriozy należy pobrać PMR i krew w celu wykonania badania mikrobiologicznego. Obecność drobnoustrojów w preparacie bezpośrednim oraz w hodowli świadczy o zakażeniu *Listeria monocytogenes*.

Mycobacterium tuberculosis complex

Zakażenie OUN wywołane przez prątki (*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum*) ma klinicznie przebieg ciężki i wiąże się z wysoką śmiertelnością. Najczęściej chorują dzieci i pacjenci z obniżoną odpornością. Gruźlica układu nerwowego stanowi około 1% wszystkich przypadków i zazwyczaj jest wynikiem przedostania się prątków z pierwotnego ogniska zakażenia do naczyń krwionośnych.
Gruźlicze ZOMR obejmuje oponę twardą, miękką oraz rdzeń kręgowy. Do postaci gruźliczego ZOMR zaliczamy: rozsiane gruzełki prosówkowate (zmiany te występują w gruźlicy prosówkowej, gruzełki zbudowane są z limfocytów), odosobnione ognisko serowate, ostre serowate ZOMR i proliferacyjne zapalenie opon. Najczęstszą postacią gruźlicy OUN jest ostre serowate zapalenie opon; naciek zapalny obejmuje najczęściej opony podstawy mózgu. Oprócz wymienionych postaci gruźliczych zmian

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

w oponach miękkich można wyróżnić dwie rzadsze – gruźlicze zapalenie opony twardej, które jest najczęściej powikłaniem zapalenia kości, i gruźliczaka (guz gruźliczy – *tuberculoma*), który stanowi pojedynczy lub mnogi guz występujący w mózgowiu. W wyniku zmian może się również rozwinąć gruźliczy ropień mózgu.

Do pierwszych objawów klinicznych gruźlicy OUN należą: niewysoka gorączka, nocne poty, dreszcze, bóle głowy, wymioty, zaburzenia snu. Następnie dołączają objawy oponowe, senność, porażenie nerwów czaszkowych, afazja. Powikłaniami gruźlicy OUN są niedowład nerwu twarzowego, głuchota, rzadziej drgawki.

W przypadku gruźlicy OUN materiałem do badań powinien być PMR, który zawiera podwyższoną liczbę krwinek białych oraz białka całkowitego, natomiast stężenie glukozy jest obniżone. Rekomenduje się leczenie takie jak w przypadku gruźlicy płucnej.

Treponema pallidum

Kiła OUN (neurosyfilis) klinicznie ujawnia się podczas kiły nabytej drugiego i trzeciego okresu. Czynnikiem etiologicznym kiły jest *Treponema pallidum* (patrz rozdział VII). Objawy zakażenia tym krętkiem zazwyczaj przebiegają w trzech stadiach: kiły pierwszorzędowej (okres I), drugorzędowej (okres II) i trzeciorzędowej (okres III). Kiła pierwszorzędowa charakteryzuje się występowaniem zmiany pierwotnej (wrzód twardy), która pojawia się w miejscu wniknięcia krętków i samoistnie zanika. Po kilku tygodniach pojawiają się objawy kiły drugorzędowej, tj. kłykciny płaskie, uogólniona limfadenopatia oraz objawy grypopodobne. U pacjentów nieleczonych może rozwinąć się kiła trzeciorzędowa, która u około 7% chorych manifestuje się jako kiła OUN.

Kiła OUN może występować w różnych postaciach: ostrego ZOMR, kiły oponowo-naczyniowej mózgu i rdzenia, porażenia postępującego i wiądu rdzenia. W kile OUN mogą pojawić się charakterystyczne dla kiły późnej zmiany zwane kilakami.

Ostre kiłowe zapalenie opon może przebiegać w dwóch postaciach – kilakowej i rozlanej. Postać kilakowa charakteryzuje się występowaniem ziarniniaków, które są zbudowane z komórek nabłonkowych, limfocytów i komórek plazmatycznych. Ziarniniaki te tworzą większe ugrupowania, tzw. kilaki. Może przebiegać bezobjawowo lub objawowo. Do najbardziej charakterystycznych objawów ostrego kiłowego ZOMR należą: bóle głowy, nudności, gorączka, porażenie nerwów czaszkowych, objawy oponowe, zaburzenia świadomości i zaburzenia psychiczne.

Kiła oponowo-naczyniowa rozpoczyna się zazwyczaj objawami prodromalnymi, do których należą bóle głowy, zawroty głowy i apatia. Objawami typowymi w kile oponowo-naczyniowej są zapalenie naczyń oraz ZOMR.

Porażenie postępujące jest postacią kiły układu nerwowego, w której obserwuje się pogrubiałe opony z charakterystycznymi naciekami zapalnymi. Współistnieje z zaburzeniami mowy, objawem Argylla Robertsona (brak bezpośredniej reakcji źrenic na światło), nierównością źrenic czy otępieniem. Charakterystyczne dla porażenia postępującego są też objawy neurologiczne: drżenie w obrębie mięśni twarzy, palców, języka, a nawet nietrzymanie moczu i stolca. Postacią kiły oponowo-naczyniowej jest też wiąd rdzenia. Najczęstszym objawem są przeszywające bóle kończyn, opasujące w okolicy brzusznej i klatki piersiowej, trwające od kilku minut do nawet kilku godzin.

W diagnostyce kiły układu nerwowego materiałem do badań jest PMR. Zazwyczaj obserwuje się podwyższone stężenie białka całkowitego, a obniżone stężenie glukozy. Często obserwuje się dodatni odczyn kłaczkujący VDRL.

W przypadku potwierdzenia kiły OUN podaje się penicylinę krystaliczną w czterech dawkach przez 2 tygodnie, następnie penicylinę benzatynową G przez tydzień.

Leptospira interrogans

Innymi bakteriami spiralnymi, które mogą być przyczyną zakażeń OUN, jest rodzaj *Leptospira.*

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Głównym przedstawicielem tej rodziny jest gatunek *Leptospira interrogans*. Najczęstszym rezerwuarem gatunku są gryzonie i małe ssaki, u których leptospiry wywołują zwykle zakażenie bezobjawowe. U ludzi zakażenie może przebiegać bezobjawowo lub też objawiać się jako łagodna choroba gorączkowa lub zespół Weila, który klinicznie manifestuje się uszkodzeniem nerek, wątroby (żółtaczka) i zapaleniem naczyń serca. Objawem leptospirozy może być ZOMR, które w tym przypadku ma przebieg łagodny i wiąże się z niską śmiertelnością, a w PMR rzadko można wyizolować bakterie. Co istotne, w pierwszym tygodniu podejrzenia zakażenia leptospirozą należy pobrać krew i ewentualnie PMR, później mocz. Diagnostyka mikrobiologiczna jest trudna, gdyż komórki są cienkie, nie barwią się metodą Grama. Do hodowli leptospir przeznaczone jest podłoże Fletchera. Częściej stosuje się diagnostykę molekularną, np. metody PCR lub serologiczną. Leczenie powinno obejmować antybiotykoterapię.

Borrelia burgdorferi

Borelioza jest chorobą wywołaną przez krętki należące do kompleksu *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Rezerwuarem bakterii są zwierzęta wolno żyjące, natomiast wektorami przenoszenia choroby są kleszcze *Ixodes ricinus*, które żerują na zwierzętach (zazwyczaj drobnych gryzoniach). Choroba z Lyme (borelioza) to choroba wieloukładowa, charakteryzująca się przebiegiem zarówno objawowym, jak i bezobjawowym. Zakażenia objawowe najczęściej można podzielić na trzy okresy. W okresie I, zwykle pojawiającym się od kilku dni do około 7 tygodni od zakażenia, zmiana jest typową zmianą miejscową, niebolesną, nieregularną, rozszerzającą się pierścieniowo, określaną jako rumień wędrujący (*erythema migrans*). Mogą jej towarzyszyć niewysoka gorączka, bóle mięśni, stawów i głowy. Obserwuje się również powiększenie węzłów chłonnych. *Erythema migrans* jest objawem, który u większości chorych potwierdza zakażenie *Borrelia burgdorferi*. Około 2 miesięcy od zakażenia rozpoczyna się zwykle II okres choroby, a objawy kliniczne są wynikiem rozsiewu bakterii drogą krwiopochodną do różnych narządów. Chorzy są zazwyczaj osłabieni, senni, z towarzyszącymi bólami głowy, bólami stawowymi i mięśniowymi. Charakterystycznym objawem tego okresu jest też pojedyncza niebiesko-czerwona zmiana występująca na skórze, tzw. pseudochłoniak boreliozowy. Objawy boreliozy przypadające w III okresie choroby mają charakter przewlekły i zazwyczaj dotyczą dużych stawów: kolanowego, rzadziej biodrowego, łokciowego czy nadgarstkowego. Objawem dość typowym jest też zanikowe zapalenie skóry.

Borelioza układu nerwowego rozwija się u około 15% chorych. Do charakterystycznych objawów neuroboreliozy postaci wczesnej zaliczamy ZOMR, neuropatie nerwów czaszkowych, zapalenie rdzenia i zapalenie mózgu. ZOMR może objawić się nawet po kilku miesiącach od zakażenia. Poza typowymi objawami ogólnymi i oponowymi występuje neuropatia nerwów czaszkowych, obejmująca nerw twarzowy (50% przypadków), czasem nerw przedsionkowo-ślimakowy, co może skutkować ubytkiem słuchu. Zaburzenia widzenia mogą być konsekwencją zajęcia nerwu wzrokowego. Najpoważniejszą, chociaż najrzadszą postacią neuroboreliozy jest zapalenie mózgu i rdzenia mózgowego. Objawami tej postaci neuroboreliozy są niedowład spastyczny kończyn, niedowład pęcherza moczowego oraz zaburzenia czucia. Do objawów późnej neuroboreliozy z zajęciem OUN należą: polineuropatia, neuropatia nerwów czaszkowych, przewlekłe zapalenie mózgu i rdzenia, encefalopatia. Objawy te pojawiają się po kilku miesiącach od zakażenia. Charakterystyczne dla tego okresu są progresja, remisja i zaostrzenia objawów. U niektórych pacjentów z neuroboreliozą mogą pojawić się objawy wynikające z zaburzeń psychopatologicznych.

Rozpoznanie boreliozy obejmuje wywiad (historia ukąszenia przez kleszcza), objawy kliniczne (rumień wędrujący) oraz wyniki badań serologicznych. Krętki bardzo trudno hoduje się na podłożach sztucznych (pożywka Kelly). Wynik pozytywny częściej można uzyskać z hodowli z PMR. W związku z tym hodowla bakterii z rodzaju *Borrelia* nie znalazła zastosowania w rutynowej diagnostyce boreliozy. Badania serologiczne zazwyczaj przeprowadzane są dwustopniowo. Najpierw oznacza się przeciwciała

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

w surowicy pacjentów metodami immunoenzymatycznymi półilościowymi (ELISA). Próbki, w których uzyskano dodatni wynik, poddaje się badaniu potwierdzającemu metodą western blot. W badaniach tych powinny zostać oznaczone przeciwciała klasy IgM (wczesne) i IgG (późne). U pacjentów z rumieniem wędrującym, u których jeszcze nie pojawiły się przeciwciała, wykonuje się reakcję łańcuchowej polimerazy (PCR). Materiał do badań pozyskuje się z bioptatów tkankowych. Swoistość metody wynosi 100%, a czułość sięga około 70%. Rozpoznanie boreliozy przysparza jednak często sporo trudności wynikających z uzyskania fałszywie dodatnich (reakcje krzyżowe z innymi krętkami, zakażenia wirusowe, choroby z autoagresji) i ujemnych wyników (zbyt wczesne wykonanie badania, obecność kompleksów immunologicznych, lokalna produkcja przeciwciał). Leczenie opiera się na antybiotykoterapii, która powinna trwać co najmniej 21 dni. Pacjenci z neuroboreliozą, zapaleniem mięśnia sercowego i zapaleniem stawów czasami wymagają podania leków drogą pozajelitową, najczęściej dożylną.

Inne czynniki infekcyjne wywołujące zakażenia OUN

Do innych patogenów będących przyczyną zakażenia OUN są takie bakterie jak *Chlamydia pneumoniae* czy *Mycoplasma pneumoniae*, jednak ich główny udział w patogenezie to zakażenia układu oddechowego (patrz rozdział IV).

Grzybicze zakażenia OUN

Candida albicans

Drożdżaki są organizmami eukariotycznymi, jednokomórkowymi, rozmnażającymi się przez pączkowanie lub przez podział. Głównym przedstawicielem drożdżaków z rodzaju *Candida* jest *Candida albicans*, gatunek, który wchodzi w skład flory fizjologicznej jamy ustnej, przewodu pokarmowego, dróg rodnych i skóry. W związku z tym zakażenie *Candida albicans* ma zazwyczaj charakter endogenny. Kandydoza może dotyczyć błon śluzowych, skóry – przybiera wówczas postać powierzchowną – może też być przyczyną kandydozy uogólnionej. Kandydoza uogólniona, inaczej układowa, może dotyczyć układu pokarmowego, krwionośnego, oddechowego czy OUN. Grzyby z rodzaju *Candida* mogą wytwarzać w OUN ropnie mózgu i ropnie rdzenia kręgowego. U dzieci najczęściej obserwuje się ZOMR. Odczyn oponowy może być przyczyną wodogłowia, które wymaga odbarczenia chirurgicznego. Do objawów zajęcia układu nerwowego przez drożdżaki z rodzaju *Candida* należą: powiększenie węzłów chłonnych, zapalenie mózgu, zapalenie naczyniówki i siatkówki, a także dysfunkcja centralnego układu nerwowego. Diagnostyka laboratoryjna obejmuje badanie mikroskopowe materiału pobranego od pacjenta oraz hodowlę na odpowiednim podłożu (podłoże Sabourauda). W leczeniu stosuje się leki przeciwgrzybicze.

Cryptococcus neoformans

Drożdżakiem należącym do rodzaju *Cryptococcus* jest *Cryptococcus neoformans*, będący czynnikiem etiologicznym kryptokokozy OUN. Do zakażenia układu nerwowego dochodzi drogą krwiopochodną. Najczęstszymi objawami są: bóle głowy, zaburzenia widzenia, depresja, pobudzenie, zaburzenia stanu psychicznego. Na tę postać kryptokokozy szczególnie narażeni są pacjenci zakażeni wirusem HIV. Obserwuje się u nich ZOMR, zapalenie mózgu i obrzęk mózgu. W trakcie rozwoju kryptokokozy dochodzi do zaniku korowego. W mózgu tworzą się charakterystyczne, tzw. bańki mydlane wypełnione komórkami pączkującego grzyba. Rozpoznanie kryptokokowego ZOMR obejmuje: badanie PMR (stężenie białka całowitego i leukocytów wzrasta z jednoczesnym obniżeniem stężenia glukozy), badanie histologiczne oraz serologiczne. Jednak najbardziej swoistym sposobem identyfikacji *Cryptococcus neoformans* jest hodowla. Leczenie zazwyczaj jest skojarzone i obejmuje podawanie dwóch leków przeciwgrzybiczych.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Wirusowe zakażenia OUN

Wirusowe ZOMR może być wynikiem zakażenia różnymi wirusami, zarówno DNA, jak i RNA. Wspólną cechą tych zakażeń jest nagły początek, bóle głowy, sztywność karku oraz wymioty. W wyniku zakażenia wirusowego może się także rozwinąć ostre zapalenie mózgu. Początkowo chorzy mają objawy podobne do tych, które występują w przypadku ZOMR, jednak później dołączają drgawki przechodzące w stan padaczkowy oraz wzmożone ciśnienie śródczaszkowe. Niektóre wirusy mogą w formie latentnej (uśpionej) pozostać w OUN i po reaktywacji powodować zakażenia podostre i przewlekłe. Do najważniejszych wirusów powodujących zakażenia OUN należą: wirus opryszczki typu I (*herpes simplex virus, type 1* – HSV-1), wirus ospy wietrznej i półpaśca (*varicella-zoster virus* – VZV), wirus cytomegalii, wirus Epsteina-Barr, wirus polio, wirus odry, wirus świnki, wirus wścieklizny, wirusy Coxsackie.

Wirusy DNA

Wirusy opryszczki ludzkiej należą do herpeswirusów. Człowiek jest jedynym rezerwuarem tego wirusa. Okres inkubacji wynosi średnio około 6–8 dni. Pierwotne zakażenie wirusem opryszczki zazwyczaj objawia się zapaleniem jamy ustnej i dziąseł z towarzyszącą wysoką gorączką. Opryszczkowe zmiany są bolesne, umiejscowione głównie na śluzówce policzków, podniebienia, języka i dziąseł. Zakażenie pierwotne może również manifestować się zapaleniem gardła i migdałków. Wirus opryszczki może być przyczyną ZOMR oraz opryszczkowego zapalenia mózgu. W obu przypadkach początek choroby jest nagły, z wysoką gorączką, bólem głowy, zaburzeniami świadomości i drgawkami. W PMR stwierdza się pleocytozę limfocytarną. Leczenie zazwyczaj ma charakter objawowy.

Wirus ospy wietrznej i półpaśca (VZV) należy do rodziny *Herpesviridae* i pierwotnie wywołuje ospę wietrzną, natomiast półpasiec jest wynikiem reaktywacji utajonego (latentnego) zakażenia tym wirusem. Po 14–21 dniach od zakażenia pojawia się charakterystyczna pęcherzykowa wysypka poprzedzona gorączką, pogorszeniem samopoczucia i bólami głowy. Pęcherzyki wypełnione są przejrzystym płynem, następnie wysychają, tworząc strupek. Powikłaniem zakażenia VZV może być ZOMR, zapalenie mózgu czy móżdżku (zazwyczaj u dzieci). Objawy neurologiczne obejmują ból głowy, zaburzenia świadomości i drgawki. W przypadku ZOMR dołączają typowe objawy oponowe. W przypadku zakażenia VZV stosuje się leczenie objawowe i leki przeciwwirusowe, np. acyklowir. Dostępna jest żywa szczepionka przeciwko ospie wietrznej.

Mononukleoza zakaźna to choroba wywoływana przez wirus Epsteina-Barr (EBV) z rodziny *Herpesviridae*. Wyróżnia się dwie postacie mononukleozy zakaźnej: ostrą, która charakteryzuje się wysoką gorączką, zapaleniem gardła i migdałków, powiększeniem węzłów chłonnych, powiększeniem wątroby i śledziony, oraz przewlekłą, będącą zespołem przewlekłego zmęczenia. Do powikłań neurologicznych zalicza się ZOMR i zapalenie mózgu, a także zapalenie rdzenia kręgowego. Leczenie mononukleozy zakaźnej jest głównie objawowe, polega na podawaniu leków przeciwgorączkowych i przeciwzapalnych, zaleca się także oszczędzający tryb życia.

Do grupy herpeswirusów zalicza się również wirus cytomegalii (*cytomegalovirus* – CMV). Zakażenie u pacjentów z prawidłową pracą układu immunologicznego rzadko objawia się klinicznie. Czasami zakażenie przybiera postać zespołu mononukleozopodobnego. U chorych z niedoborami odporności zakażenie CMV klinicznie może się manifestować jako zapalenie płuc, zapalenie siatkówki, zapalenie błony śluzowej przewodu pokarmowego, a także jako zakażenie OUN (ostre zapalenie mózgu – bóle głowy, zaburzenia koncentracji, zaburzenia świadomości, senność). Leczenie zazwyczaj polega na podaniu leków przeciwgorączkowych i przeciwbólowych, natomiast u pacjentów w stanie immunosupresji włącza się leki przeciwwirusowe.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Wirusy RNA

Wirus nagminnego zapalenia ślinianek przyusznych należy do paramiksowirusów i jest czynnikiem etiologicznym łagodnej choroby zakaźnej wieku dziecięcego – świnki. Do typowych objawów świnki należą gorączka i obrzęk ślinianek, jednak może być też przyczyną powikłań w postaci zapalenia jąder, jajników czy trzustki. W związku z tym, że wirus świnki ma charakter neurotropowy, powikłaniem może też być ZOMR i zapalenie mózgu. Zarówno ZOMR (wysoka gorączka), jak i zapalenie mózgu (bóle głowy i drgawki) wywołane wirusem świnki mają przebieg łagodny, a śmiertelność jest niska. Inne objawy, które mogą towarzyszyć zakażeniu wirusem świnki, to porażenie nerwów czaszkowych, twarzowych, ślepota i głuchota. Leczenie świnki ma charakter objawowy. W stanach zajęcia OUN w PMR stwierdza się zwiększoną pleocytozę, zazwyczaj jednojądrzastą, stężenie białka całkowitego jest prawidłowe lub nieznacznie podwyższone, a glukozy – prawidłowe lub lekko obniżone. Profilaktyka zakażenia wirusem świnki obejmuje szczepienie szczepionką skojarzoną MMR (measles – odra, mumps – świnka, i rubella – różyczka) według aktualnego kalendarza szczepień.

Czynnikiem etiologicznym nagminnego porażenia dziecięcego (choroba Heinego-Medina) jest wirus polio, należący do rodziny pikornawirusów. Choroba ta atakuje OUN, powodując zapalenie rdzenia kręgowego. Po okresie inkubacji, trwającym zwykle kilka dni, pojawiają się objawy nieswoiste, tj. bóle głowy, gardła, złe samopoczucie, podwyższona temperatura ciała. Po około 10 dniach dołączają objawy oponowe, ból głowy, pleców, karku, wymioty, senność naprzemienna z pobudzeniem. W tej fazie choroby obserwuje się porażenie wiotkie, głównie kończyn dolnych. Do objawów wskazujących na zajęcie OUN należą przede wszystkim zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego, z towarzyszącą czasem ataksją móżdżkową i porażeniem nerwu twarzowego. Poważnym powikłaniem prowadzącym do śmierci jest niewydolność oddechowa, będąca konsekwencją porażenia mięśni przeponowych. Rozpoznanie choroby opiera się zazwyczaj na obrazie klinicznym, wirusa można wyizolować ze stolca, rzadziej z krwi czy PMR. Płyn mózgowo-rdzeniowy wykazuje jednak pleocytozę i minimalnie podwyższone stężenie białka całkowitego. Leczenie ma charakter objawowy. Profilaktyka obejmuje obowiązkowe szczepienie ujęte w kalendarzu szczepień.

Do rodziny pikornawirusów grupy enterowirusów należą wirusy Coxsackie A i B. Zakażenia tymi wirusami najczęściej występują u dzieci i mogą przebiegać bezobjawowo oraz objawowo. Typowymi objawami zakażenia wirusami Coxsackie są zakażenia górnych dróg oddechowych, choroba gorączkowa, a także aseptyczne ZOMR i zapalenie mózgu, przy czym dla poszczególnych szczepów objawy mogą być różne. W przypadku zakażenia wirusem Coxsackie A są to biegunka, zapalenie opryszczkowe gardła (*herpangina*) oraz zespół dłoni, stóp i ust. Wirus Coxsackie B najczęściej jest odpowiedzialny za takie objawy kliniczne, jak zapalenie mięśnia sercowego, zapalenie osierdzia, wieloukładowa choroba noworodków (ZOMR, zapalenie mózgu, zapalenie mięśnia sercowego) oraz pleurodynia (zapalenie mięśni). Leczenie jest objawowe. Do enterowirusów należy też wirus ECHO (*enteric cytopathogenic human orphan*), będący czynnikiem etiologicznym aseptycznego ZOMR, porażenia wstępującego i zapalenia mózgu. Leczenie zazwyczaj jest objawowe, a ZOMR ustępuje samoistnie.

Wirus wścieklizny należy do rodziny rabdowirusów, zatem jest wirusem RNA powodującym typową zoonozę. Przenoszony jest zwykle z krwią z miejsca ugryzienia przez chore zwierzę i szerzy się w obrębie układu nerwowego. Objawy zwiastujące chorobę są nieswoiste, należą do nich bóle głowy, gorączka, niepokój i rozdrażnienie. Po kilku dniach pojawiają się ostre objawy neurologiczne pod dwiema postaciami: zapalenia mózgu (gorączka, pobudzenie, zaburzenia świadomości, nadmierne ślinienie się) i zespołu porażennego (osłabienie mięśni, porażenie wiotkie). Obie postacie wścieklizny mogą prowadzić do śpiączki i zgonu. Diagnostyka opiera się na objawach klinicznych u pacjentów ugryzionych przez chore zwierzę, a także na występowaniu zmian makroskopowych (obrzęk, przekrwienie mózgu i rdzenia kręgowego) i mikroskopowych (widoczne zmiany zapalne w rdzeniu kręgowym oraz obecność ciałek Negriego, które powstają w cytoplazmie neuronów). Niestety większość

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

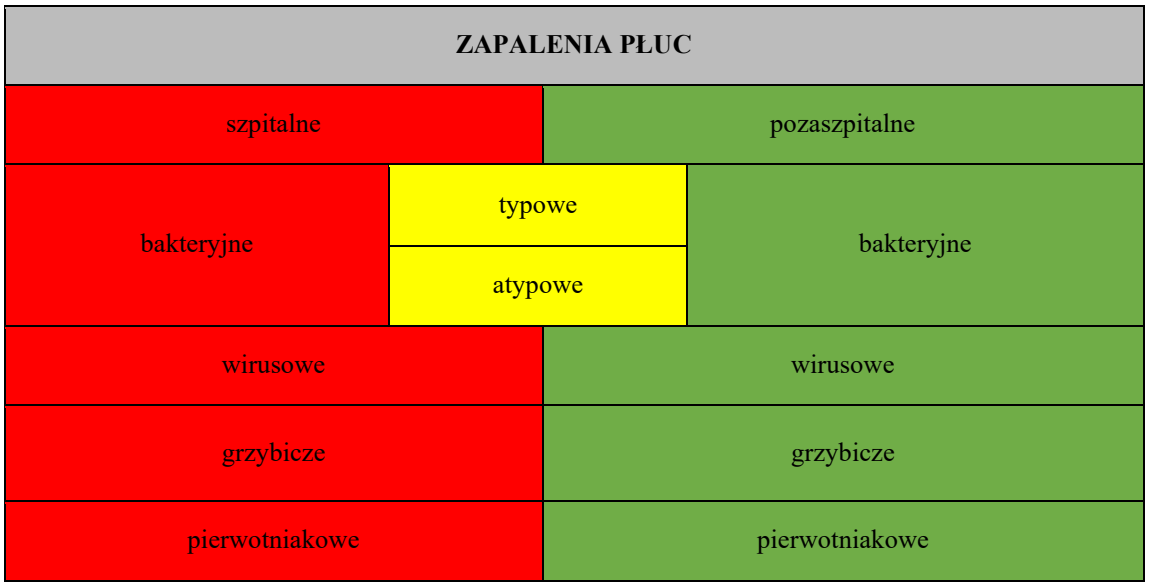
pacjentów, u których rozwinie się wścieklizna, umiera (brak leku). W celu zapobiegania i profilaktyki poekspozycyjnej należy dokładnie oczyścić ranę oraz podać szczepionkę według skróconego po-ekspozycyjnego schematu (liczba dawek i schemat szczepienia zgodnie z zaleceniami producenta szczepionki), a także surowicę zawierającą przeciwciała przeciwko wściekliźnie.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

IV. Zapalenia płuc

Szymon Płaczek, Mariusz Skiba

Zapalenie płuc najprościej można zdefiniować jako stan zapalny obejmujący pęcherzyki płucne lub tkankę śródmiąższową płuc. Jest to choroba powszechna, występująca w Polsce u około 1 na 100 osób rocznie.
W większości przypadków czynnikiem etiologicznym choroby są bakterie chorobotwórcze. Zapalenia płuc możemy dzielić z uwzględnieniem wielu różnych kryteriów. Biorąc pod uwagę aspekt epidemiologiczny, wyróżniamy zapalenia pozaszpitalne (dotyczą chorych niehospitalizowanych) oraz szpitalne (rozwijają się u chorych przebywających w szpitalu dłużej niż 48 godzin).
Ze względu na czynnik etiologiczny zapalenia płuc dzieli się na:
a) bakteryjne typowe i atypowe
b) wirusowe
c) grzybicze
d) pierwotniakowe (ryc. IV.1).



Ryc. IV.1. Podział zapaleń płuc z uwzględnieniem czynnika etiologicznego.
Źródło: opracowanie własne.

W celu ułatwienia rozpoznania etiologii zapaleń płuc wprowadzono rozróżnienie na **typowe** i **atypowe** zapalenie płuc, przyjmując, że typowe są najczęściej wywołane przez *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* i *Haemophilus influenzae*, natomiast atypowe mogą być wywołane przez *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* i *Legionella pneumophila*.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Kryteria definiujące pozaszpitalne zapalenia płuc (PZP):

- stwierdzenie objawów ostrego zakażenia dolnych dróg oddechowych, najczęściej jest to kaszel oraz więcej niż jeden inny objaw zakażenia dolnych dróg oddechowych, takich jak duszność, ból opłucnowy, krwioplucie;
- nowo zlokalizowane objawy w badaniu przedmiotowym klatki piersiowej;
- jeden lub więcej objawów ogólnoustrojowych, takich jak poty, dreszcze, ból mięśniowy lub temperatura ciała ≥ 38°C;
- brak innego wyjaśnienia stwierdzanych objawów.

Kryteria definiujące szpitalne zapalenia płuc (SZP):

- zapalenie, które wystąpiło po 48 godzinach od przyjęcia do szpitala u chorego niezaintubowanego w chwili przyjęcia.

Ocena stopnia ciężkości zapalenia płuc opiera się na stwierdzeniu głównych niekorzystnych czynników rokowniczych, takich jak:
- splątanie (*confussion*),
- częstotliwość oddechów ≥ 30/min (*respiratory rate*),
- ciśnienie tętnicze skurczowe < 90 mm Hg, rozkurczowe ≤ 60 mm Hg (*blood pressure*),
- wiek ≥ 65 lat.

Ze względu na stopień ciężkości PZP dzieli się na:
a) lekkie – nie występuje żaden z powyższych czynników
b) umiarkowane – występuje 1 lub 2 czynniki
c) ciężkie – występują 3 lub 4 czynniki.

Patogeneza zapaleń płuc

1. Mechanizmy zakażenia dolnych dróg oddechowych w PZP
   a) mikroaspiracja treści z górnych dróg oddechowych (najczęściej *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*)
   b) zachłyśnięcie treścią z jamy ustnej i górnych dróg oddechowych
   c) zakażenie wziewne (najczęściej *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, wirusy)
2. Mechanizmy zakażenia dolnych dróg oddechowych w SZP
   a) aspiracja z górnej części gardła
   b) przeciekanie zawierającej bakterie wydzieliny wokół rurki intubacyjnej

Czynniki ryzyka zapaleń płuc

1. Czynniki ryzyka dla PZP: podeszły wiek, palenie tytoniu, alkoholizm, choroby przewlekłe, leczenie immunosupresyjne, stany sprzyjające zachłyśnięciu, przebywanie w środowisku z narażeniem na pył, próchnica, niedożywienie.
2. Czynniki ryzyka dla SZP: kontakt ze sprzętem medycznym, przebyty zabieg operacyjny, antybiotykoterapia w przebiegu innej choroby.

Obraz kliniczny zapaleń płuc

Typowy obraz kliniczny zapaleń płuc obejmuje ostry początek z podwyższoną temperaturą ciała ≥ 38°C, dreszczami, potami, bólami w klatce piersiowej o charakterze opłucnowym, kaszlem, dusznością.
Badanie przedmiotowe wykazuje osłuchowe trzeszczenia, czasem szmer oskrzelowy, stłumienie wypuku i wzmożenie drżenia głosowego. Badania laboratoryjne wykazują szereg odchyleń od stanu prawidłowego, takich jak: wzrost stężenia CRP, leukocytoza, hipoksemia w badaniu gazometrycznym,

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

niskie wartości saturacji w badaniu pulsoksymetrem, wzrost stężenia prokalcytoniny w zakażeniach bakteryjnych.

Diagnostyka czynników etiologicznych

1. Posiew plwociny – plwocina jest zawiesiną komórek w śluzie z dolnych dróg oddechowych. Prawidłowo pobrana plwocina musi zawierać makrofagi płucne, komórki nabłonka płaskiego mniej niż 10 w polu widzenia. Nie może być zanieczyszczona śliną. Zalecane jest pobranie materiału przed antybiotykoterapią (tab. IV.1).
2. Posiewy krwi – w warunkach prawidłowych krew jest płynem ustrojowym jałowym. Ciężkie zakażenia, w tym zapalenia płuc, często przebiegają ze stałą lub czasową bakteriemią. Dlatego stwierdzenie we krwi drobnoustrojów chorobotwórczych u chorego z objawami zapalenia płuc najczęściej jest badaniem ustalającym czynnik etiologiczny. Krew do badania bakteriologicznego zawsze powinna być pobrana kilkukrotnie w odstępach czasu i zawsze posiana w warunkach tlenowych i beztlenowych. Zalecane jest pobieranie posiewów krwi przed włączeniem antybiotykoterapii.
3. Dostępne są testy immunologiczne wykrywające antygeny bakterii wirusów lub grzybów. Są to testy szybkiej diagnostyki, umożliwiające szybką identyfikację kilku najczęściej odpowiedzialnych za zapalenia płuc drobnoustrojów. Oznaczenia takie wykonuje się w próbce moczu. Testy są nieocenione zwłaszcza w diagnostyce zakażeń drobnoustrojami atypowymi i wykorzystują różne techniki immunologiczne. Wykazują obecność przeciwciał odpornościowych w odpowiednich klasach, a powtórzone w odstępach czasu pozwalają prześledzić dynamikę zmian miana tych przeciwciał. W kontekście diagnostyki PZP oznaczenie antygenu *Streptococcus pneumoniae* w moczu jest badaniem szczególnie zalecanym. Testy wykorzystują oznaczanie antygenów metodą immunochromatograficzną lub metodą aglutynacji lateksowej.
4. Pobranie aspiratu tchawiczego z rurki intubacyjnej na posiew.
5. Badanie popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL) pobranych podczas bronchoskopii do badań cytologicznych, immunologicznych i bakteriologicznych.

Tabela IV.1. Różnicowanie plwociny i śliny

Leukocyty	Komórki nabłonkowe	Flora bakteryjna	Klasyfikacja
< 10	> 25	różnorodna flora bakteryjna	ślina – nie kwalifikuje się do posiewu
> 25	nieobecne	jeden rodzaj komórek bakteryjnych	może świadczyć o istniejącej infekcji – materiał należy posiać
> 25	< 10	nieobecna	może sugerować obecność np. *Legionella* sp., *Mycoplasma* sp., *Mycobacterium* sp.
> 25	< 10	liczna, z wyraźnie widocznym dominującym organizmem	typowa plwocina – posiać
> 25	< 10	dominujący organizm w preparacie nie pokrywa się z ujemną hodowlą	czynnikiem etiologicznym zakażenia może być flora beztlenowa lub jest to skutek antybiotykoterapii

Najistotniejsze czynniki etiologiczne zapaleń płuc

1. Dla PZP najczęstszymi czynnikami etiologicznymi są:
   a) *Streptococcus pneumoniae*
   b) *Mycoplasma pneumoniae*
   c) *Chlamydia pneumoniae*

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

d) *Legionella pneumophila*
e) *Haemophilus influenzae*

2. Dla SZP: we wczesnym okresie (do 4 dni hospitalizacji) zapalenia najczęściej wywołują drobnoustroje takie jak w PZP. W późniejszym okresie, od 5 doby hospitalizacji, są to:
   a) *Pseudomonas aeruginosa*
   b) *Escherichia coli*
   c) *Klebsiella pneumoniae*
   d) *Staphylococcus aureus*.

Streptococcus pneumoniae – Pneumokokowe zapalenie płuc jest najczęstszą postacią bakteryjnego zapalenia płuc, stanowi około 80% wszystkich przypadków tej choroby. Znanych jest ponad 80 serotypów *Streptococcus pneumoniae*. Każdy z nich może wywołać zapalenie płuc, niemniej przyczyną znacznej części przypadków są szczepy reprezentujące tylko około 15 typów otoczkowych. Pneumokoki występują w górnych drogach oddechowych; szacuje się, że kolonizują około 30% populacji. Źródłem zakażenia w przypadku zapaleń płuc nie jest jednak flora endogenna, a drobnoustroje aspirowane z zakaźnym bioaerozolem.

Pneumokoki są ziarniakami Gram-dodatnimi, występują w postaci jajowatych i lancetowatych lub kulistych drobnoustrojów tworzących pary. Cechy wyróżniające to: brak zdolności do wytwarzania katalazy, są drobnoustrojami względnie tlenowymi, ale najlepiej rosną przy podwyższonym stężeniu dwutlenku węgla. *Streptococcus pneumoniae* wzrasta szybko na agarze z krwią, który zawiera katalazę i umożliwia wzrost pneumokoków w warunkach tlenowych. Na agarze z krwią drobnoustroje te wywołują hemolizę typu alfa, są wrażliwe na żółć i optochinę.

Najważniejszymi czynnikami zjadliwości, odpowiadającymi za potencjał do wywołania choroby oraz zdolność do rozprzestrzeniania zakażenia w tkankach, są:

- otoczka polisacharydowa – element komórki, który przede wszystkim spełnia rolę ochronną, ale posiada również zdolności antyfagocytarne; oznacza to, że bakterie dzięki otoczce mogą utrudniać makrofagom fagocytozę, a co za tym idzie znacznie osłabiają nieswoistą obronę immunologiczną przed zakażeniem; informacja genetyczna sterująca syntezą otoczki kodowana jest przez gen chromosomowy i może być przekazywana ze szczepów otoczkowych do nieotoczkowych w procesie transformacji; polisacharydowe otoczki są immunogenne, co wykorzystuje się do sporządzenia szczepionek przeciwpneumokokowych;
- proteaza IgA – IgA (immunoglobulina A) to przeciwciała wydzielane przez śluzówki układu oddechowego, ich rolą jest neutralizacja drobnoustrojów oraz ich opsonizacja; zaburzenie tych procesów skutkuje nieskuteczną nieswoistą obroną immunologiczną.

Diagnostyka mikrobiologiczna polega na namnożeniu drobnoustroju na podłożach sztucznych, identyfikacji i oznaczeniu lekowrażliwości. W identyfikacji pomocne są testy różnicujące pneumokoki od innych alfa-harmonizujących paciorkowców. Są nimi: test wrażliwości na optochinę, test rozpuszczalności w żółci oraz testy immunologiczne (reakcja pęcznienia otoczek).

Zapalenie płuc wywołane przez *Streptococcus pneumoniae* – Występuje u około 200 na 100 tys. osób rocznie. Do zakażenia dochodzi drogą mikroaspiracji. Charakteryzuje się gwałtownym początkiem (gorączka, dreszcze, *tachypnoë*, tachykardia). W badaniach laboratoryjnych najczęściej obserwuje się wzrost CRP i leukocytozy, rzadziej leukopenię (wówczas jest to czynnik pogarszający rokowanie). Badanie rentgenowskie (RTG) klatki piersiowej wykazuje zmiany naciekowe, u połowy pacjentów może występować płyn opłucnowy (ryc. IV.2). Diagnostyka plwociny jest mało przydatna ze względu na częste nosicielstwo *S. pneumoniae* w górnych drogach oddechowych.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Ryc. IV.2. Obraz radiologiczny zapalenia płuc wywołanego przez *Streptococcus pneumoniae.*
Źródło: Radiopaedia.org, https://radiopaedia.org/play/3541?lang=us (zdjęcie udostępnione na licencji Creative Commons Attribution-Non-commercial-Share Alike 3.0 Unported License).

Zapalenie płuc wywołane przez *Haemophilus influenzae* – Stanowi 5–10% przypadków PZP.
Zakażenie następuje drogą kropelkową oraz przez kontakt bezpośredni. Badanie plwociny jest mało przydatne ze względu na nosicielstwo drobnoustroju w górnych drogach oddechowych. Szczepy *H. influenzae* wytwarzają lub nie wytwarzają β-laktamaz. Coraz częściej izoluje się szczepy, które nie wytwarzają β-laktamaz, ale wykazują oporność na aminiopenicyliny (tzw. szczepy BLNAR – *β-lactamase-negative ampicillin resistant*).
Pozostałe bakterie wywołujące zapalenia płuc, choć znacznie rzadziej niż omówiony *Streptococcus pneumoniae*, to gronkowiec złocisty (*Staphylococcus aureus*) oraz inne ziarniaki Gram-dodatnie, a także Gram-ujemne takie jak *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae* czy *Pseudomonas aeruginosa*. Wszystkie te czynniki etiologiczne powodują zapalenia płuc o typowym obrazie klinicznym.

Pozostałe bakterie wywołujące zapalenia płuc

1. Zapalenie płuc wywołane przez *Staphylococcus aureus*

Ten czynnik etiologiczny wraz z jego morfologią, czynnikami zjadliwości i diagnostyką mikrobiologiczną szeroko omówiono w rozdziale VIII. Jest to zwykle zapalenie o ciężkim i bardzo ciężkim przebiegu. Zakażenie następuje przez mikroaspirację (cięższy przebieg) lub przez krew (zwykle łagodniejszy przebieg). W RTG klatki piersiowej obserwuje się obraz mikroropni i ropni mnogich w miąższu płucnym. Badanie plwociny i posiewy krwi są najbardziej przydatnymi metodami diagnostycznymi tego zapalenia.

2. Zapalenie płuc wywołane przez beztlenowce

Bakterie beztlenowe stanowią fizjologiczną florę jamy ustnej. Najczęściej hoduje się bakterie beztlenowe Gram-ujemne: *Fusobacterium*, *Prevotella* i *Bacteroides*, oraz Gram dodatnie: *Peptostreptococcus*, *Peptococcus* i *Clostridium*. Do zakażenia dochodzi poprzez zachłyśnięcie w mechanizmie wolnym, stopniowym (u pacjentów przewlekle leżących, z dysfunkcją połykania, chorobami nerwowo-mięśniowymi itp.) lub mechanizmie szybkiego zachłystu (napad padaczkowy, upojenie alkoholowe, uraz itp.). Przebieg łagodniejszy obserwuje się u osób z powolnym mechanizmem zachłystu, przebieg ostry dynamiczny – u pacjentów po gwałtownym zachłyśnięciu w mechanizmie szybkim. U połowy pacjentów plwocina ma gnilny zapach. Zmiany radiologiczne również mogą sugerować mechanizm zachłyśnięcia (dla zachłystu szybkiego najczęstsza lokalizacja zmian to płat dolny prawego płuca; zachłyst wolny u pacjentów najczęściej przewlekle leżących lokalizuje się w segmentach tylnych płatów górnych obu płuc). Po zachłyśnięciu w mechanizmie szybkim konieczne jest powtórzenie RTG klatki

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

piersiowej po 24 godzinach od pierwszego badania, które mogło nie wykazywać jeszcze żadnych zmian. W każdym przypadku zachłystowego zapalenia płuc należy wykonać bronchofiberoskopię.

Atypowe zapalenia płuc

Atypowe czynniki etiologiczne to takie, które wywołują zapalenia płuc o nietypowym obrazie klinicznym. Początkowo za tę grupę zapaleń uważano zapalenia spowodowane infekcją wirusową, dzisiaj stanowiące odrębną grupę. Obecnie jednak wiadomo, że czynnikami etiologicznymi tej grupy zapaleń są drobnoustroje powodujące infekcje przebiegające w różny sposób zarówno klinicznie, jak i radiologicznie, w których klasyczne objawy zapalenia płuc są zazwyczaj słabiej wyrażone, a nawet nieobecne. Choroba w takich przypadkach rozwija się wolniej, przebiega z niższą gorączką, a pojawiający się kaszel jest na ogół suchy i nieproduktywny. Zatem „atypowe zapalenia płuc" to grupa zapaleń wywołanych przez specyficzne patogeny, do których należą: *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetii* oraz *Francisella tularensis* (tab. IV.2).

Mycoplasma pneumoniae to drobnoustrój atypowy również morfologicznie – nie posiada ściany komórkowej. Jest to czynnik, który sprawia, że z jednej strony *M. pneumoniae* jest wyjątkowo wrażliwa na wysychanie, z drugiej całkowicie niewrażliwa na antybiotyki β-laktamowe, a to właśnie ta grupa antybiotyków stanowi grupę leków pierwszego wyboru w zapaleniach płuc. Brak ściany komórkowej powoduje, że drobnoustroje te wyróżnia pleomorfizm, są także najmniejszymi drobnoustrojami zdolnymi do samodzielnego życia, posiadają zdolność do ruchu. Z punktu widzenia mikrobiologii lekarskiej najważniejsze są jednak czynniki wirulencji, które w bezpośredni sposób warunkują ich chorobotwórczość. Należą do nich:

- posiadanie adhezyn ułatwiających im przyleganie do komórek infekowanych tkanek, głównie nabłonka oddechowego,
- zdolność do uwalniania toksycznych metabolitów uszkadzających komórki, głównie reaktywnych form tlenu,
- nitkowate formy i zdolność do ruchu umożliwiają im wślizgiwanie się w obręb rąbka szczoteczkowego, co uszkadza jeden z podstawowych mechanizmów nieswoistej odporności w układzie oddechowym, zaburzając efektywność obronnego odruchu kaszlowego.

Mykoplazmy są auksotrofami, zatem do wzrostu wymagają wielu czynników, takich jak kwasy tłuszczowe, sterole, puryny i pirymidyny.

Mykoplazmatyczne PZP jest drugim co do częstości zapaleniem po pneumokokowym zapaleniu płuc. Co ważne, w tym rodzaju zakażenia nie obserwuje się sezonowości, co odróżnia je od innych zapaleń płuc. Powoduje to, że w okresach letnich ten rodzaj zapalenia płuc dominuje. Mykoplazmatyczne zapalenie płuc charakteryzuje się długim czasem inkubacji, wynoszącym nawet 2–3 tygodnie. Epidemiologicznie często pojawia się w społecznościach zamkniętych, takich jak szkoły, przedszkola, domy opieki czy koszary. Przebieg mykoplazmatycznego zapalenia zazwyczaj jest łagodny lub subkliniczny. Większość pacjentów nie wymaga hospitalizacji, stąd określenie *walking pneumonia*. Charakterystyczny jest suchy nieproduktywny napadowy kaszel, szczególnie nasilający się nocą. Obserwuje się dużą dysproporcję pomiędzy objawami klinicznymi, zarówno przedmiotowymi, jak i podmiotowymi, a obrazem radiologicznym klatki piersiowej, w którym zmiany są nasilone.

Diagnostyka mykoplazmatycznego zapalenia płuc polega na:

- oznaczeniu poziomu swoistych przeciwciał w surowicy chorych; badanie to stanowi absolutną podstawę rutynowej diagnostyki; w tym celu stosuje się różne techniki immunologiczne, takie jak immunofluorescencja czy ELISA;
- hodowla – z uwagi na biologię drobnoustrojów oraz trudności laboratoryjne w namnażaniu i izolacji – nie ma istotnego znaczenia.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Należy pamiętać, że po przebyciu mykoplazmatycznego zapalenia płuc przeciwciała odpornościowe będą obecne w surowicy chorego nawet 3–5 lat.

Chlamydia pneumoniae jest bezwzględnym pasożytem wewnątrzkomórkowym; ta cecha cytofizjologiczna uzasadnia jej „atypowość". Stanowi to implikację o dużym znaczeniu diagnostycznym, bowiem *Ch. pneumoniae* nie rośnie na podłożach sztucznych; do namnażania wymagane są hodowle komórkowe lub zarodki ptasie. Drobnoustrój ten posiada własny cykl rozwojowy. Cząstką zakaźną jest nieaktywne metabolicznie ciałko elementarne. To ono po wniknięciu do komórki przekształca się w ciałko początkowe, a następnie ciałko siatkowate, które z kolei intensywnie dzieli się, tworząc nowe ciałka elementarne. Cały proces uszkadza komórkę gospodarza, powodując lizę i uwolnienie z komórki licznych ciałek elementarnych zdolnych do zakażania kolejnych komórek. Dla drobnoustrojów tych nie jest znany rezerwuar zwierzęcy, zakażają więc tylko ludzi.
Chlamydiowe zapalenie płuc może mieć charakter sporadyczny lub epidemiczny. W okresach poza epidemią statystycznie ten rodzaj atypowego PZP stanowi około 10% zapaleń. Podobnie jak w przypadku mykoplazmatycznego zapalenia płuc okres inkubacji jest długi, wynosi około 2–4 tygodni. Początek infekcji może przebiegać w sposób podostry lub dwufazowy. Najpierw pojawiają się objawy nieżytu górnych dróg oddechowych z bólem gardła, niewysoką gorączką i rozbiciem oraz nie produktywnym kaszlem mogącym się utrzymywać tygodniami. Po tym okresie rozwija się pełna symptomatyka zakażenia dolnych dróg oddechowych z organizacją zapalenia w oskrzelach i miąższu płuc. Nasilenie zmian radiologicznych może być różne – od niewielkich zmian okołooskrzelowych, do płatowych zapaleń z wysiękiem opłucnowym; nasilenie tych zmian w jednoznaczny sposób wpływa na ciężkość przebiegu zapalenia. Złotym standardem w diagnostyce chlamydiowego zapalenia płuc jest test mikroimmunofluorescencji, który służy do wykrywania swoistych przeciwciał odpornościowych w poszczególnych klasach. W tym samym celu z powodzeniem może być używany test ELISA. Możliwa jest hodowla na liniach komórkowych, jednak metody tej nie wykorzystuje się w rutynowej diagnostyce.

Legionella spp. są drobnoustrojami atypowymi o pałeczkowatym kształcie i zdolnymi do ruchu dzięki obecności rzęsek umieszczonych na jednym z biegunów. Dotychczas opisano blisko 50 gatunków i łącznie 70 serotypów pałeczek z rodzaju *Legionella*. Najczęściej izolowany jest gatunek *Legionella pneumophila*, posiadający 15 serotypów. Jednym z głównych czynników zjadliwości dla tych drobnoustrojów jest zdolność do wytwarzania β-laktamazy, co podobnie jak w przypadku mykoplazm czyni je niewrażliwymi na działanie antybiotyków należących do β-laktamów. Oporność drobnoustrojów na działanie antybiotyków z tej podstawowej grupy leków wykorzystywanych w leczeniu zapaleń płuc związana jest także z ich wewnątrzkomórkowym bytowaniem, a więc środowiskiem, do którego nie przenikają penicyliny i cefalosporyny w dostatecznym stężeniu. Drobnoustroje te są szeroko rozpowszechnione w naturalnym biofilmie zbiorników wodnych. Z dużą łatwością kolonizują sieć wodociągową, co jest szczególnie istotne w szpitalach, gabinetach stomatologicznych czy systemach klimatyzacyjnych. Źródłem zakażenia jest zatem woda i powstający z niej bioaerozol. Największe zagrożenie stanowią cząstki wody o średnicy 2–5 mikrometrów, które penetrują w głąb drzewa oskrzelowego. Do zakażenia dochodzi wówczas, gdy makrofagi płucne sfagocytują drobnoustroje. Wytworzony w makrofagach fagosom nie ulega połączeniu z lizosomem, co stanowi krytyczny czynnik umożliwiający namnażanie się pochłoniętych drobnoustrojów wewnątrz makrofagów. W konsekwencji dochodzi do rozpadu makrofagów z uwolnieniem namnożonych bakterii. Te z kolei zakażają kolejne komórki. Zapalenie płuc, czyli tzw. choroba legionistów, rozwija się w ciągu 2–10 dni, zatem szybciej niż pozostałe atypowe zapalenia. Jest to zapalenie o ciężkim przebiegu, z nasilonymi objawami ogólnymi, wysoką gorączką (do 40°C), suchym, męczącym kaszlem i dość charakterystycznym bólem opłucnowym. Wynika to z organizacji zmian zapalnych w miąższu płuc i odczynu opłucnowego przebiegającego z wysiękiem wolnego płynu do jam opłucnych. Ponadto chorobie legionistów towa-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

rzyszą szybkie istotne uszkodzenie wątroby, nerek, a także odwodnienia z zaburzeniami elektrolitowymi. Zmiany zapalne w płucach mają charakter wieloogniskowy i nekrotyzujący. Ciężki przebieg zakażenia implikuje podwyższony odsetek śmiertelności chorych.
W diagnostyce zakażeń *Legionella* spp. stosuje się podłoża specjalne do namnażania i hodowli. Podłoża zapewniają niezbędne do wzrostu żelazo, cysteinę, zawierają też antybiotyki hamujące wzrost flory towarzyszącej. Należy podkreślić, że hodowla tych drobnoustrojów z materiałów biologicznych, takich jak plwocina, krew czy płyn z opłucnej, jest bardzo trudna. Znacznie łatwiej wyhodować bakterie *Legionella* z aspiratów tkankowych oraz BAL.
W celu identyfikacji gatunkowej i serologicznej zastosowanie ma szereg metod immunologicznych, takich jak odczyn immunofluorescencji wykrywający drobnoustroje w plwocinie i innych materiałach pochodzących z dróg oddechowych, wykrywanie przeciwciał odpornościowych w surowicy, np. metodą ELISA (ograniczone znaczenie diagnostyczne) czy wykrywanie rozpuszczalnych antygenów *Legionella pneumophila* w moczu metodą ELISA. Należy pamiętać, że jest to możliwe tylko przed wprowadzeniem antybiotykoterapii.

Zapalenie płuc wywołane przez wirus SARS-CoV-2 i inne wirusy oddechowe

Zapalenie płuc wywołane przez SARS-CoV-2 zwykle ma gwałtowny przebieg z gorączką, kaszlem i desaturacją, może też prowadzić do szybko postępującej niewydolności oddechowej wymagającej tlenoterapii wysokoprzepływowej (HFNOT – *high-flow nasal oxygen therapy*, wysokoprzepływowa tlenoterapia donosowa) lub wentylacji inwazyjnej w warunkach oddziału intensywnej terapii. Zmiany radiologiczne są obustronne, najczęściej bardzo rozległe (obszary matowej szyby z tendencją do konsolidacji; zmiany często obejmują 80–90% obszaru płuc) i nie zawsze korelują z przebiegiem klinicznym zachorowania (skąpe objawy kliniczne przy dużej rozległości zmian radiologicznych). Rozpoznanie infekcji opiera się na wykonaniu szybkich testów antygenowych i/lub testów PCR. U około 25% pacjentów w późnej obserwacji po zakażeniu obserwuje się przetrwałe upośledzenie czynności płuc.

Zapalenie płuc wywołane przez wirusa grypy A lub B jest chorobą infekcyjną rzadko spotykaną u osób bez wcześniejszych predyspozycji znacznie upośledzających sprawność układu odporności. Do predyspozycji takich należy zaliczyć: przewlekłe schorzenia układu oddechowego (przewlekła obturacyjna choroba płuc), wady układu sercowo-naczyniowego, choroby metaboliczne (cukrzyca, niewydolność nerek, metaboliczna niewydolność wątroby), podeszły wiek, choroba nowotworowa czy leczenie immunosupresyjne. Choroba w takim wypadku objawia się ostrymi objawami infekcji ze strony górnych i dolnych dróg oddechowych z tendencją do wystąpienia objawów niewydolności oddechowej spowodowanej rozlanymi miąższowymi zmianami zapalnymi obu płuc. Czynnikiem etiologicznym jest wirus grypy A lub B – wirusy należące do ortomiksowirusów. W skład genomu wchodzi kwas RNA o ujemnej polarności. Otoczony jest osłonką składającą się z dwóch warstw lipidów z wbudowanymi cząstkami hemaglutyniny (H) i neuraminidazy (N). Hemaglutynina jest częścią wirionu przyłączającą się do odpowiedniego receptora na wrażliwej komórce. Cząstki H i N są immunogenne. Ich odmienności antyhenowe umożliwiają serotypowanie wirusa. Najczęstsze szczepy odpowiedzialne za epidemię grypy w ciągu ostatnich lat to H2N2, H3N2 i H1N1. Rozpoznanie opiera się głównie na objawach klinicznych, okolicznościach epidemiologicznych, jak również na wykonaniu testów immunologicznych i/lub molekularnych potwierdzających zakażenie. Leczenie jest przede wszystkim objawowe, w przypadku pojawienia się objawów niewydolności oddechowej konieczne jest leczenie wspomagające oddech. Możliwe jest również zastosowanie leków przeciwwirusowych, takich jak oseltamiwir lub zanamiwir. Ponadto rekomendowana jest immunoprofilaktyka szczepionkami uaktualnianymi sezonowo.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Zapalenie płuc wywołane przez syncytialny wirus oddechowy RS – jest to zakażenie dolnych dróg oddechowych, które pojawia się po zakażeniu drogą kropelkową, po około 5 dniach okresu wylęgania. Zapalenie spotyka się głównie u dzieci. Ma charakter śródmiąższowego zapalenia płuc, często prowadzącego do niewydolności oddechowej lub powikłań w postaci zapalenia mięśnia sercowego lub ucha środkowego. Diagnostyka opiera się na testach serologicznych (*enzyme immunoassay* – EIA).

Tabela IV.2. Kryteria różnicujące typowe i atypowe zapalenia płuc z wyjątkiem legionellozy

Objaw	**Zapalenie typowe**	**Zapalenie atypowe**
Początek choroby	ostry	podostry
Dreszcze	często	rzadko
Gorączka	wysoka	mierna
Tachykardia	często	rzadko
Tachypnoë	często	rzadko
RTG płuc	zmiany naciekowe, okołooskrzelowe, płatowe	zmiany siateczkowo-guzkowe, niedodma płytkowa, powiększenie węzłów chłonnych wnęk
Płyn w opłucnej	często	rzadko
Leukocytoza	znaczna	nieznaczna

Leczenie zapaleń płuc

W tabelach IV.3 i IV.4 przedstawiono rekomendacje farmakoterapii typowych i atypowych zapaleń płuc na podstawie wytycznych pulmonologicznych grup roboczych. Należy pamiętać, że rozpoczęcie leczenia zawsze ma charakter antybiotykoterapii empirycznej, modyfikowanej następnie na podstawie danych z badań mikrobiologicznych.

Tabela IV.3. Początkowe leczenie pozaszpitalnego zapalenia płuc (opracowanie własne na podstawie aktualnych wytycznych pulmonologicznych)

<table>
<tr><th colspan="3">Pozaszpitalne zapalenie płuc</th></tr>
<tr><th colspan="2">niecięższe</th><th>cięższe</th></tr>
<tr><th>pacjenci
ambulatoryjni</th><th>pacjenci
szpitalni</th><th>pacjenci
szpitalni</th></tr>
<tr><td>bez chorób współistniejących:
amoksycylina
(lek pierwszego wyboru),
makrolid
(lek alternatywny)</td><td>hospitalizowani z przyczyn niemedycznych lub nieleczeni antybiotykiem przed przyjęciem:
leczenie jak u pacjentów ambulatoryjnych</td><td rowspan="2">β-laktam + makrolid
lub alternatywnie
β-laktam + fluorochinolon
oddechowy</td></tr>
<tr><td>z chorobami współistniejącymi:
amoksycylina z kwasem klawulanowym lub cefalosporyna + makrolid</td><td>pozostali:
β-laktam + makrolid lub fluorochinolon oddechowy</td></tr>
</table>

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela IV.4. Antybiotykoterapia w zależności od czynnika etiologicznego

Drobnoustrój	**Leczenie pierwszego wyboru**
Streptococcus pneumoniae	amoksycylina p.o. lub penicylina benzylowa i.v.
Haemophilus influenzae niewytwarzający β-laktamaz wytwarzający β-laktamazy	 amoksycylina p.o. lub ampicylina i.v. amoksycylina z kwasem klawulanowym p.o. lub i.v.
Mycoplasma pneumoniae	makrolid p.o.
Staphylococcus aureus metycylinowrażliwy (MSSA) metycylinooporny (MRSA)	 kloksacylina i.v. wankomycyna i.v.
Beztlenowce	amoksycylina z kwasem klawulanowym i.v.
Legionella pneumophila	lewofloksacyna

Powikłania zapaleń płuc

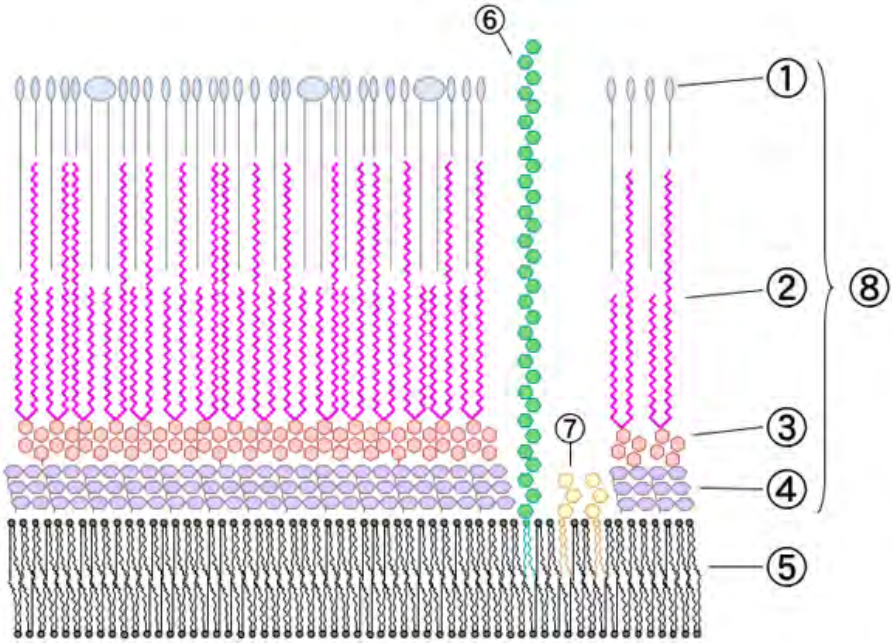
- Wysięk w jamie opłucnej – dotyczy 20–60% chorych z PZP. Niezakażony ustępuje w trakcie odpowiedniego leczenia zapalenia. W przypadku zakażenia dochodzi do jego zmętnienia, staje się bogaty w leukocyty i włóknik, tworzy obraz ropniaka opłucnej wymagającego drenażu jamy opłucnowej w warunkach oddziału szpitalnego.
- Ropień płuca – zbiornik ropy w miąższu płuca. W badaniu radiologicznym klatki piersiowej obraz jamy z poziomem płynu w środku. W leczeniu stosuje się antybiotyk β-laktamowy z inhibitorem β-laktamaz (np. amoksycylina z kwasem klawulanowym i.v. przez 4–6 tygodni) lub połączenie metronidazolu z penicyliną.
- Ostra i przewlekła niewydolność oddechowa.
- Trwała destrukcja miąższu płucnego (zwłóknienia pozapalne, rozstrzenie oskrzeli).

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

V. Gruźlica

Mariusz Skiba

Do rodzaju *Mycobacterium* zaliczonych jest 28 gatunków, z czego część to drobnoustroje niechorobotwórcze. Wśród drobnoustrojów chorobotwórczych wyróżnia się tzw. grupę *Mycobacterium tuberculosis complex* oraz prątki niegruźlicze MOTT (*Mycobacterium other than tuberculosis*). Prątki są drobnoustrojami szeroko rozpowszechnionymi w środowisku. Pod względem morfologicznym są krótkimi cylindrycznymi drobnoustrojami bez zdolności do ruchu, nieprzetrwalnikującymi. Cechą wyróżniającą prątki jest kwasooporność, która wynika ze specyficznej budowy ściany komórkowej (ryc. V.1).



Ryc. V.1. Budowa ściany komórkowej prątka. 1 – zewnętrzna błona lipidowa; 2 – kwas mikolowy; 3 – polisachary-dy (arabinogalaktan); 4 – peptydoglikan; 5 – błona plazmatyczna; 6 – lipoarabinomannan (LAM); 7 – fosfatydy-loinozytol; 8 – szkielet ściany komórkowej.
Źródło: Wikimedia commons Permission details GFDL, CC-by-SA2.5, 2.0, 1.0 https://en.wikipedia.org/wiki/File:Mycobacterial_cell_wall_diagram.png.

Budowa ściany komórkowej determinuje zjadliwość drobnoustrojów, ale też czyni je wysoce odpornymi na niesprzyjające warunki środowiskowe, takie jak wysychanie, zmiany temperatury czy środki dezynfekcyjne. Prątki są drobnoustrojami tlenowymi, co sprawia, że ognisk zakażeń prątkami będziemy poszukiwać w tkankach dobrze ukrwionych i ultenowanych. Kolejną cechą wyróżniającą te drobnoustroje spośród innych jest ich niezwykle powolny wzrost. Większość bakterii dzieli się w interwale kilku, kilkunastu minut, prątki natomiast dzielą się na dwie komórki potomne średnio raz na dobę.
W diagnostyce mikrobiologicznej cechą wyróżniającą te drobnoustroje jest kwasooporność. Wszystkie prątki można podzielić na saprofityczne (nie wywołują zakażenia) oraz chorobotwórcze. Prątki

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

chorobotwórcze z kolei dzielimy na prątki odpowiedzialne za wywoływanie objawów gruźlicy – *Mycobacterium tuberculosis complex*, oraz prątki nie gruźlicze, odpowiedzialne za zakażenia zwane mykobakteriozami.

Do tzw. grupy prątka gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis comlex*) zalicza się: *Mycobacterium* (*M.*) *tuberculosis*, *M. bovis*, w tym szczep BCG (Bacillus Calmette-Guérin) i *M. africanum*.

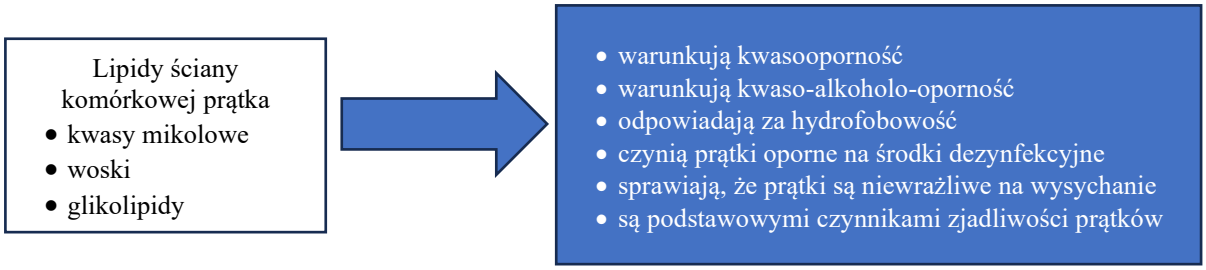
Prątki niegruźlicze (MOTT) ze względu na szybkość wzrostu i morfologię kolonii podzielono na cztery grupy:

1) fotochromogenne – wzrastające powoli w ciągu 2–10 tygodni na podłożach sztucznych, pod wpływem światła wytwarzające barwnik; do grupy tej należą *M. kansasii*, *M. marinum*;
2) skotochromogenne – produkujące barwnik w obecności lub nieobecności światła; przedstawicielami są *M. flevescens*, *M. gordonae*;
3) niefotochromogenne – nie wytwarzające barwników; wśród przedstawicieli tej grupy są *M. avium*, *M. intracellulare*;
4) szybko rosnące – wzrastają na podłożach bakteriologicznych w ciągu kilku dni; przedstawiciele to *M. fortuitum*, *M. smegmatis*.

Specyficzna budowa ściany komórkowej prątków determinuje interakcje między nimi a komórkami infekowanych tkanek. Prątki posiadają unikalną ścianę komórkową, co jest wynikiem wysokiej zawartości związków lipidowych. Zewnętrzna część ściany komórkowej *Mycobacterium* zbudowana jest głównie ze specyficznych w obrębie gatunku i szczepu złożonych związków tłuszczowych. Na związki te składają się: glikolipidy, glikopeptydy, lipooligosacharydy, woski, fosfolipidy i in. Część lipidów zewnętrznej warstwy ściany komórkowej to związki silnie pobudzające układ immunologiczny. Wśród czynników chorobotwórczości tych drobnoustrojów wymienia się także tzw. czynnik wiązkowy, kwasy mikolowe, dipeptyd muramylowy i sulfatydy. Czynniki te zaburzają proces fagocytozy, umożliwiają wewnątrzkomórkowe przeżycie i wzrost prątków w komórkach gospodarza, jak również indukują odpowiedź komórkową i powstawanie ziarniniaków gruźliczych w płucach (ryc. V.2).

Chorobotwórczość grupy prątka gruźlicy

Gruźlica jest chorobą zakaźną, stanowiącą jedną z głównych przyczyn chorobowości i śmiertelności. Dane szacunkowe pokazują, że co najmniej 30% ludności na świecie jest zakażonych prątkiem gruźlicy. Co roku na gruźlicę zapada około 10 milionów osób, a umiera z jej powodu około 3 milionów. Gruźlicę wywołują prątki kwasooporne z grupy *Mycobacterium tuberculosis complex*. Jest chorobą przenoszoną z człowieka na człowieka drogą kropelkową; źródłem prątków gruźlicy jest chory wydalający prątki podczas oddychania, kaszlu czy mówienia. Znajdujące się w aerozolu oddechowym prątki są inhalowane do dróg oddechowych, pęcherzyków płucnych, a tam są fagocytowane przez makrofagi pęcherzykowe. Ryzyko zakażenia zależy od ekspozycji. Jeżeli we wdychanym aerozolu jest nieznaczna liczba prątków, mogą być unieszkodliwione przez mechanizmy nieswoistej odpowiedzi immunologicznej. Przy dużej liczbie prątków mechanizmy te mogą być niewydolne i prątki przez 2–3 tygodnie namnażają się wewnątrzkomórkowo.



Ryc. V.2. Znaczenie lipidów ściany komórkowej prątków.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Część makrofagów ginie. Prątki są uwalniane z zabitych komórek żernych i wydostają się z nich, ulegając fagocytozie przez kolejne komórki żerne i monocyty. Prątki mnożą się swobodnie we wnętrzu monocytów, rozwija się lokalny odczyn zapalny i formuje charakterystyczna zapalna ziarnina, której elementem budującym jest tzw. gruzełek. Gruzełki zbudowane są ze skupisk makrofagów, przekształcających się w komórki nabłonkowate i komórki olbrzymie Langerhansa. W ten sposób w zajętej tkance organizuje się martwica serowata. Niektóre epitopy prątka łączą się na powierzchni makrofagów z antygenami MHC (*major histocompatibility complex*) klasy I i są prezentowane swoistym limfocytom Th1 CD4+. Rozpoczyna się aktywna swoista odpowiedź immunologiczna typu komórkowego z udziałem limfocytów Th1 CD4+. Kooperacja tych komórek z makrofagami stanowi podstawowy mechanizm odporności w gruźlicy. Limfocyty Th1 wydzielają liczne cytokiny, m.in. interferon gamma (IFN-γ) aktywujący makrofagi poprzez zwielokrotnienie ich mechanizmów bakteriobójczych w stosunku do prątków oraz interleukinę 2 (IL-2) będącą czynnikiem wzrostu dla komórek T. Jeżeli wszystkie mechanizmy odpowiedzi immunologicznej działają sprawnie, zmiany samoograniczają się i goją samoistnie najpierw przez włóknienie, następnie uwapnienie; w ten sposób w tkance płucnej powstaje ognisko pierwotne (Ghona). U osób z zaburzonymi mechanizmami odpowiedzi komórkowej dochodzi do tak zwanego upłynnienia ognisk martwicy serowatej, niepohamowanego namnażania się prątków, uogólniania się zakażenia drogami chłonnymi i krwionośnymi. W ten sposób prątki docierają do wielu wrażliwych tkanek, również poza płucami. Makrofagi paradoksalnie mogą na wiele lat być rezerwuarem żywych, zdolnych do inwazji prątków w organizmie człowieka, nawet po wielu latach dając początek gruźlicy płuc lub pozapłucnej. Załamanie układu odporności może być przyczyną reaktywacji zakażenia zajętych tkanek.

Obraz kliniczny

Podczas zakażenia prątkiem gruźlicy poza objawami ściśle związanymi z lokalizacją zakażenia należy wyróżnić objawy ogólnoustrojowe. Do objawów tych zalicza się podwyższoną temperaturę ciała, utratę apetytu, utratę masy ciała, nocne poty, ogólne osłabienie.

Klinicznie gruźlicę dzielimy na gruźlicę pierwotną i gruźlicę popierwotną. Zakażenie prątkiem gruźlicy osoby, która nigdy wcześniej się z nim nie zetknęła, nosi nazwę zakażenia pierwotnego. U większości osób przebiega bezobjawowo. Po 4–8 tygodniach od zakażenia pojawia się dodatni odczyn tuberkulinowy. Niedostateczne mechanizmy obronne umożliwiają miejscowe namnożenie się prątków i powstanie niewielkiego nacieku zapalnego, zwykle powiększone są węzły chłonne przy tchawicy i wnęki płuca. Zmiana najczęściej ulega samowyleczeniu, pozostawiając ślad w postaci zwapnienia w miejscu istniejącego nacieku. Taka zmiana nosi nazwę zespołu pierwotnego. U części chorych w czasie zakażenia pierwotnego prątki gruźlicy za pośrednictwem naczyń chłonnych przedostają się do krwi, docierając do wszystkich narządów. Rozsiew przez krew jest najczęściej bezobjawowy, jednak w niektórych tkankach prątki mogą przetrwać w stanie zahamowanego metabolizmu przez wiele lat życia człowieka. W stanach upośledzonej odporności gospodarza prątki mogą namnożyć się ponownie, dając początek gruźlicy popierwotnej.

Postacie kliniczne gruźlicy

Ze względu na postacie kliniczne i lokalizację zakażenia można wyróżnić gruźlicę płuc i opłucnej oraz gruźlicę pozapłucną. Najczęstszym objawem gruźlicy płuc jest trwający dłużej niż 3 tygodnie kaszel, początkowo suchy, potem wilgotny z wykrztuszaniem zapalnej wydzieliny, niekiedy występuje krwioplucie. Duszność jest objawem, który pojawia się w zaawansowanych postaciach gruźlicy. W radiogramach klatki piersiowej w gruźlicy pierwotnej występują zmiany o charakterze zagęszczeń w środkowych i dolnych polach płucnych z powiększeniem węzłów chłonnych wnęk. W gruźlicy popierwotnej zagęszczenia pojawiają się głównie w segmentach szczytowych płuc. Najczęstszą postacią

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

gruźlicy popierwotnej jest gruźlica naciekowa. W formach zaawansowanych często tworzą się jamy, co jest charakterystyczne dla gruźlicy włóknisto-jamistej. Niekiedy zmiany naciekowe mogą przybierać postać cieni okrągłych z tworzeniem tzw. gruźliczaków (*tuberculoma*).
Najczęstsze postacie gruźlicy płuc to:

- gruźlicze serowate zapalenie płuc,
- gruźlica płuc włóknisto-jamista,
- gruźlica prosówkowa.

Gruźlica prosówkowa jest wynikiem rozsiewu prątków przez krew i daje obraz gruźlicy uogólnionej. Przebieg kliniczny jest bardzo ciężki, z nasilonymi objawami ogólnymi i silną dusznością. W RTG klatki piersiowej występują zmiany rozsiane przypominające ziarna prosa.
Gruźlica pozapłucna może przybierać postać:

- gruźlicy opłucnej,
- gruźlicy węzłów chłonnych,
- gruźlicy układu moczowo-płciowego,
- gruźlicy kości i stawów,
- gruźlicy OUN,
- gruźlicy układu pokarmowego,
- gruźlicy skóry.

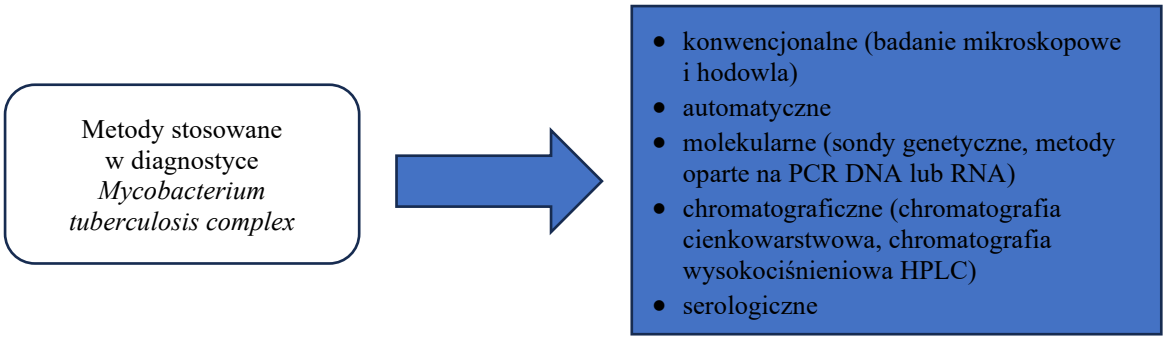
Diagnostyka zakażenia prątkiem gruźlicy

Najczęstszą lokalizacją zakażenia prątkiem gruźlicy jest tkanka płucna, dlatego materiałem klinicznym do badań w kierunku zakażenia prątkami najczęściej jest plwocina, wydzielina oskrzelowa oraz BAL; u dzieci dodatkowo popłuczyny żołądkowe. Plwocinę do badań pobiera się w ilości 2–5 ml w trzech próbkach pochodzących z różnych dni.
W innych postaciach klinicznych materiałami do badań w kierunku zakażeń prątkami są: mocz, PMR, płyny wysiękowe, biopsje węzłów chłonnych, wycinki skóry czy wyskrobiny kości. Materiały kliniczne pochodzące z innych lokalizacji niż płucna należy uznać za materiały skąpoprątkowe.
Diagnostyka mikrobiologiczna gruźlicy składa się z kilku etapów (ryc. V.3):

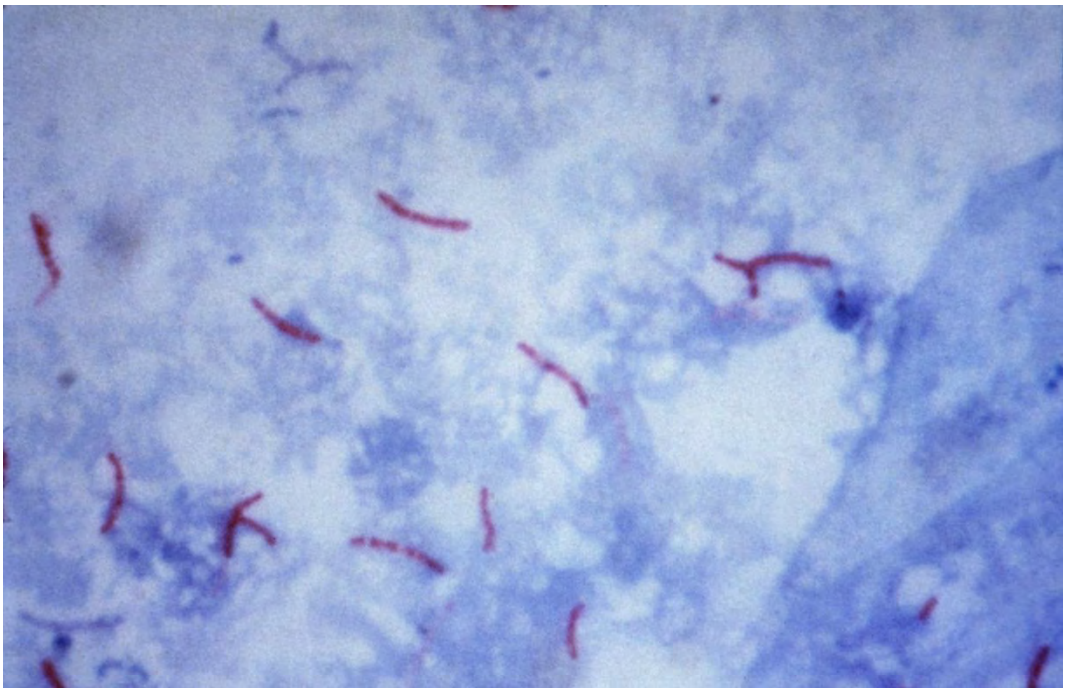
1) bakterioskopii, czyli badania mikroskopowego preparatu wykonanego z badanego materiału klinicznego wybarwionego metodą Ziehla-Neelsena albo metodami alternatywnymi, np. barwieniem fluorescencyjnym (ryc. V.4, V.5),
2) hodowli na podłożach sztucznych, prowadzonej w sposób konwencjonalny albo w automatycznych systemach hodowli (złoty standard w diagnostyce zakażeń *M. tuberculosis*),
3) identyfikacji prątków,
4) oznaczenia lekowrażliwości prątków.

Podłożem namnażająco-wybiórczym do hodowli prątków gruźlicy jest podłoże Loewensteina-Jensena. Ma ono najczęściej postać skosu w probówce. Zawiera m.in. asparginę, glicerol, mąkę ziemniaczaną, jaja kurze; dodatek zieleni malachitowej hamuje wzrost innych bakterii. Zastosowanie znajdują też podłoża Middlebrooka, Ogawy, Stonebrinka.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska



Ryc. V.3. Diagnostyka mikrobiologiczna *Mycobacterium tuberculosis.*



Ryc. V.4. Prątki w barwieniu na kwasooporność.

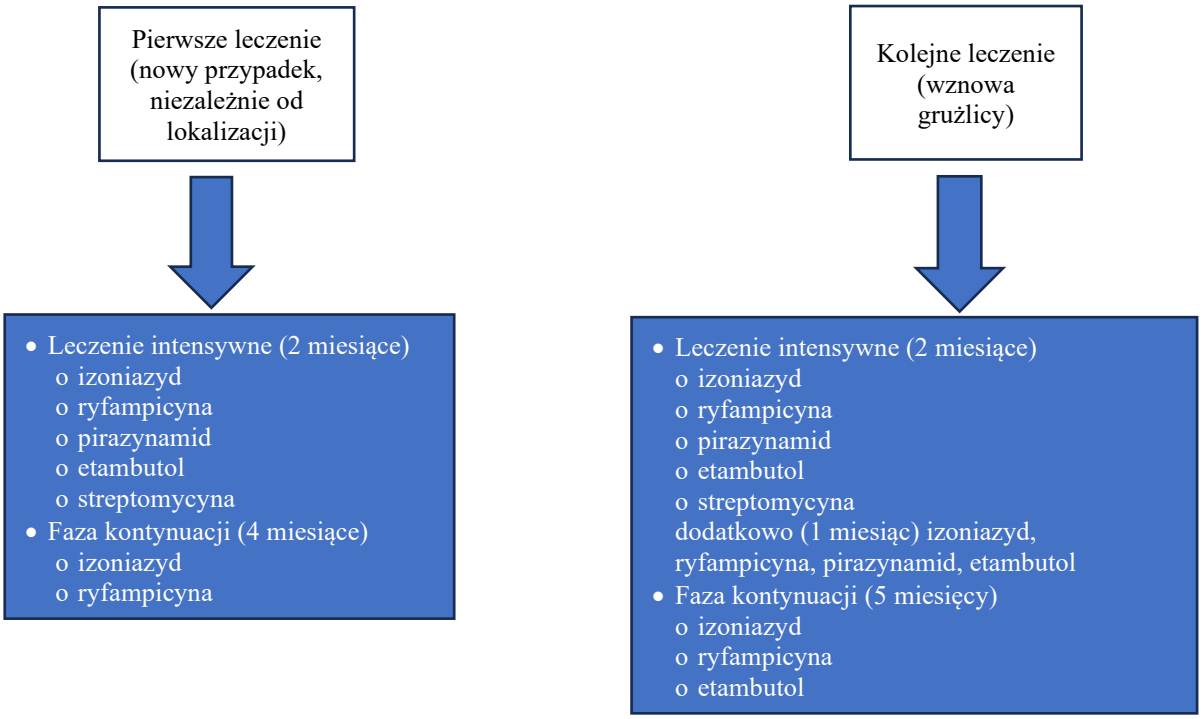
Ryc. V.5. Wzrost *Mycobacterium tuberculosis* na podłożu Loewensteina-Jensena.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Systemy automatyczne wykorzystują podłoża płynne o zdefiniowanym składzie, np. podłoże Middlebrooka, a wzrost prątków rejestrowany jest automatycznie. Informacja o obecności żywych prątków uzyskiwana jest już w ciągu 5–12 dni od chwili założenia hodowli.
Poza bakterioskopią i metodami hodowlanymi w diagnostyce wykorzystuje się metody molekularne, takie jak sondy genetyczne czy reakcję PCR, a także metody chromatograficzne, które ustalają różnice w składzie jakościowym i ilościowym kwasów mikolowych zawartych w komórkach prątków (ryc. V.3).
W rozpoznaniu zakażenia prątkiem gruźlicy pomocne są również odczyn tuberkulinowy oraz testy IGRA (*interferon γ release assay*).
Tuberkulina to wyciąg białkowy z zabitej hodowli prątków; zawiera antygeny występujące krzyżowo u *Mycobacterium tuberculosis complex*, jak również u prątków środowiskowych MOTT. Odczyn tuberkulinowy wykonuje się podając śródskórnie w obrębie przedramienia standaryzowany roztwór tuberkuliny. Po 48 i 72 godzinach mierzy się średnicę nacieku zapalnego, będącego wyrazem nadwrażliwości typu IV u chorych uczulonych (zatem chorych po kontakcie z prątkiem, po szczepieniu). Odczyn tuberkulinowy jest szczególnie skuteczny do rozpoznania zakażenia w populacji nie szczepionej szczepionką BCG. Wykrywa nadwrażliwość typu opóźnionego na białkowe antygeny prątka.
Testy IGRA polegają na pomiarze wydzielanego IFN-γ przez swoiste limfocyty T stymulowane przez antygeny specyficzne dla *M. tuberculosis*. Testy te pozwalają na wykrywanie latentnego zakażenia.

Oznaczenie lekowrażliwości prątków

Po wyhodowaniu i zidentyfikowaniu prątków kolejnym etapem jest oznaczenie wrażliwości drobnoustrojów na antybiotyki pierwszego rzutu. Są to antybiotyki, które wchodzą w skład kombinowanej czterolekowej terapii. Do antybiotyków tych zaliczamy: izoniazyd, ryfampicynę, pirazynamid, etambutol lub streptomycynę. W związku z dużą łatwością prątków do wytwarzania lekooporności konieczne jest stosowanie w leczeniu terapii kombinowanej. W trakcie leczenia konieczne jest również regularne sprawdzanie wrażliwości na stosowane antybiotyki, a w razie wykrycia oporności wymagana jest zmiana terapii (ryc. V.6).



Ryc. V.6. Zasady leczenia zakażenia prątkiem gruźlicy.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Ze zjawiskiem lekooporności prątków możemy się spotkać już przed podjęciem leczenia, jak również w jego trakcie. Możemy mieć do czynienia z następującymi typami lekooporności:

- pierwotną – oporność prątków na leki przed rozpoczęciem leczenia,
- nabytą – oporność prątków na jeden lub więcej leków, powstała w trakcie leczenia,
- na jeden lek – oporność pierwotna lub nabyta na jakikolwiek jeden lek,
- MDR – oporność na izoniazyd i ryfampicynę,
- XDR – oporność MDR z opornością na antybiotyki II i III rzutu,
- całkowitą (PDR) – suma wszystkich wzorów oporności.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

VI. Zakażenia układu pokarmowego

Dagmara Jaworska

Ostre zakażenia przewodu pokarmowego objawiające się zwykle biegunką są według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) jedną z głównych przyczyn zachorowań i zgonów wśród niemowląt i małych dzieci. Bardzo liczna grupa drobnoustrojów może być odpowiedzialna za wywołanie zapalenia poszczególnych odcinków przewodu pokarmowego. Należą tutaj przede wszystkim wirusy i bakterie oraz ich toksyny, a także grzyby, pierwotniaki i inne pasożyty.
Zachorowalność na zakażenia jelitowe systematycznie wzrasta, a dotyczy to przede wszystkim krajów rozwijających się, gdzie obserwuje się znaczną śmiertelność z powodu chorób biegunkowych, zwłaszcza wśród dzieci. Jednak w krajach rozwiniętych również obserwuje się niepokojący wzrost zapadalności na zakażenia jelitowe, co wiąże się z globalizacją sektora żywności oraz nieograniczonymi możliwościami podróżowania. Coraz częściej zwraca się także uwagę na groźne dla życia i zdrowia następstwa zakażeń pokarmowych, jak choćby zespół hemolityczno-mocznicowy jako konsekwencja zakażenia enterokrwotocznym szczepem *Escherichia coli*. Wszystko to stawia przed pracownikami służby zdrowia coraz większe wyzwania diagnostyczne i terapeutyczne.

Obraz kliniczny zakażeń układu pokarmowego i najczęstsze czynniki etiologiczne

Zakażenia w obrębie układu pokarmowego mogą przebiegać w postaci zapalenia i nieżytu żołądka, zapalenia jelita cienkiego oraz zapalenia jelita grubego.
Biegunka jest głównym objawem w większości przypadków zakażeń układu pokarmowego. Ze względu na wygląd kału i obecność lub brak granulocytów obojętnochłonnych biegunki podzielono na zapalne (kał zawiera domieszkę śluzu i krwi, granulocyty są obecne) oraz niezapalne (stolec jest bardzo obfity, wodnisty, brak w nim granulocytów).
Przebieg zakażenia zależy od wielu czynników, w tym stanu immunologicznego pacjenta (bardziej narażone są osoby z niewykształconym lub osłabionym układem odpornościowym), obecności prawidłowej mikroflory jelitowej (zwiększone narażenie w przypadku zachwiania równowagi), spożytej dawki infekcyjnej lub dawki toksyny oraz inwazyjności czynnika etiologicznego.
Najczęstszym czynnikiem infekcyjnym odpowiedzialnym za zapalenie żołądka jest pałeczka Gram-ujemna *Helicobacter pylori*, związana również bezpośrednio z chorobą wrzodową żołądka i dwunastnicy oraz rakiem żołądka. Z kolei najczęstszym patogenem odpowiedzialnym za ostre zapalenie żołądkowo-jelitowe u dzieci są przede wszystkim wirusy – rotawirusy i norowirusy. Za zakażenia jelit, które manifestują się głównie w postaci biegunki, odpowiadają przede wszystkim pałeczki Gram-ujemne, takie jak chorobotwórcze szczepy *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* czy *Yersinia enterocolitica*. Do bakterii odpowiedzialnych za biegunkę należą także drobnoustroje występujące w środowisku wodnym, takie jak *Vibrio cholerae*, jednak bardzo rzadko spotykane w naszej strefie klimatycznej. Kolejnym istotnym – choć w Polsce wciąż rzadko wykrywanym – czynnikiem etiologicznym zakażeń układu pokarmowego są drobnoustroje z rodzaju *Campylobacter*. Za zakażenia

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

przewodu pokarmowego mogą odpowiadać również bakterie Gram-dodatnie, takie jak laseczki *Bacillus cereus* (typ biegunkowy), *Clostridium perfringens* czy pałeczki *Listeria monocytogenes.*

Ze względu na mechanizm działania drobnoustrojów w obrębie przewodu pokarmowego zakażenia te podzielono na toksykoinfekcje i intoksykacje. Toksykoinfekcje są następstwem spożycia zdolnych do wywołania zakażenia drobnoustrojów wraz z pokarmem, które następnie namnażają się w przewodzie pokarmowym i produkują toksyny. Od liczby komórek, które dostały się do organizmu człowieka, zależą ostrość i przebieg samego zakażenia. Dlatego wprowadzono pojęcie tzw. najmniejszej dawki zakaźnej (*minimal infectious dose* – MID), oznaczającą liczbę komórek danego drobnoustroju, koniecznych do wywołania zakażenia. Z kolei intoksykacja to zatrucie wynikające z działania samej toksyny wytworzonej przez drobnoustroje w żywności przed jej spożyciem. Drobnoustrój, który te toksyny wytworzył, najczęściej ginie w wyniku podgrzewania, natomiast toksyny, które są odporne na temperaturę, pozostaną w produktach przygotowanych do spożycia. Zatrucia pokarmowe typu intoksykacji powodują toksyny wytwarzane przez *Staphylococcus aureus*, laseczki *Bacillus cereus* (typ wymiotny) czy *Clostridium botulinum.* Zatrucia tego typu zostały omówione w rozdziale IX.

Zakażenia przewodu pokarmowego można ponadto podzielić na zlokalizowane w przewodzie pokarmowym oraz takie, które rozprzestrzeniają się poza przewód pokarmowy, tzw. zakażenia ogólnoustrojowe. Należy pamiętać, że niektóre choroby zakaźne, o innej lokalizacji narządowej, mogą cechować się występowaniem tzw. postaci jelitowych. Należą tutaj wąglik, promienica, tularemia czy gruźlica. Wyjątkowym przypadkiem zakażenia zlokalizowanego w obrębie przewodu pokarmowego jest tzw. biegunka poantybiotykowa. Jest ona wynikiem terapii antybiotykami o szerokim spektrum działania, co prowadzi do zubożenia naturalnej mikroflory jelita i nadmiernego namnożenia drobnoustrojów patogennych z gatunku *Clostridioides difficile* (poprzednia nazwa: *Clostridium difficile*).

Postępowanie diagnostyczne

Zakażenia w obrębie przewodu pokarmowego, wywołane przez bakterie, mają zazwyczaj charakter samoograniczający się, z łagodnym przebiegiem i nie wymagają interwencji lekarza czy badań laboratoryjnych. Nie są też zwykle rejestrowane przez stację sanitarno-epidemiologiczną. Przypadki zarejestrowane dotyczą zwykle zachorowań o ciężkim przebiegu, wymagających hospitalizacji.

Najistotniejszym wskazaniem do wykonania badania mikrobiologicznego w przypadku zatrucia pokarmowego jest ostry przebieg choroby, występowanie gorączki i obecność krwi lub śluzu w kale, albo też przewlekła biegunka.

W razie braku szczegółowych wskazań, aby ukierunkować badanie mikrobiologiczne, a na podstawie objawów klinicznych nie da się określić przyczyny zachorowania, rutynowy posiew kału powinien zostać wykonany w kierunku obecności najczęstszych czynników etiologicznych zakażeń układu pokarmowego: patogennych szczepów *Escherichia coli*, pałeczek *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* oraz *Campylobacter.*

Materiałem do badania w kierunku zakażenia w obrębie przewodu pokarmowego są: kał, wymaz z kału lub wymaz z odbytu. Próbkę kału (5–10 ml) należy pobrać do specjalnego pojemnika lub podłoża transportowego, jak najszybciej przy podejrzeniu zakażenia, koniecznie przed podaniem leków przeciwbakteryjnych. Próbkę należy dostarczyć niezwłocznie do laboratorium.

Podstawą diagnostyki laboratoryjnej w zakażeniach przewodu pokarmowego jest posiew kału na konkretne podłoża, następnie izolacja „podejrzanych" kolonii oraz ich identyfikacja i ewentualne określenie typu serologicznego. W tabeli VI.1 zebrano podłoża i metody badawcze wykorzystywane w posiewie kału przy podejrzeniu obecności najczęstszych bakteryjnych czynników etiologicznych zakażeń układu pokarmowego.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela VI.1. Podłoża i metody badawcze wykorzystywane w posiewie kału przy podejrzeniu obecności najczęstszych bakteryjnych czynników etiologicznych zakażeń układu pokarmowego

Drobnoustrój	Podłoże	Identyfikacja
Salmonella, *Shigella*	Płynne podłoże wybiórczo-namnażające seleninowo-fosforanowe (SF) – zwiększa wykrywalność bakterii w posiewie. Następnie hodowla na 2–3 różnych podłożach wybiórczo-różnicujących: podłoże SS (*Salmonella-Shigella*), podłoże Wilsona i Blair, podłoże XLD, podłoże MacConkeya lub Levine'a (EMB).	Testy lateksowe z hodowli w podłożu SF – wykrywanie antygenów *Salmonella* i *Shigella*. Wykrycie pałeczek *Salmonella* wymaga ustalenia typu serologicznego (wykorzystując zestawy surowic).
Yersinia enterocolitica	Specjalnie dedykowane jest podłoże CIN, ale możliwa jest również hodowla na podłożu SS i podłożu MacConkeya. Kluczowe jest zastosowanie obniżonej temperatury inkubacji do 25–27°C i przedłużenie czasu hodowli do 48 godzin.	Wyhodowanie *Yersinia enterocolitica* powinno być uzupełnione biotypowaniem szczepu w celu ustalenia chorobotwórczości.
Escherichia coli	Hodowla na podłożu MacConkeya i wykrycie kolonii laktozo-dodatnich. Następnie zastosowanie metod umożliwiających wykrycie szczepów o chorobotwórczych właściwościach.	Testy lateksowe – skrining podejrzanych szczepów. Testy serologiczne – wykrywanie chorobotwórczych szczepów. Testy PCR – wykrywanie genów kodujących toksyny.
Campylobacter	Posiew na selektywne podłoże CCDA i inkubacja w warunkach mikroaerofilnych w temperaturze 42°C.	Ustalenie gatunku wymaga dodatkowych testów biochemicznych lub identyfikacji metodą PCR.

XLD – *xylose-lysine-deoxycholate agar*; EMB – *eosin-methylene blue agar*; CIN – *cefsulodin-irgasan-novobiocin agar*; CCDA – *charcoal-cefoperozone-deoxycholate agar*; PCR – *polymerase chain reaction*.

Badanie w kierunku innych, rzadziej występujących drobnoustrojów wykonuje się po ustaleniu wskazań wynikających z wywiadu epidemiologicznego. Z kolei wykrycie w badanej próbce wirusów nie wyklucza badania bakteriologicznego, gdyż mogą występować infekcje mieszane.

Infekcje w obrębie układu pokarmowego mogą być również skutkiem nadmiernego namnożenia drobnoustrojów, które stanowią zazwyczaj niewielki odsetek prawidłowej mikroflory. Zdarza się to w wyniku zaburzenia równowagi w obrębie flory jelitowej po zastosowaniu antybiotyków o szerokim spektrum. Wówczas gatunki naturalnie oporne na antybiotyki mnożą się w obrębie układu pokarmowego, powodując różnorakie objawy. Szczególnym przykładem takiego drobnoustroju jest *Clostridioides difficile*. Bakterie te są obecnie najczęstszą przyczyną zakaźnej biegunki związanej z opieką szpitalną. Drobnoustrój ten został opisany w rozdziale IX.

Z powodu wytycznych wynikających z nadzoru sanitarno-epidemiologicznego w niektórych przypadkach przeprowadza się także badanie kału u osób zdrowych. Dotyczy to nosicielstwa pałeczek *Salmonella* i *Shigella* u osób, które z racji wykonywanej pracy lub kierunku kształcenia muszą uzyskać orzeczenie lekarskie o niewydalaniu z kałem pałeczek *Salmonella* i *Shigella*. W przypadku badania na nosicielstwo wykonuje się badanie trzech próbek kału pobranych w trzech kolejnych dniach.

Zakażenia układu pokarmowego wywołane przez bakterie Gram-ujemne

Wśród pałeczek należących do rzędu *Enterobacterales* ord. nov. tylko nieliczne pałeczki są bezwzględnymi patogenami człowieka, czyli zawsze są przyczyną choroby, kiedy dojdzie do zakażenia organizmu człowieka (należą tu np. *Salmonella* Typhi, gatunki *Shigella* czy *Yersinia pestis*). Większość z tych drobnoustrojów to jednak patogeny oportunistyczne, wchodzące w skład mikroflory jelita,

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

mogące wywołać chorobę w wyjątkowych, sprzyjających okolicznościach, takich jak obniżenie odporności człowieka czy jako skutek antybiotykoterapii. Dodatkowo, w wyniku transferu genów wirulencji wśród komensalnych gatunków, mogą one nabyć nowe cechy, takie jak zdolność do produkcji toksyn, co doprowadzi do powstania nowych patogenów, np. niektóre szczepy *Escherichia coli* opisane w dalszej części.

W rozdziale opisano zakażenia wywołane przez pałeczki jelitowe z rzędu *Enterobacterales* ord. nov. należące do rodziny *Enterobacteriaceae* (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli)* i rodziny *Yersiniaceae* (*Yersinia enterocolitica*), pałeczki *Vibrio cholerae*, należące do innego rzędu, oraz najbardziej odmienne, gdyż należące do innej klasy, rodzaje *Campylobacter* i *Helicobacter*. Wszystkie wymienione drobnoustroje są znaczącymi patogenami człowieka, odpowiedzialnymi za różne choroby zlokalizowane w obrębie układu pokarmowego. Bakterie te posiadają różne czynniki zjadliwości, które zostały szczegółowo opisane w dalszej części rozdziału. Jednak nie należy zapominać, że wspólnym dla wszystkich bakterii Gram-ujemnych czynnikiem zjadliwości jest główny antygen ściany komórkowej, czyli lipopolisacharyd (LPS), inaczej endotoksyna, zbudowany z trzech składników: antygenu somatycznego O, polisacharydu rdzeniowego i lipidu A.

Antygen somatyczny pełni niezwykle istotną rolę w klasyfikacji bakterii Gram-ujemnych, szczególnie w identyfikacji gatunkowej oraz w identyfikacji szczepów zjadliwych lub tzw. serotypów. Natomiast lipid A pełni rolę w wirulencji i jest odpowiedzialny za aktywność endotoksyczną lipopolisacharydu.

1. Dur brzuszny i dury rzekome

Dur brzuszny i dury rzekome to ogólnoustrojowe schorzenia, cechujące się ostrym przebiegiem, występujące wyłącznie u ludzi. Dur brzuszny jest wywołany przez serowar *Salmonella* Typhi, dur rzekomy zaś – przez *Salmonella* Paratyphi. Aktualna klasyfikacja rodzaju *Salmonella* oparta na nowoczesnych metodach filogenetycznych wydziela w obrębie tego rodzaju tylko dwa gatunki: *Salmonella enterica* i *Salmonella bongori.* Większość odmian wywołujących zakażenia u człowieka należy do gatunku *Salmonella enterica*, podgatunku *enterica*. Są to odmiany serologiczne zwane serowarami (dawniej serotypami). Sklasyfikowane zostały w tzw. schemacie Kauffmanna-White'a, zbudowanym na podstawie różnic w budowie antygenu rzęskowego (H) i antygenu somatycznego (O), będącego składnikiem lipopolisacharydu. Serowary *Salmonella* określa się używając starego nazewnictwa, jednak dla podkreślenia, że nie są to gatunki, lecz serowary, nie używa się w pisowni kursywy, a nazwy zapisuje wielką literą, np. *Salmonella* Typhi.

Pojawianie się durów rejestrowane jest na całym świecie, jednak występują zwłaszcza w krajach o niskim statusie sanitarno-epidemiologicznym.

Czynniki zjadliwości

Za objawy występujące w przebiegu duru brzusznego odpowiedzialna jest głównie endotoksyna bakterii (LPS) oraz antygen powierzchniowy Vi.

Patogeneza i objawy kliniczne

Choroba rozprzestrzenia się drogą fekalno-oralną. Okres wylęgania wynosi średnio 10–14 dni. Po wniknięciu bakterii do światła jelita patogeny poprzez kępki Peyera wraz z limfą dostają się do węzłów chłonnych krezkowych, gdzie dochodzi do ich namnożenia. Następnie dochodzi do wysiewu drobnoustrojów i zasiedlenia przez nie różnych narządów, m.in. wątroby i dróg żółciowych, śledziony i szpiku, gdzie ponownie się namnażają. Wraz z żółcią bakterie dostają się ponownie do światła jelita.

Przebieg duru brzusznego dzieli się zazwyczaj na trzy fazy trwające około 7 dni każda:

- faza I – objawy pojawiają się z chwilą wysiewu bakterii do krwiobiegu (bakteriemii); należą do nich: bóle głowy, osłabienie, kaszel, nudności i bóle brzucha, zaparcia oraz wzrastająca gorączka;

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

- faza II – temperatura ustala się na wysokim poziomie, czemu towarzyszy względna bradykardia (tzw. rozbieżność gorączki i tętna – tętno nie rośnie proporcjonalnie do temperatury); na skórze pojawia się charakterystyczna osutka durowa (plamisto-grudkowa wysypka), z towarzyszącym powiększeniem wątroby i śledziony oraz węzłów chłonnych; po ponownym zasiedleniu jelita przez bakterie (pochodzące z dróg żółciowych) pojawia się biegunka;
- faza III – pojawiają się powikłania, takie jak krwawienia z przewodu pokarmowego, perforacja jelita, zapalenie otrzewnej, rozsiane ropnie, zapalenie wsierdzia, zapalenie kości; to faza pełnego rozwoju choroby, u części chorych pojawiają się objawy neurologiczne, takie jak zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie nerwów, objawy neuropsychiatryczne (odurzenie); jeśli w tej fazie choroby nie dojdzie do zgonu, wraz ze spadkiem gorączki rozpoczyna się powolny powrót do zdrowia.

Dur brzuszny kończy się zgonem w 10–30% nieleczonych przypadków. Bakterie *Salmonella* Typhi pomimo leczenia mogą pozostać w pęcherzyku żółciowym, co prowadzi do przewlekłego nosicielstwa i utrzymywania się szczepów durowych w populacji. Dury rzekome cechują się podobnym przebiegiem, ale ze skróconym czasem inkubacji i mniejszym nasileniem objawów, rzadziej też pojawiają się powikłania.

Diagnostyka

W pierwszym okresie choroby kluczowe są wyniki posiewów krwi (pobrane w szczycie gorączki), w późniejszych fazach również posiewy kału, moczu czy szpiku kostnego. Dodatkowo wykonywany jest odczyn aglutynacyjny (tzw. test Widala), który wykrywa we krwi chorego swoiste przeciwciała przeciwko antygenom *Salmonella*.

Leczenie i zapobieganie

W przypadkach durów i paradurów konieczna jest antybiotykoterapia (leki I rzutu to fluorochinolony). W celu likwidacji nosicielstwa oprócz antybiotykoterapii konieczne może być usunięcie pęcherzyka żółciowego. Możliwe jest zapobieganie durowi brzusznemu za pomocą szczepień ochronnych, które są zalecane u osób podróżujących do regionów, gdzie choroba występuje endemicznie.

2. Salmonellozy

Salmonellozy jelitowe to w odróżnieniu od wcześniej opisanych durów zakażenia miejscowe, przebiegające pod postacią nieżytu jelitowo-żołądkowego. Za tego rodzaju zakażenia odpowiadają najczęściej serowary *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium i in.

Rezerwuarem tych drobnoustrojów są drób i jego jaja, bydło, trzoda oraz niektóre dzikie zwierzęta (m.in. gady). Zakażenie przenosi się na człowieka głównie poprzez skażone potrawy, które nie zostały poddane odpowiedniej obróbce termicznej. Objawy zwykle pojawiają się po okresie wylęgania wynoszącym od 6 do 48 godzin. Należą do nich: nudności, wymioty, bóle brzucha, gorączka i wodnista, narastająca biegunka, niekiedy z domieszką śluzu albo krwi. Zakażenie zazwyczaj ustępuje samoistnie w ciągu 2–6 dni, bez specjalnego leczenia.

U części chorych (zazwyczaj u osób starszych, z niedoborami odporności) może dojść do penetracji bariery jelitowej i wystąpienia posocznicy, zapalenia płuc, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenia kości albo zapalenia wsierdzia.

Profilaktyka zakażeń polega na przestrzeganiu zasad higieny oraz zasad sanitarnych przy produkcji i przygotowywaniu żywności.

3. Czerwonka bakteryjna

Czerwonka to ostro przebiegająca choroba wywołana przez cztery gatunki Gram-ujemnych pałeczek: *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei*, *Shigella boydii* i *Shigella flexneri*. Najnowsze badania genetyczne wykazały, że gatunki *Shigella* są tak naprawdę biogrupami pałeczek *Escherichia coli*. Jednak ze

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

względów historycznych i aby uniknąć zamieszania w nazewnictwie, pozostawiono dawne nazwy pałeczek *Shigella.*
Czerwonka występuje na całym świecie, zazwyczaj w formie niewielkich epidemii; ogniska zachorowań istnieją przede wszystkim w krajach o złych warunkach sanitarnych. Choroba przenosi się drogą fekalno-oralną, bezpośrednio albo poprzez zakażoną wodę czy pożywienie.

Czynniki zjadliwości

Zjadliwość pałeczek *Shigella* wynika głównie z ich zdolności do adhezji i inwazji do komórek gospodarza. Szczepy *Shigella dysenteriae* typu 1 wytwarzają dodatkowo egzotoksynę, zwaną toksyną Shiga. Efektem jej działania jest uszkodzenie nabłonka jelita, ale również zniszczenie śródbłonka w kłębuszkach nerkowych, co może prowadzić do rozwoju zespołu hemolityczno-mocznicowego.

Patogeneza i objawy kliniczne

Pałeczki *Shigella* zasiedlają przede wszystkim nabłonek jelita grubego. Na skutek inwazji dochodzi do rozluźnienia połączeń międzykomórkowych i zniszczenia struktury nabłonka jelita. Komórki nabłonka oraz napływające fagocyty produkują masowo cytokiny prozapalne, co prowadzi do ostrego stanu zapalnego, ze znacznym obrzękiem, przekrwieniem, wydzielaniem śluzu i tworzeniem owrzodzeń, co z kolei jest bezpośrednią przyczyną krwawej biegunki i obecności ropy w kale.
Okres wylęgania wynosi od 2 do 7 dni, a przebieg zależy w znacznym stopniu od gatunku *Shigella*, jak również wieku osoby zakażonej. Do objawów należą gorączka, kolkowe bóle brzucha z parciem na stolec z kilkunastoma wypróżnieniami na dobę. Stolce są z początku wodniste, a później śluzowo-ropne z domieszką krwi. W łagodnym przebiegu biegunka ustępuje po kilku dniach, jednak w następstwie infekcji często dochodzi do bezobjawowego wydalania bakterii nawet przez kilka tygodni, co stanowi zagrożenie epidemiologiczne. Ciężkie przebiegi obserwuje się przede wszystkim u dzieci poniżej 5 roku życia. Mogą wówczas wystąpić powikłania, takie jak perforacje jelit czy zapalenie otrzewnej oraz zespół hemolityczno-mocznicowy (*haemolytic-uraemic syndrome* – HUS). Zespół ten obejmuje następujące objawy: niedokrwistość hemolityczną, małopłytkowość i ostre uszkodzenie nerek. Jest on związany z zakażeniem *Shigella dysenteriae* typu 1, a także szczepami EHEC (enterokrwotoczne szczepy *Escherichia coli*), występuję najczęściej u dzieci pomiędzy 1 i 5 rokiem życia.

Diagnostyka

Potwierdzenie rozpoznania wymaga izolacji bakterii z posiewów kału i posiewu na odpowiednie podłoża (tab. VI.1).

Leczenie i zapobieganie

W większości łagodnych przypadków wystarcza leczenie objawowe. Ciężkie przypadki wymagają antybiotykoterapii. Stosuje się zazwyczaj cyprofloksacynę, ceftriakson lub azytromycynę. Profilaktyka obejmuje przestrzeganie zasad podstawowej higieny i kontrolę sanitarną. Obowiązuje nadzór epidemiologiczny nad ozdrowieńcami i nosicielami. Zarejestrowana szczepionka przeciwko czerwonce nie istnieje.

4. Zakażenia patogennymi szczepami *Escherichia coli*

Wśród gatunków rodzaju *Escherichia* tylko *Escherichia coli* (pałeczka okrężnicy) występuje powszechnie i ma znaczenie jako czynnik chorobotwórczy dla człowieka. Drobnoustrój ten wchodzi w skład flory fizjologicznej ludzi i zwierząt, jest też zawsze izolowany z próbek kału. Dlatego *Escherichia coli* jest ważnym wskaźnikiem zanieczyszczenia wody odchodami (tzw. miano coli). Pałeczki *Escherichia coli* mogą również występować przejściowo na skórze i błonach śluzowych.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Czynniki zjadliwości

W obrębie gatunku *Escherichia coli* istnieją różne patogenne odmiany serologiczne, wyróżnione na podstawie wariantów antygenu somatycznego O i antygenu rzęskowego H. Identyfikacja tych odmian pozwala na wyróżnienie serotypów bezwzględnie chorobotwórczych. Odmiany patogenne zostały podzielone na pięć różnych typów, w zależności od rodzaju wywoływanych przez nie biegunek. Podział ten, wraz z czynnikami zjadliwości, został przedstawiony w tabeli VI.2.

Tabela VI.2. Czynniki zjadliwości patogennych szczepów *Escherichia coli* (*E. coli*)

Nazwa szczepu	Miejsce kolonizacji	Czynniki zjadliwości
ETEC – enterotoksynogenne szczepy *E. coli*	jelito cienkie	enterotoksyny ciepłochwiejne (LT) i ciepłostałe (ST) adhezyny/czynniki kolonizacji (CFA)
EPEC – enteropatogenne szczepy *E. coli*	jelito cienkie	fimbrie BFP adhezyny
EHEC – enterokrwotoczne szczepy *E. coli*	jelito grube	toksyny Shiga (Stx); inne nazwy: werotoksyna (VT), toksyna Shiga-podobna (SLT)
EIEC – enteroinwazyjne szczepy *E. coli*	jelito grube	nie wytwarzają toksyn; inwazja do wnętrza komórek wywołuje biegunkę
EAEC – enteroagregacyjne szczepy *E. coli*	jelito cienkie	fimbrie agregacyjne (komórki ulegają autoagregacji, formując skupiska przypominające stos cegieł)

LT – *heat-labile*; ST – *heat-stable*; CFA – *colonization factor antigen*; BFP – *bundle forming pilus*; Stx – *Shiga toxin*; VT – *verotoxin*; SLT – *Shiga-like toxin*.

Patogeneza i objawy kliniczne

Objawy kliniczne pojawiające się w przebiegu zakażeń patogennymi szczepami *Escherichia coli* są zależne od tego, który szczep odpowiada za zakażenie:

- enterotoksynogenne szczepy *Escherichia coli* (*enterotoxigenic Escherichia coli* – ETEC) są odpowiedzialne za zakażenia zwane biegunką podróżnych; wywołują również wodnistą biegunkę u dzieci, szczególnie w krajach rozwijających się; aktywność toksyn ciepłochwiejnych (LT) i ciepłostałych (ST) w obrębie jelita cienkiego prowadzi do utraty płynów i elektrolitów, co jest przyczyną wodnistej biegunki; przebieg choroby może być łagodny, jak też bardzo ciężki, przypominający cholerę, która zagraża życiu chorego; choroba ma najczęściej charakter samoograniczający;
- enteropatogenne szczepy *Escherichia coli* (*enteropathogenic Escherichia coli* – EPEC) wywołują biegunki przede wszystkim u małych dzieci w krajach rozwijających się; po krótkim okresie wylęgania (1–2 dni) rozwija się biegunka, stolce często zawierają śluz, zwykle nie zawierają krwi; biegunka ma charakter samoograniczający się i trwa od kilku do kilkunastu dni, rzadko dłużej;
- enterokrwotoczne szczepy *Escherichia coli* (*enterohemorrhagic Escherichia coli* – EHEC) to szczepy, które mają zdolność wytwarzania toksyny czerwonkowej (toksyna Shiga) i wywołują krwotoczne zapalenie jelita grubego; początkowo wywoływana przez te drobnoustroje biegunka może być wodnista, następnie przechodzi w typową dla szczepów EHEC krwistą biegunkę z towarzyszącymi silnymi bólami brzucha; gorączka występuje rzadko; najgroźniejszym powikłaniem jest zespół hemolityczno-mocznicowy, który rozwija się najczęściej u małych dzieci oraz u osób w podeszłym wieku;
- enteroinwazyjne szczepy *Escherichia coli* (*enteroinvasive Escherichia coli* – EIEC) – pod względem chorobotwórczości drobnoustroje te przypominają pałeczki *Shigella*, jednak do zakażenia konieczne

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

jest spożycie większej liczby bakterii; początkowo pojawia się wodnista biegunka, następnie dochodzi do rozwoju ostrego zapalenia jelita grubego, czemu towarzyszą objawy takie jak gorączka, bóle brzucha, bolesne parcie na stolec oraz częste oddawanie skąpych stolców z domieszką śluzu, krwi i ropy; objawy te najczęściej ustępują samoistnie po kilku dniach;

- enteroagregacyjne szczepy *Escherichia coli* (*enteroaggregative Escherichia coli* – EAEC) wywołują przede wszystkim biegunkę niemowlęcą w krajach rozwijających się, ale również przewlekłe biegunki u dorosłych; bakterie mają zdolność do autoagregacji na powierzchni nabłonka jelita cienkiego, co w konsekwencji prowadzi do rozwoju stanu zapalnego; do objawów należą przewlekła biegunka, bóle brzucha i gorączka.

Diagnostyka

Materiałem do badań jest najczęściej kał biegunkowy. Materiał posiewa się na podłoże MacConkeya, gdzie laktozo-dodatnie szczepy *Escherichia coli* fermentując laktozę rosną w postaci różowych kolonii. W celu identyfikacji szczepu przeprowadza się serotypowanie (określenie typu antygenu O i H). Wytwarzanie toksyn ocenia się metodami immunoenzymatycznymi, aglutynacją lateksową lub metodą PCR.

Leczenie i zapobieganie

Większość zakażeń jelitowych wywołanych przez patogenne szczepy *Escherichia coli* ustępuje samoistnie, przy odpowiednim leczeniu objawowym, czyli uzupełnianiu płynów i elektrolitów. Do leczenia zakażeń o ciężkim przebiegu czy zakażeń rozsianych stosuje się antybiotyki dobrane na podstawie antybiogramu.
Do metod zapobiegania zakażeniom jelitowym wywoływanym przez EHEC należy odpowiednio długa obróbka cieplna oraz przestrzeganie zasad higieny podczas przygotowywania pożywienia. Ponadto należy unikać surowego, niepasteryzowanego mleka i produktów mlecznych, a także nie pasteryzowanych soków.
Zalecenia dotyczące zapobiegania biegunce podróżnych obejmują m.in. przestrzeganie zasad higieny (mycie i dezynfekcja rąk), picie wody butelkowanej, spożywanie żywności w firmowym opakowaniu lub świeżo przyrządzonej oraz niespożywanie surowego czy półsurowego mięsa i owoców morza.

5. Zakażenie *Yersinia enterocolitica*

Pałeczki z tego rodzaju wywołują chorobę zwaną jersiniozą, która ze względu na podobieństwo do wielu chorób zapalnych jelita stanowi znaczący problem diagnostyczny.
Pałeczki *Yersinia enterocolitica* są szeroko rozpowszechnione w środowisku, występują w wodzie, glebie, są również izolowane od zwierząt dzikich i hodowlanych.
Drobnoustroje te są odpowiedzialne za wywoływanie infekcji układu pokarmowego w wyniku spożycia zanieczyszczonej żywności, wody i mleka. Jednak główną przyczyną rozwoju infekcji jest spożycie wieprzowiny poddanej niewłaściwej obróbce termicznej.

Czynniki zjadliwości

Czynnikami zjadliwości bakterii z rodzaju *Yersinia* są adhezyny oraz białka z grupy YOP (*Yersinia outer protein*), występujące w ścianie komórkowej. Ich rola polega m.in. na hamowaniu fagocytozy oraz hamowaniu agregacji płytek krwi. W niskiej temperaturze *Yersinia enterocolitica* wytwarza ciepłostałą enterotoksynę (podobną w działaniu do termostabilnej toksyny szczepów ETEC), odpowiedzialną za wywoływanie biegunki u ludzi i zwierząt.

Patogeneza i objawy kliniczne

Po zakażeniu *Yersinia enterocolitica* pokonuje barierę jelita w wyniku inwazji do komórek M kępek Peyera. W konsekwencji zakażenia kępki Peyera ulegają zniszczeniu. Ponadto bakterie unikają fago-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cytozy i przeżywają wewnątrz makrofagów, dzięki czemu mogą rozprzestrzeniać się do węzłów chłonnych, śledziony czy wątroby.
Bakterie wywołują najczęściej zapalenie żołądka i jelit. Po okresie inkubacji trwającym 1–10 dni rozwija się biegunka z towarzysząca gorączką i bólami brzucha. Jersinioza jelitowa może objawiać się w różny sposób, poczynając od łagodnych postaci o charakterze samoograniczającym, do ostrego zapalenia węzłów chłonnych krezki. Objawy utrzymują się zazwyczaj 1–2 tygodnie, ale w postaci przewlekłej mogą trwać wiele miesięcy. Pojawiający się przy jersiniozie jelitowej ból brzucha po prawej stronie może być mylony z zapaleniem wyrostka robaczkowego (jest to tzw. postać pseudowyrostkowa). We wszystkich przypadkach jersinioza może prowadzić do posocznicy, jednak pojawia się ona częściej u dzieci i osób z obniżoną odpornością.
Pozajelitowe przypadki jersiniozy obejmują ropne zapalenia skóry, ropnie płuc, nerek i wątroby, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych czy rumień guzowaty. Do następstw zakażenia pałeczkami *Yersinia enterocolitica* należą postacie o charakterze reumatoidalnym, w tym reaktywne zapalenie stawów.

Diagnostyka

Yersinia enterocolitica jest bakterią psychrotrofową, gdyż jest zdolna do namnażania się w niskich temperaturach w zakresie 0–20°C. *Yersinia enterocolitica* dominuje nad pozostałymi pałeczkami jelitowymi w żywności przechowywanej w niskiej temperaturze, natomiast w temperaturze 37°C jej wzrost jest słaby i może być zdominowany przez inne bakterie, dlatego jest ona często pomijana przy rutynowej diagnostyce mikrobiologicznej. Do izolacji *Yersinia enterocolitica* przeznaczone jest podłoże CIN (*cefsulodin-irgasan-novobiocin agar*) lub podłoże MacConkeya. Do diagnostyki wykorzystuje się również testy serologiczne.

Leczenie i zapobieganie

Zakażenia jelit wywoływane przez gatunki *Yersinia* zazwyczaj ustępują samoistnie. W cięższych lub przewlekłych przypadkach stosuje się antybiotykoterapię (m.in. cefalosporyny, aminoglikozydy, tetracykliny czy trimetoprim-sulfametoksazol).
Zakażeniom tym można zapobiegać przez odpowiednią kontrolę przechowywania produktów spożywczych.

6. Cholera

Cholera to ostra choroba zakaźna przewodu pokarmowego powodowana przez przecinkowca *Vibrio cholerae*. Do zakażenia dochodzi drogą fekalno-oralną w wyniku spożycia zanieczyszczonej wody lub żywności (są to najczęściej organizmy wodne, najczęściej ryby lub skorupiaki). Za wywołanie cholery u człowieka odpowiedzialne są *Vibrio cholerae* grup serologicznych O1 i O139 (tylko te serotypy produkują toksynę). Serotyp *Vibrio cholerae* O1 występuje pod postacią dwóch biotypów: klasycznego i El Tor. Każdy z nich posiada trzy odmiany o rożnym składzie niektórych fragmentów antygenu somatycznego O; są to: Inaba, Ogawa i Hikojima.
Cholera jest wysoce zakaźną chorobą. Źródłem infekcji są najczęściej wydaliny osób zakażonych bezobjawowo, gdyż ludność w miejscach endemicznego występowania choroby przechodzi zakażenie bezobjawowo lub bardzo łagodnie. Choroba może jednak powodować znacznie cięższe objawy u osób pochodzących z krajów o wyższym statusie sanitarno-epidemiologicznym.

Czynniki zjadliwości

Głównym czynnikiem zjadliwości przecinkowca cholery jest toksyna choleryczna (*cholera toxin* – CT), zwana również choleragenem. Ponadto szczepy produkujące toksynę posiadają fimbrie określane jako współregulowane z toksyną, odpowiadające za adhezję do komórek jelita.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Patogeneza i objawy kliniczne

Toksyna choleryczna działa wewnątrz komórki nabłonka jelita zwiększając syntezę c-AMP, co powoduje zaburzenia w wydzielaniu i absorpcji jonów, w efekcie czego następuje aktywne wydzielanie elektrolitów i wody do światła jelita cienkiego. Skutkiem działania toksyny jest zatem pojawienie się obfitej, wodnistej biegunki. Dochodzi wówczas do utraty nawet 1–2 litrów płynów na godzinę i bardzo szybkiego odwodnienia.
Okres wylęgania choroby trwa od kilkunastu godzin do 5 dni (średnio 2–3 dni). W klasycznej postaci cholery objawy pojawiają się nagle i szybko postępują. Pojawia się intensywna biegunka bez bólów brzucha oraz bez uczucia parcia na stolec. Gorączka nie występuje. Obfite, odbarwione, płynne stolce, zawierające pasemka śluzu przypominają wodę po płukaniu ryżu (biegunka ryżopodobna).
W ciągu doby może dojść do oddania nawet 30 litrów płynnego stolca o dużej zawartości przecinkowców cholery. Później pojawiają się wymioty, wzmożone pragnienie, drżenia mięśniowe oraz bezmocz. Dalsze objawy kliniczne związane są z ciężkim odwodnieniem, zwłaszcza w przypadku braku odpowiedniego leczenia. Rozwijają się m.in. objawy wstrząsu hipowolemicznego (utrata dużych ilości potasu) z arytmią serca i ostrą niewydolnością nerek. Towarzyszy im splątanie, dezorientacja oraz drgawki. Ciężkość przebiegu choroby oraz związana z nią śmiertelność zależą w znacznym stopniu od odwodnienia.

Diagnostyka

Wszystkie gatunki *Vibrio* to niewielkie, zakrzywione pałeczki Gram-ujemne, których morfologia nie pozwala na odróżnienie od innych pałeczek jelitowych.
Materiał do badań mikrobiologicznych (kał biegunkowy, wymaz z odbytu) powinien być pobierany na początku zakażenia i możliwie szybko umieszczany na odpowiednich podłożach. Zalecane jest wykorzystanie specjalnych podłoży transportowych o zasadowym pH (np. Cary Blair), jeżeli natychmiastowy posiew jest niemożliwy, gdyż przecinkowce są bardzo wrażliwe na wysuszenie i kwaśne pH środowiska. Materiał należy transportować i przechowywać w lodówce.
Przecinkowce wyrastają na standardowych podłożach do hodowli pałeczek Gram-ujemnych (np. MacConkeya) albo na agarze krwawym. Jednak do ich izolacji z materiałów zawierających dużą ilość innych drobnoustrojów zaleca się stosowanie podłoży selektywnych, np. TCBS agar, lub alkaliczną wodę peptonową o pH 8,6. Do identyfikacji serotypów stosuje się metody biochemiczne i wykorzystuje surowice poliwalentne.

Leczenie i zapobieganie

U pacjentów z cholerą najważniejsze jest natychmiastowe rozpoczęcie uzupełniania płynów oraz elektrolitów, gdyż bez tego dochodzi do kwasicy, wstrząsu i szybkiego pogorszenia stanu chorego. Terapia antybiotykowa ma znaczenie drugorzędowe, ale pozwala na ograniczenie liczby bakterii i ich toksyn. Lekiem z wyboru jest azytromycyna. Przecinkowce są bakteriami wolno żyjącymi w wodzie, dlatego poprawa warunków sanitarnych (zabezpieczenie ścieków, stosowanie oczyszczania wody i zapobieganie zanieczyszczeniu żywności) jest jedynym skutecznym sposobem zapobiegania cholerze. Opracowano wiele szczepionek przeciwko cholerze, jednak żadna z nich nie zapewnia skutecznej i długotrwałej ochrony.

7. Zakażenie bakteriami z rodzaju *Campylobacter*

Rodzaj *Campylobacter* obejmuje małe, mikroaerofilne, Gram-ujemne pałeczki o kształcie przecinka. Gatunki najczęściej izolowane w zakażeniach u człowieka, odpowiedzialne za zapalenia żołądka i jelit to *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli.* Gatunki te rozprzestrzeniają się przez zakażoną żywność (najczęściej mięso drobiowe), mleko lub wodę.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Czynniki zjadliwości

U *Campylobacter jejuni* wykryto adhezyny, enzymy cytotoksyczne i enterotoksyny, jednak ich dokładna rola jest słabo poznana.

Patogeneza i objawy kliniczne

Ryzyko zakażenia bakteriami z rodzaju *Campylobacter* wzrasta u osób z obniżoną sekrecją kwasu żołądkowego, gdyż bakterie te giną w jego obecności. Zakażenie żołądka i jelit wywołane przez *Campylobacter jejuni* powoduje bardzo charakterystyczne zmiany w obrazie histologicznym błony śluzowej jelita czczego, krętego i okrężnicy. Powierzchnia pokryta jest owrzodzeniami i występuje obrzęk z krwawymi ropniami w węzłach chłonnych jelita. Do objawów klinicznych należą biegunka, gorączka i bóle brzucha. Kał może zawierać widoczną makroskopowo krew. Inwazja poza układ pokarmowy, a w konsekwencji bakteriemia, jest niezwykle rzadka, zdarza się jednak u pacjentów z obniżoną odpornością.
Do powikłań związanych z zakażeniami *Campylobacter jejuni* należą autoimmunologiczne zaburzenia obwodowego układu nerwowego, czyli tzw. zespół Guillaina-Barrégo oraz reaktywne zapalenie stawów.

Diagnostyka

Rola *Campylobacter* w zakażeniach układu pokarmowego została poznana dość późno ze względu na odmienne wymagania hodowlane tych drobnoustrojów. Gatunki z rodzaju *Campylobacter* wymagają bowiem zredukowanej ilości tlenu i zwiększonej ilości dwutlenku węgla (są mikroaerofilne). Dodatkowo *Campylobacter jejuni* lepiej wyrasta w temperaturze 42°C. Podłoża selektywne muszą zawierać krew lub węgiel drzewny. Istnieją także komercyjne testy immunologiczne wykrywające antygeny *Campylobacter jejuni.*

Leczenie i zapobieganie

Zakażenia wywołane przez *Campylobacter* ustępują samoistnie, przy uzupełnianiu płynów i elektrolitów. U pacjentów z ciężkim przebiegiem lub sepsą konieczna jest antybiotykoterapia. Zakażeniom tym można zapobiegać poprzez odpowiednie przygotowywanie i konserwowanie żywności oraz unikanie spożywania niepasteryzowanego mleka, a także wdrożenie zabezpieczeń pozwalających na uniknięcie zakażenia wody pitnej.

8. Zakażenie *Helicobacter pylori*

Spośród czynników infekcyjnych związanych z zapaleniem żołądka najczęstszym jest Gram-ujemna, mikroaerofilna, spiralna bakteria *Helicobacter pylori.* Szacuje się, że kolonizuje ona żołądek około 50% światowej populacji ludzi. Zakażenie rozprzestrzenia się przede wszystkim na drodze fekalno-oralnej. Drobnoustrój ten wyizolowano po raz pierwszy w 1982 r. od pacjentów z zapaleniem błony śluzowej żołądka. *Helicobacter pylori* stanowi główny czynnik ryzyka rozwoju wrzodu trawiennego żołądka i dwunastnicy, gruczolakoraka żołądka ichłoniaka typu MALT (*mucosa-associated lymphoid tissue*). Za wyjaśnienie roli tej bakterii w etiologii choroby wrzodowej Barry Marshall i Robin Warren w 2005 r. otrzymali Nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii.

Czynniki zjadliwości

Helicobacter pylori jest bardzo ruchliwa ze względu na obecność biegunowej rzęski, co umożliwia jej szybkie poruszanie się w gęstej warstwie śluzu w obrębie błony śluzowej żołądka. Produkuje również duże ilości enzymu ureazy, która hydrolizuje mocznik do dwutlenku węgla i amoniaku, co powoduje alkalizację środowiska. W błonie zewnętrznej tej bakterii znajduje się lipopolisacharyd, który jednak w porównaniu z LPS innych bakterii ma niską aktywność endotoksyczną. Innym czynnikiem zjadli-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

wości jest cytotoksyna wakuolizująca A (*vacuolating cytotoxin A* – VacA), której wytwarzanie prowadzi do uszkodzenia komórek nabłonka poprzez tworzenie wakuoli. Ponadto w genomie *Helicobacter pylori* występuje obszar określany jako wyspa patogenności cag-PAI (*cytotoxin-associated gene pathogenicity island*). Do produktów genów wyspy patogenności cag-PAI zaliczamy m.in. białka budujące układ sekrecji typu IV odpowiedzialny za transfer czynników wirulencji do wnętrza komórek gospodarza oraz białko CagA (*cytotoxin-associated protein A*) będące onkoproteiną, gdyż jego aktywność jest związana z procesem nowotworzenia.

Patogeneza i objawy kliniczne

Helicobacter pylori ma zdolność do długotrwałej kolonizacji błony śluzowej żołądka. Początkową kolonizację ułatwia m.in. ureaza, która neutralizuje kwas żołądkowy, co pozwala bakteriom na przeżycie w tak trudnych warunkach i przebicie się przez warstwę śluzu, by dotrzeć do nabłonka. Następnie bakterie ulegają adhezji na powierzchni komórek nabłonka żołądka i produkują m.in. cytotoksynę VacA, która po wniknięciu do komórek tworzy w nich wakuole, co wpływa na wzrost przepuszczalności, zmiany w obrębie cytoszkieletu oraz indukuje zjawisko apoptozy. Poza tym bakterie indukują miejscową reakcję zapalną, przyciągając neutrofile, których produkty (proteazy i aktywne rodniki tlenowe) przyczyniają się do rozwoju zapalenia błony śluzowej żołądka i powstawania wrzodów.

Około 60% szczepów bakterii z gatunku *Helicobacter pylori* posiada geny odpowiedzialne za produkcję silnie immunogennego białka CagA o aktywności cytotoksycznej. Wprowadzone do komórek nabłonka CagA oddziałuje z wieloma białkami gospodarza, w szczególności z wewnątrzkomórkowymi onkogenami, powodując zmiany w tempie proliferacji komórek. Ponadto wpływając na cytoszkielet, CagA zmienia polarność komórek oraz modyfikuje połączenia między nimi, powodując rozległe uszkodzenia i zmiany w architekturze nabłonka żołądka. Aktywność cytotoksyny CagA wraz z VacA podczas infekcji *Helicobacter pylori* prowadzi do apoptozy komórek nabłonka żołądka, co przyczynia się do powstania i rozwoju choroby wrzodowej.

U większości zakażonych osób infekcja jest bezobjawowa, dochodzi do niej we wczesnym dzieciństwie i towarzyszy człowiekowi przez całe życie. Niestety, u około 20% zakażonych wystąpi zapalenie błony śluzowej żołądka i choroba wrzodowa żołądka czy dwunastnicy. To właśnie przewlekłe zapalenie żołądka, związane z obecnością *Helicobacter pylori* i jej patogennym działaniem (aktywnością cytotoksyny CagA), prowadzi do zwłóknienia i nadmiernej proliferacji nabłonka, co z kolei zwiększa znacznie ryzyko raka żołądka. Ponadto zakażenie tą bakterią jest związane z infiltracją komórek układu odporności do błony śluzowej żołądka, a u niektórych pacjentów nadmierna proliferacja limfocytów B może prowadzić do rozwoju chłoniaka typu MALT.

Diagnostyka

Testy diagnostyczne pozwalające na wykrycie infekcji *Helicobacter pylori* ze względu na sposób pozyskania materiału dzieli się na inwazyjne i nieinwazyjne. Wybór metody diagnostycznej jest uzależniony od sytuacji klinicznej oraz wskazań do badania endoskopowego.

Do testów inwazyjnych, które wymagają wykonania badania endoskopowego górnego odcinka przewodu pokarmowego, zaliczamy:

- badanie histologiczne – bakterie wykrywa się w zabarwionych bioptatach błony śluzowej żołądka; barwienie srebrem jest najczulszą metodą, jednak konieczne jest duże doświadczenie w ocenie preparatów;
- szybki test ureazowy – wycinki błony śluzowej bada się pod kątem aktywności ureazy;
- hodowlę bakterii – jest możliwa tylko po pobraniu wycinka, ponieważ bakterie adherują do powierzchni błony śluzowej żołądka, a nie są wykrywane we krwi czy kale; hodowlę prowadzi się

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

na podłożu wzbogaconym z krwią i inkubuje w warunkach mikroaerofilnych; metoda ta stosowana jest właściwie wyłącznie do oceny wrażliwości drobnoustrojów na antybiotyki.

Do testów nieinwazyjnych zaliczamy:

- test oddechowy – opiera się na rozkładzie izotopowo znakowanego mocznika w żołądku przez ureazę bakteryjną do amoniaku i CO_2, a następnie wykrywaniu znakowanego CO_2 w wydychanym powietrzu;
- testy immunoenzymatyczne – wykrywają antygeny *Helicobacter pylori* wydalane wraz z kałem;
- testy serologiczne – wykrywają w surowicy przeciwciała przeciwko *Helicobacter pylori*;
- metody molekularne – reakcja PCR wykrywająca odcinki bakteryjnego DNA, nie stosowane w rutynowej diagnostyce ze względu na wysoki koszt.

Ponieważ u zdecydowanej większości osób zakażenie *Helicobacter pylori* jest bezobjawowe, nie prowadzi się rutynowych badań przesiewowych. Diagnostykę zakażenia wykonuje się wyłącznie w przypadku planowanego leczenia.

Leczenie i zapobieganie

Leczenie eradykacyjne powinno być podejmowane tylko u chorych z potwierdzoną infekcją. Wskazania do terapii eradykacyjnej to m.in.: choroba wrzodowa żołądka i/lub dwunastnicy, chłoniak żołądka typu MALT, zanikowe zapalenie żołądka, dyspepsja, długotrwałe leczenie inhibitorami pompy protonowej, niewyjaśniona niedokrwistość z niedoboru żelaza, niedobór witaminy B_{12}.

Najlepszą strategią w leczeniu zapalenia błony śluzowej żołądka i wrzodów jest terapia skojarzona, trwająca 7–10 dni, która łączy zastosowanie inhibitora pompy protonowej (np. omeprazol), antybiotyku z grupy makrolidów (np. klarytromycyna) i antybiotyku β-laktamowego (np. amoksycylina). Jeżeli obserwuje się brak poprawy po leczeniu, należy oznaczyć lekowrażliwość drobnoustrojów.

Zakażenia układu pokarmowego wywołane przez bakterie Gram-dodatnie

Zakażenia w obrębie układu pokarmowego wywołane przez bakterie Gram-dodatnie z gatunku *Clostridioides difficile*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* oraz *Staphylococcus aureus* zostały opisane w rozdziale IX jako szczególny typ zakażeń spowodowanych przede wszystkim działaniem toksyn bakteryjnych.

Wybrane zakażenia wirusowe w obrębie układu pokarmowego

Wirusowe zapalenie żołądka i jelit, nazywane również ostrym niebakteryjnym zapaleniem żołądka i jelit (*acute infectious nonbacterial gastroenteritis* – AING), jest częstym schorzeniem u dzieci i niemowląt, ale może dotykać także dorosłych. Objawia się zazwyczaj podwyższoną temperaturą, mdłościami, wymiotami i biegunką. Efektem zakażenia jest często odwodnienie organizmu, szczególnie niebezpieczne dla małych dzieci. Najczęstszymi patogenami odpowiedzialnymi za wystąpienie ostrego zapalenia żołądka i jelit u dzieci są rotawirusy, norowirusy i adenowirusy. Stanowią one poważny problem głównie w krajach rozwijających się, gdzie śmiertelność z powodu biegunek jest bardzo wysoka.

1. Rotawirusy

Rotawirusy należą do rodziny *Reoviridae*, grupy bezosłonkowych wirusów posiadających segmentowany genom złożony z podwójnych nici RNA. Wirusy te wykazują stabilność w szerokim zakresie pH i temperatury, są również odporne na wysuszenie. Dlatego rotawirusy, zachowując zakaźność, mogą utrzymywać się na rękach, przedmiotach codziennego użytku itp. Epidemie wybuchają głównie w przedszkolach, miejscach dziennego pobytu dzieci oraz w szpitalach.

Genom rotawirusów otoczony jest podwójnym płaszczem białkowym, gdzie wewnętrzną warstwę tworzą białka VP1 (*viral protein 1*), VP2, VP3 i VP6, natomiast zewnętrzną – białka VP4 i VP7.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Rotawirusy produkują również niestrukturalną proteinę NSP4 (*nonstructural protein 4*), uważaną za pierwszą zdefiniowaną wirusową enterotoksynę. Do zakażenia dochodzi drogą fekalno-oralną, a okres wylęgania wynosi około 1–4 dni.
Ludzkie i zwierzęce rotawirusy podzielono na siedem grup (A–G) ze względu na budowę białka kapsydowego VP6. U ludzi zakażenia wywołuje przede wszystkim grupa A oraz sporadycznie grupy B i C.

Patogeneza i objawy kliniczne

Wirusy rozpoczynają replikację po dostaniu się do jelita cienkiego, gdzie zakażają komórki nabłonkowe kosmków jelitowych, prowadząc do ich atrofii i zniszczenia. Wirusowa enterotoksyna (białko NSP4) powoduje zaburzenia absorpcji wody oraz wodnistą biegunkę. Uszkodzone enterocyty uwalniają bardzo duże ilości wirusów, co sprzyja szerzeniu się zakażeń. Do innych objawów klinicznych poza biegunką należą wymioty, podwyższona temperatura i odwodnienie. W kale nie pojawiają się leukocyty ani krew. Zakażenia rotawirusami zazwyczaj ustępują samoistnie, jednak u dzieci w krajach rozwijających się, z powodu niedożywienia i odwodnienia występującego jeszcze przed chorobą, zakażenie ma ciężki przebieg i wiąże się ze znaczną śmiertelnością.

Diagnostyka

Większość pacjentów podczas zakażenia wydala znaczne ilości rotawirusów, co powoduje, że do diagnostyki możliwe jest zastosowanie metod bezpośredniego wykrywania wirusa w kale biegunkowym. Do metod tych należą ELISA i aglutynacja lateksowa. Charakterystyczne cząstki wirusa można również wykrywać za pomocą mikroskopii elektronowej (przypominają koło ze szprychami, łac. *rota* ‘koło’). Namnażanie wirusa w hodowlach jest trudne i bardzo rzadko wykorzystywane przy rutynowej diagnostyce.

Leczenie i zapobieganie

Terapia zakażeń rotawirusowych obejmuje przede wszystkim doustne lub dożylne nawadnianie i leczenie objawowe. Zapobieganie zakażeniom opiera się na ścisłym przestrzeganiu zasad higieny, aby zapobiec szerzeniu się zakażeń, jak również zapewnieniu dostępu do nieskażonej wody pitnej i bezpiecznym usuwaniu ścieków.
Obecnie dostępne są dwa rodzaje szczepionek: pięciowalentna, która zawiera 5 rekombinowanych szczepów wirusów ludzkich i bydlęcych (RotaTeq), i monowalentna (RotaRix), oparta na jednym szczepie ludzkiego rotawirusa, ale zapewniająca ochronę krzyżową także na dwa inne. Szczepionki te zawierają żywe, atenuowane wirusy i podawane są niemowlętom doustnie, między 6 i 24 tygodniem życia.

2. Norowirusy

Norowirusy to niewielkie (średnica 20–30 nm) wirusy posiadające genom RNA o dodatniej polarności. Zaliczane są do kaliciwirusów wraz z astrowirusami i innymi małymi wirusami wywołującymi zapalenia żołądka i jelit. Klasycznym przykładem norowirusa jest wirus Norwalk, opisany po raz pierwszy w 1968 r. jako przyczyna biegunek w domu opieki w Norwalk w stanie Ohio.
Wirusy te przenoszą się drogą fekalno-oralną i przez zakażoną żywność (głównie skorupiaki); są odporne na wysoką temperaturę i wysuszenie.
Objawy zakażeń norowirusami pojawiają się po dość krótkim okresie inkubacji (1–3 dni). Wynikają ze zniszczenia rąbka szczoteczkowatego jelita, co uniemożliwia wchłanianie wody i składników odżywczych oraz powoduje wodnistą biegunkę. Biegunce mogą towarzyszyć nudności, wymioty i bóle brzucha. Choroba zazwyczaj trwa krótko, z reguły mija po 1–3 dniach, jakkolwiek złe wchłanianie cukrów i tłuszczów może utrzymywać się jeszcze przez kilka dni po ustąpieniu biegunki. Zakażenia

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

bardzo rzadko przebiegają z ciężkimi objawami, a dotyczy to głównie pacjentów z niedoborami immunologicznymi lub osób ciężko i przewlekle chorych.
Leczenie swoiste nie istnieje, jednak można stosować zasadowy salicylan bizmutawy w celiu zmniejszenia nasilenia objawów. Ograniczenie rozprzestrzeniania się tych wirusów i ryzyko epidemii zmniejsza się poprzez kontrolę żywności, dbanie o higienę oraz czystość wody pitnej.

3. Adenowirusy

Wśród adenowirusów, należących do rodziny *Adenoviridae*, wyróżnia się ponad 100 serotypów, z których około 50 zakaża ludzi. Adenowirusy zwierzęce, najczęściej niezdolne do replikacji w komórkach ludzkich, wykorzystywane są np. jako wektory DNA w terapii genowej oraz do wytwarzania szczepionek (m.in. przeciwko COVID-19).
Adenowirusy ludzkie wywołują m.in. zakażenia układu oddechowego, zapalenie spojówek, ostre krwotoczne zapalenie pęcherza, zapalenie wątroby, zapalenia żołądkowo-jelitowe oraz zapalenie opon mózgowych i mózgu.
Należą do bezosłonkowych wirusów dsDNA (genom o podwójnej nici) odpornych na wysychanie, detergenty, działanie kwasu żołądkowego, a nawet niewielkie stężenia chloru. Mogą szerzyć się różnymi drogami: fekalno-oralną, kropelkową, przez kontakt bezpośredni czy poprzez przedmioty. Większość zakażeń przebiega bezobjawowo, dlatego wirusy te są szeroko rozpowszechnione w populacji. Adenowirusy wywołują głównie zakażenia objawowe u dzieci, a także u osób z obniżoną odpornością.
Serotypy adenowirusa odpowiedzialne za zakażenia żołądkowo-jelitowe to typy 40 i 41, rzadziej 52. Są przyczyną 5–15% przypadków ostrego, wirusowego zapalenia żołądka i jelit u małych dzieci, objawiającego się ostrą biegunką. Pozostałe typy adenowirusów często pojawiają się w kale, ale nie wywołują biegunki.
Leczenie infekcji wywołanych tymi wirusami polega na stosowaniu leków działających objawowo i wspomagająco. Nie są dostępne specyficzne leki przeciwwirusowe działające na adenowirusy. Aby uniknąć zakażenia, należy przestrzegać podstawowych zasad higieny.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

VII. Zakażenia układu moczowego i choroby weneryczne

Ewelina Szliszka

Zakażenia układu moczowego

Epidemiologia

Zakażenie układu moczowego (ZUM) jest jedną z głównych przyczyn interwencji medycznych, stanowiąc średnio 10–20% zakażeń pozaszpitalnych oraz 40–50% zakażeń szpitalnych. Infekcje dolnego odcinka dróg moczowych są po schorzeniach układu oddechowego najczęstszą przyczyną wizyt u lekarza. ZUM jest drugą co do częstości przyczyną gorączki u niemowląt i małych dzieci. W pierwszym okresie życia zakażenia dróg moczowych występują częściej u noworodków płci męskiej. Począwszy od 2–3 miesiąca życia zdecydowanie częściej chorują dziewczynki (średnio 10––50 razy częściej), co wynika z budowy anatomicznej żeńskiego układu moczowego – krótka i szeroka cewka predysponuje do zakażeń wstępujących. Wzrost zachorować obserwuje się u dziewczynek pomiędzy 2 i 5 rokiem życia, co wiąże się z nauką korzystania z toalety. Bez względu na płeć u młodszych dzieci ZUM często towarzyszy wadom wrodzonym dróg moczowych (50% przypadków), różnego typu zespołom metabolicznym i niedoborom odpornościowym. Z uwagi na mało charakterystyczny, nieswoisty obraz kliniczny często pierwszym zauważalnym objawem ZUM jest opóźnienie wzrostu psychoruchowego dziecka. W późniejszym okresie ZUM także częściej występuje u płci żeńskiej: kobiet aktywnych seksualnie (stosunki płciowe zwiększają ryzyko wprowadzenia drobnoustrojów do dróg moczowych) oraz ciężarnych. Po pierwszym incydencie ZUM u około 30–45% kobiet w ciągu trzech miesięcy występuje nawrót choroby, a u ponad 50% kobiet do 12 miesięcy. Częstość ZUM wzrasta u osób po 60 roku życia; u kobiet jest to związane z menopauzą lub obniżeniem narządów rodnych, natomiast u mężczyzn z przeszkodą w oddawaniu moczu – przerostem gruczołu krokowego. Zasadniczo u wszystkich w podeszłym wieku wzrasta ryzyko ZUM ze względu na spadek odporności, współistnienie innych chorób (np. schorzeń neurologicznych upośledzających opróżnianie pęcherza moczowego, cukrzycy), hospitalizację czy instrumentację dróg moczowych. Najczęstsze przyczyny wzrostu zachorowań na ZUM przedstawiono w tabeli VII.1.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela VII.1. Zasadnicze przyczyny wzrostu zachorowań na zakażenia układu moczowego (ZUM)

Grupa wiekowa	Przyczyna
Noworodki	chłopcy – obecność stulejki
Dzieci > 1 m.ż.	dziewczynki (wzrost 2–5 r.ż.) – nauka korzystania z toalety
Niemowlęta i młodsze dzieci	wady układu moczowego, zespoły metaboliczne, niedobory odporności
Kobiety 16–35 r.ż.	aktywność seksualna, ciąża
Kobiety > 60 r.ż.	menopauza, obniżenie narządów rodnych
Mężczyźni > 60 r.ż.	przeszkoda w oddawaniu moczu – przerost gruczołu krokowego, rzadziej zwężenie cewki moczowej
Osoby starsze > 60 r.ż	zaburzenia w odpływie moczu w przebiegu chorób neurologicznych, cukrzyca, obniżona odporność, hospitalizacje i instrumentacje dróg moczowo-płciowych

m.ż. – miesiąc życia; r.ż. – rok życia.

Podział czynników predysponujących do wystąpienia ZUM zestawiono w tabeli VII.2.

Tabela VII.2. Główne czynniki ryzyka związanego z wystąpieniem zakażeń układu moczowego (ZUM)

Czynnik	Przykład
Nieprawidłowości anatomiczne	wady układu moczowego
Nieprawidłowości czynnościowe	zaburzenia w opróżnianiu pęcherza moczowego w przebiegu chorób neurologicznych, z powodu obniżenia narządów rodnych, obecności przeszkody podpęcherzowej (przerost gruczołu krokowego, zwężenie cewki moczowej)
Czynniki mechaniczne	cewnikowanie, stosowanie tamponów, kamica układu moczowego, stosunek płciowy, instrumentacja dróg moczowo-płciowych, stosowanie dopochwowych środków antykoncepcyjnych
Czynniki metaboliczne	cukrzyca, dna moczanowa
Zaburzenia odporności	pierwotne i wtórne niedobory odpornościowe

Etiologia

Najczęstszą przyczyną ZUM są bakterie:

- Gram-ujemne pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* – głównie *Escherichia coli* (szczególnie szczepy uropatogenne – *uropathogenic Escherichia coli* (UPEC)); w zakażeniach niepowikłanych *Escherichia coli* stanowi około 75–95% ZUM, w zakażeniach powikłanych częstość jej występowania spada do 40–50%, a znacząco wzrasta udział innych pałeczek, takich jak *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp.;
- Gram-ujemne pałeczki z rodziny *Morganellaceae* – głównie *Proteus* spp.;
- niefermentujące pałeczki Gram-ujemne – głównie *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter* spp.;
- Gram-dodatnie ziarenkowce – *Enterococcus* spp. i *Streptococcus agalactiae* odpowiadają za niepowikłane ZUM, *Staphylococcus saprophyticus* występuje głównie u kobiet w wieku rozrodczym (10–20% przypadków), natomiast w powikłanych ZUM z moczu najczęściej izolowany jest *Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* i *Streptococcus pyogenes*;
- nietypowe drobnoustroje – *Mycobacterium tuberculosis*, prątki niegruźlicze, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*.

Etiologię bakteryjną ZUM zestawiono w tabeli VII.3.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Znacznie rzadziej za zakażenia dróg moczowych odpowiedzialne są inne drobnoustroje – grzyby, wirusy i pierwotniaki, w tym:

- grzyby z rodzaju *Candida*, najczęściej *Candida albicans*;
- wirusy: wirus opryszczki pospolitej (*herpes simplex virus* – HSV), andenowirusy;
- pierwotniaki: *Trichomonas vaginalis.*

Szacuje się, że około 3/4 (75%) **pozaszpitalnych nawrotów ZUM** wywoływanych jest przez ten sam szczep *Escherichia coli*, natomiast w pozostałej 1/4 przypadków (25%) dochodzi do reinfekcji nowym szczepem bakterii, przy czym u blisko 2/3 kobiet z nawracającymi ZUM (75%) nie udaje się ustalić konkretnej przyczyny zakażeń.

Do najważniejszych czynników etiologicznych **szpitalnych ZUM** również należy *Escherichia coli* (około 50% przypadków), jednak duży udział mają też wielolekooporne bakterie z rodzaju *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Providencia*, gronkowce (*Staphylococcus* spp.), enterokoki (*Enterococcus* spp.) oraz grzyby (głównie *Candida albicans*).

Tabela VII.3. Najważniejsze bakteryjne czynniki etiologiczne zakażeń układu moczowego (ZUM)

Drobnoustrój		**Częstość występowania**	
		ZUM niepowikłane	**ZUM powikłane**
Gram(-)	*Escherichia coli*	75–95%	20–55%
	Klebsiella pneumoniae	1–5%	1–15%
	Proteus mirabilis	1–5%	2–10%
	Enterobacter spp.	< 1%	2–10%
	Citrobacter spp.	< 1%	1–5%
	Pseudomonas aeruginosa	< 1%	2–20%
	inne	< 1%	< 1%
Gram(+)	*Staphylococcus saprophyticus*	1–10%	1–5%
	Enterococcus spp.	1–2%	1–25%
	inne	< 1%	1–10%

Głównymi uropatogenami u chorych po transplantacji nerki są bakterie z rodzaju *Klebsiella* (ponad 2/3 zakażeń).

U pacjentów z cewnikiem wprowadzonym na stałe do pęcherza moczowego najważniejszą przyczyną infekcji jest *Escherichia coli*. Jednak im dłuższy czas utrzymywania cewnika w drogach moczowych, tym większy udział innych drobnoustrojów w etiologii ZUM, takich jak: *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp. czy *Staphylococcus* spp. Zasadniczo etiologia ZUM pozostaje bez zmian, jednak obecne uropatogeny nabyły szereg genów lekooporności, które utrudniają skuteczne leczenie. Szacuje się, że *Staphylococcus saprophyticus* jest drugą (po *Escherichia coli*) najczęstszą przyczyną ZUM u kobiet aktywnych seksualnie.

Grzyby stosunkowo rzadko kolonizują układ moczowy u osób zdrowych, jednak ryzyko infekcji zwiększa się u pacjentów hospitalizowanych. Najczęstszym gatunkiem izolowanym z dróg moczowych jest *Candida albicans*. Ryzyko kandydurii (obecności grzybów w moczu) zwiększa u pacjentów współistnienie choroby nowotworowej i cukrzycy, a ponadto instrumentacja dróg moczowych, cewnikowanie pęcherza moczowego, stosowanie antybiotyków o szerokim spektrum działania lub leków immunosupresyjnych, hospitalizacja dłuższa niż 7 dni oraz podeszły wiek.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Patofizjologia

Drobnoustroje wnikają do układu moczowego drogą wstępującą. Bardzo rzadko jest to droga krwiopochodna, limfatyczna lub przez ciągłość tkanek. Pierwszym etapem jest kolonizacja okolicy ujścia cewki moczowej, u kobiet dodatkowo przedsionka pochwy, natomiast u mężczyzn okolicy podnapletkowej oraz wnikanie drogą wstępującą przez cewkę do pęcherza moczowego. Niezależnie od wieku i płci **najważniejszymi czynnikami ryzyka ZUM są:**

- cewnikowanie pęcherza moczowego,
- zabieg/operacja urologiczna,
- zastój lub zaleganie moczu w drogach moczowych,
- zaniedbania higieniczne.

Etiopatogeneza

O rozwoju ZUM decyduje wypadkowa dwóch czynników: zjadliwości drobnoustroju oraz sprawności mechanizmów odpornościowych organizmu.

1. Czynniki zjadliwości drobnoustrojów

Drobnoustroje wywołujące ZUM posiadają szereg czynników zjadliwości (wirulencji), które umożliwiają: kolonizację, zdolność do szybkiego namnażania się w moczu i rozwoju zakażenia, inwazję do tkanek oraz wywołanie zmian patologicznych.

Do najważniejszych czynników zjadliwości bakterii wywołujących ZUM należą:

- fimbrie – pełnią rolę adhezyn, umożliwiają kolonizację, czyli przyleganie do nabłonka dróg moczowych; obecne u pałeczek Gram-ujemnych: *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*; np. fimbrie typu 1 lub fimbrie typu P *Escherichia coli*;
- enzymy:
  - ureaza syntetyzowana przez pałeczki Gram-ujemne: *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, oraz ziarenkowce Gram-dodatnie: *Staphylococcus saphrophiticus*; ureaza zwiększa stężenie amoniaku, powodując alkalizację moczu, co sprzyja powstawaniu kamicy nerkowej (kamicy struwitowej, inaczej fosforanowo-magnezowo-amonowej);
  - proteazy produkowane przez pałeczki Gram-ujemne: *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* blokują działanie przeciwciał IgG i IgA, niszczą białka strukturalne tkanek; np. proteazy *Pseudomonas aeruginosa* odpowiadają za powstanie zmian martwiczo-ropnych;
  - hemolizyny uwalniane przez pałeczki Gram-ujemne: *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* są silnymi toksynami, uszkadzają komórki nabłonkowe;
- aerobaktyna – chelatuje żelazo, zapewnia korzystne warunki do wzrostu drobnoustrojów w drogach moczowych, synteza wiąże się z tworzeniem pęcherzyków gazu;
- tworzenie biofilmu na powierzchni nabłonka dróg moczowych chroniącego drobnoustroje przed działaniem antybiotyków i czynników układu odpornościowego.

2. Mechanizmy obronne

Do mechanizmów obronnych organizmu zalicza się:

- budowę anatomiczną i prawidłową funkcję dróg moczowych: długość cewki moczowej u mężczyzn, odpowiedni przepływ moczu dzięki perystaltyce moczowodów, czynność zastawek pęcherzowo-moczowodowych i szczelność ujść moczowodowych;
- odruch mikcji i prawidłowe opróżnianie się pęcherza moczowego (z moczem wydalane są drobnoustroje);
- pH moczu – kwaśny odczyn (pH = 5,5) hamuje namnażanie się drobnoustrojów;
- prawidłowy skład mikrobioty okolicy cewki moczowej i pochwy u kobiet;

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

- przeciwbakteryjne właściwości wydzieliny gruczołu krokowego;
- białka Tamma-Horsfalla w moczu;
- warstwę mukopolisacharydów pokrywającą błonę śluzową dolnych dróg moczowych, która hamuje przyleganie drobnoustrojów do komórek nabłonka;
- obecność immunoglobulin klasy IgA w moczu.

Definicja i klasyfikacja

ZUM to obecność drobnoustrojów w drogach moczowych powyżej zwieracza pęcherza moczowego. Istnieje wiele różnych klasyfikacji ZUM, w tym ze względu na:

a) lokalizację – zakażenie dolnych i górnych dróg moczowych,
b) czynniki ryzyka – ZUM powikłane i niepowikłane,
c) czas – pierwotne (pierwsze zakażenie), nawracające (wznowa lub nadkażenie),
d) charakter – ostre i przewlekłe.

W praktyce stosowany jest podział na grupy klinicznie według Thomasa Hootona z 2010 r. Podział ten wyodrębnia poszczególne grupy chorych z ZUM:

1) młode kobiety z niepowikłanym zapaleniem pęcherza moczowego,
2) młode kobiety z nawracającym niepowikłanym zapaleniem pęcherza moczowego,
3) młode kobiety z niepowikłanym ostrym odmiedniczkowym zapaleniem nerek,
4) kobiety i mężczyźni z ostrym niepowikłanym zapaleniem pęcherza i wysokim ryzykiem wystąpienia bezobjawowego procesu zapalnego w obrębie nerek lub stercza,
5) kobiety i mężczyźni z powikłanym ZUM,
6) kobiety i mężczyźni z bezobjawowym bakteriomoczem, gdzie punkty 1–5 to klinicznie jawne ZUM z objawami podmiotowymi lub przedmiotowymi, punkt 6 – ZUM bez żadnych objawów klinicznych.

Podział ZUM ze względu na lokalizację obejmuje:

- zakażenie dolnego odcinka dróg moczowych:
  zapalenie cewki moczowej
  zapalenie pęcherza moczowego
  zapalenie gruczołu krokowego
- zakażenie górnego odcinka dróg moczowych:
  odmiedniczkowe zapalenie nerek.

W praktyce klinicznej najważniejszy jest podział na:

- ZUM niepowikłane
- ZUM powikłane.

Niepowikłane ZUM to zakażenie rozpoznane u osoby bez żadnych współistniejących chorób lub wad układu moczowego oraz bez upośledzenia miejscowych i ogólnoustrojowych mechanizmów obronnych, wywołane przez typowe uropatogeny.

Powikłane ZUM to zakażenie zdiagnozowane u osoby z anatomicznym lub czynnościowym utrudnieniem odpływu moczu lub z upośledzeniem miejscowych lub ogólnoustrojowych mechanizmów obronnych lub ZUM wywołane przez atypowe uropatogeny.

Niepowikłane ZUM dolnego odcinka to zakażenie cewki moczowej i pęcherza moczowego, występujące u kobiet nie obciążonych dodatkowymi czynnikami ryzyka. Objawia się: dyzurią (częstym, bolesnym parciem na mocz), częstomoczem, utrzymującym się uczuciem parcia na mocz i czasem bolesnością okolicy podbrzusza.

Ostre odmiedniczkowe zapalenie nerek (OOZN) określane jako **ostre bakteryjne cewkowo-śródmiąższowe zapalenie nerek** charakteryzuje się następującymi objawami: bólem i tkliwością okolicy lędźwiowej, gorączką oraz dyzurią, częstomoczem, nagłymi parciami na mocz. W badaniu przedmiotowym występuje dodatni objaw Goldflama (bolesność okolicy lędźwiowej w odpowiedzi na opukiwanie lub wstrząsanie).

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Nawrót zakażenia to:

- **wznowa**, czyli kolejne ZUM występujące do 10–14 dni po zakończeniu leczenia przeciwdrobnoustrojowego i spowodowane przetrwaniem w drogach moczowych tego samego drobnoustroju lub
- **nadkażenie**, czyli ponowne ZUM (reinfekcja) spowodowane innym drobnoustrojem niż zidentyfikowany w moczu chorego w czasie poprzedniego zakażenia (niezależnie od okresu, jaki upłynął) lub ZUM, którego objawy wystąpiły po 14 dniach od zakończenia leczenia poprzedniej infekcji (nawet jeżeli czynnikiem etiologicznym jest ten sam uropatogen).

Obraz kliniczny

Obraz kliniczny ZUM jest bardzo zróżnicowany: od bezobjawowego bakteriomoczu, poprzez typowe symptomy zapalenia dróg moczowych, do ciężkiej urosepsy (ZUM przebiegającego z ogólnoustrojową reakcją zapalną) włącznie.

Objawy charakterystyczne dla:

- ZUM dolnego odcinka – objawy miejscowe: dyzuria, częstomocz, bolesne parcie na mocz, nykturia (częste oddawanie moczu w nocy), mimowolne oddawanie moczu;
- ZUM górnego odcinka – objawy ogólnoustrojowe OOZN to: gorączka, dreszcze, bóle okolicy lędźwiowej, bóle brzucha, czasem nudności lub wymioty; najczęściej towarzyszą im również objawy miejscowe jak w przypadku zakażenia dolnych dróg moczowych; w badaniu fizykalnym stwierdza się dodatni objaw Goldflama.

Zakres koniecznych procedur, badań laboratoryjnych i obrazowych określa się indywidualnie. W przypadku OOZN i wszystkich powikłanych przypadków ZUM należy wykonać badanie mikrobiologiczne moczu (posiew moczu) oraz odpowiednie badania radiologiczne.

Diagnostyka laboratoryjna

1. Badanie ogólne moczu z uwzględnieniem obecności:
   - leukocytów – stwierdzenie powyżej 5–10 leukocytów w polu widzenia,
   - erytrocytów – stwierdzenie powyżej 5 erytrocytów w polu widzenia,
   - bakterii,
   - azotynów w moczu; test służący do wykrywania azotynów w moczu traktowany jest jako szybkie badanie przesiewowe potwierdzające bakteriomocz, ale jego przydatność kliniczna jest ograniczona w ZUM przebiegających z niewielką liczbą bakterii w moczu lub w ZUM wywołanych przez drobnoustroje nie mające zdolności redukcji azotanów do azotynów.

2. Posiewy moczu

Obecność bakteriomoczu (bakteriurii) jest definitywnym wyznacznikiem ZUM. W tabeli VII.4 przedstawiono rekomendacje dotyczące rozpoznawania znamiennego bakteriomoczu.

Posiew pobierany jest ze środkowego strumienia moczu. Ważne jest odpowiednie pouczenie pacjenta o sposobie pobierania próbki moczu, a najlepiej przekazanie tych zaleceń również w formie pisemnej. Należy jednak pamiętać, że czasem pomimo szczegółowych instrukcji próbka moczu pobrana przez chorego obarczona jest ryzykiem zanieczyszczenia mikrobiotą (własną mikroflorą) okolicy cewki moczowej i/lub pochwy.

Zalecane metody pobierania moczu na posiew (instrukcja dla pacjenta):

- mocz należy pobrać rano, ze środkowego strumienia, co najmniej 2–4 godziny od ostatniej mikcji;
- pobraną próbkę moczu należy przechowywać i transportować w temperaturze +4°C (w lodówce), następnie dostarczyć do laboratorium w ciągu 2–4 godzin od pobrania;
- mężczyźni ♂: po dokładnym umyciu ciepłą, bieżącą wodą i mydłem odciągnąć napletek, następnie ponownie umyć okolicę cewki moczowej mydłem i spłukać 2-krotnie wodą; pierwszą porcję moczu

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

oddać do toalety, następną ze strumienia środkowego oddać do przygotowanego jałowego pojemnika transportowego;
- kobiety ♀: starannie 2-krotnie umyć okolicę sromu ciepłą, bieżącą wodą i mydłem, następnie obficie spłukać; rozchylić wargi mniejsze aż do zakończenia pobierania próbki moczu; dalsze postępowanie podobnie jak u mężczyzn, by uzyskać mocz ze środkowego strumienia.

Trudności występują podczas pobierania moczu na posiew u chorych w podeszłym wieku, z problemami z koordynacją i utrzymaniem moczu oraz przestrzeganiem odpowiedniej higieny.

Próbka moczu do badania mikrobiologicznego powinna być dokładnie opisana i przekazana do pracowni mikrobiologicznej wraz ze skierowaniem. Skierowanie powinno zawierać następujące informacje: datę i godzinę pobrania próbki moczu, sposób pobrania (środkowy strumień, przez cewnik dopęcherzowy, przez nefrostomię), nazwę jednostki zlecającej badanie (szpitala, oddziału, poradni), identyfikator lekarza, dane dotyczące wcześniej i aktualnie przyjmowanych leków przeciwbakteryjnych lub przeciwgrzybiczych.

Posiew moczu należy powtórzyć w przypadku zanieczyszczenia próbki (np. własną mikroflorą) podczas pobierania metodą środkowego strumienia, niewłaściwej pory pobrania próbki moczu lub zbyt małej podaż płynów przez pacjenta.

Nie zaleca się rutynowego wykonywania kontrolnych posiewów moczu po przeleczeniu ZUM.

Wskazania do kontrolnego posiewu moczu:
- w przypadku utrzymywania się objawów klinicznych ZUM,
- 1–2 tygodnie po przeleczeniu u kobiet ciężarnych pomimo braku klinicznych objawów ZUM,
- u chorych z wysokim ryzykiem uszkodzenia nerek pomimo braku klinicznych objawów ZUM.

Pobranie próbki moczu na posiew za pomocą cewnikowania pęcherza moczowego jest preferowane u dzieci i dorosłych pacjentów, którzy nie potrafią samodzielnie prawidłowo pobrać moczu (np. osoby z zaburzeniami świadomości) lub nie mogą oddać moczu z powodów urologicznych lub neurologicznych. Przed wprowadzeniem cewnika do pęcherza moczowego należy 2-krotnie przemyć preparatem antyseptycznym okolicę ujścia cewki moczowej. U pacjentów z ZUM i cewnikiem mocz na posiew jest pobierany podczas wymiany cewnika przez nowo założony cewnik.

U kobiet w ciąży nie należy pobierać moczu na posiew cewnikiem dopęcherzowym.

Tabela VII.4. Rekomendacje dotyczące rozpoznawania znamiennego bakteriomoczu

Rozpoznanie znamiennego bakteriomoczu
ZUM u kobiet w okresie przedmenopauzalnym i niebędących w ciąży: $\geq 10^3$ CFU/ml przy współistniejących objawach klinicznych
ZUM u mężczyzn: $\geq 10^3$ CFU/ml przy współistniejących objawach klinicznych
Ostre niepowikłane odmiedniczkowe zapalenie nerek u kobiet: $\geq 10^4$ CFU/ml
Powikłane ZUM: $\geq 10^5$ CFU/ml
Nawracające niepowikłane ZUM u kobiet: $\geq 10^5$ CFU/ml
Chorzy z objawami klinicznymi ZUM cewnikowani w sposób ciągły lub przerywany: $\geq 10^3$ CFU/ml – posiew moczu pobrany przez nowo założony cewnik dopęcherzowy
Bezobjawowy bakteriomocz u pacjentów cewnikowanych w sposób ciągły lub przerywany: $\geq 10^5$ CFU/ml – posiew moczu pobrany przez nowo założony cewnik dopęcherzowy
Bezobjawowy bakteriomocz u pacjentów bez cewnika moczowego: kobiety $\geq 10^5$ CFU/ml – dwa kolejne posiewy moczu mężczyźni $\geq 10^5$ CFU/ml – jeden posiew moczu pobrany metodą środkowego strumienia mężczyźni i kobiety $\geq 10^2$ CFU/ml – posiew moczu pobrany przez nowo założony cewnik dopęcherzowy

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Próbka moczu powinna zostać oceniona i zbadana jak najszybciej od momentu pobrania, aby uniknąć wyniku fałszywie dodatniego (namnożenia się drobnoustrojów). Gdy próbki moczu nie można dostarczyć do laboratorium w ciągu 1 godziny od chwili pobrania, należy ją przechowywać i transportować w temperaturze 4°C do 4 godzin od pobrania. Można również pobrać mocz na podłoże transportowe (nie trzeba wtedy przestrzegać rygorystycznych warunków – temperatury i czasu transportu).

Jałowy ropomocz to ujemny wynik posiewu moczu oraz leukocyturia, czyli stwierdzanie większej liczby leukocytów w badaniu ogólnym moczu. Kryterium rozpoznania jałowego ropomoczu to: obecność powyżej 5 leukocytów w polu widzenia lub powyżej 10/µl w badaniu ogólnym moczu oraz uzyskanie negatywnego wyniku posiewu moczu.

Przyczyny występowania jałowego ropomoczu:

- w przypadku ZUM wywołanego przez atypowy czynnik infekcyjny: *Mycobacterium tuberculosis*, prątki niegruźlicze, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*;
- urazy układu moczowego;
- u pacjentów z cewnikiem na stałe w drogach moczowych;
- u osób z współistniejącymi chorobami układowymi (zwłaszcza ostrymi stanami gorączkowymi) lub schorzeniami zapalnymi (np. zapaleniem gruczołu krokowego, wyrostka robaczkowego).

Leczenie

Leczenie objawowego ZUM:

- postępowanie nieswoiste: odpoczynek (leżenie w łóżku w przypadku ZUM o ciężkim przebiegu), nawodnienie (doustnie lub pozajelitowo), zastosowanie leków przeciwbólowych i przeciwgorączkowych,
- postępowanie swoiste zależnie od typu ZUM, czyli włączenie leków przeciwdrobnoustrojowych.

Profilaktyka ZUM

- zapewnienie odpowiedniej diurezy (2–3 litry płynu na dobę),
- unikanie zaparć,
- odpowiednia higiena osobista,
- unikanie kąpieli bąbelkowych,
- unikanie dezodorantów intymnych,
- stosowanie preparatów żurawiny zmniejszających adhezję uropatogennych drobnoustrojów,
- stosowanie dopochwowych globulek szczepów *Lactobacillus spp*.

Gdy objawy ZUM pojawiają się bezpośrednio po współżyciu płciowym, zaleca się jednorazowe profilaktyczne podanie leku przeciwbakteryjnego po stosunku.

Postacie kliniczne ZUM

Zapalenia pęcherza moczowego – rozpoznawane na podstawie objawów klinicznych (dyzuria, częstomocz, bóle okolicy nadłonowej), rzadko objawów ogólnych (gorączka), badania ogólnego moczu – analizy osadu moczu (leukocyturia, erytrocyturia – krwinkomocz), czasem posiewu moczu (bakteriomocz $\geq 10^3$ CFU). U kobiet najczęstszą przyczyną infekcji dolnych dróg moczowych jest *Escherichia coli* (blisko 95% przypadków). Pozwala to odstąpić od diagnostyki i natychmiast rozpocząć leczenie. Terapia ma najczęściej charakter empiryczny. Antybiotykoterapia w niepowikłanym zapaleniu pęcherza moczowego obejmuje: zastosowanie nitrofurantoiny (3 razy dziennie 100 mg doustnie przez 5 dni) lub ofloksacyny (2 razy dziennie 200 mg doustnie przez 3 dni) lub lewofloksacyny (1 raz dziennie 500 mg przez 3 dni).

Nawracające zapalenie pęcherza moczowego u młodych kobiet – leczone podobnie jak pierwszy incydent niepowikłanego zapalenia pęcherza moczowego. W przypadku nawrotów stosowana jest antybiotykoterapia celowana zgodnie z wynikami posiewu moczu i antybiogramem. Do czasu uzyska-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

nia wyników posiewu włączane jest leczenie empiryczne. Czas trwania farmakoterapii podobnie jak w przypadku niepowikłanego zapalenia pęcherza moczowego równy 3–5 dni. Wyjątkiem są chorzy na cukrzycę, u których leczenie powinno trwać około 7–14 dni.

Niepowikłane OOZN u młodych kobiet jest najczęściej przykładem zakażenia wstępującego z dolnych dróg moczowych. U większości kobiet czynnikiem etiologicznym jest *Escherichia coli* (do 95%), inne pałeczki (*Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis*) lub *Staphylococcus saprophyticus*. U pacjentek występują objawy ogólne: bóle okolicy lędźwiowej, bóle brzucha i podbrzusza, dodatni objaw Goldflama, gorączka, dreszcze, złe samopoczucie, nudności, wymioty, i objawy miejscowe: dysuria, częstomocz, bolesne uczucie parcia na pęcherz moczowy, a nawet krwiomocz. Rozpoznanie OOZN ustala się na podstawie obrazu klinicznego oraz wynikach badań laboratoryjnych – w badaniu ogólnym moczu występuje leukocyturia (często również białkomocz lub erytrocyturia), dodatnie wyniki posiewów moczu (w 90% przypadków), w badaniu krwi podwyższone CRP i leukocytoza. Zalecenia do wykonania badań obrazowych: podejrzenie powikłanego OOZN, gorączka utrzymująca się powyżej 48 godzin, gwałtowne pogorszenie stanu ogólnego pacjenta (mimo stosowanego leczenia) oraz w razie wątpliwości co do rozpoznania lub ustalenia wskazań do hospitalizacji. Postępowanie w POZN (przewlekłym odmiedniczkowym zapaleniu nerek): posiew moczu, a u pacjentów hospitalizowanych również posiewy krwi. Kontrolny posiew moczu należy wykonać u chorych, u których utrzymują się objawy kliniczne zakażenia mimo włączonego leczenia (powyżej 3 dni od rozpoczęcia terapii) lub objawy kliniczne ZUM wróciły w ciągu 2 tygodni po zakończeniu leczenia. Sposób i miejsce leczenia chorego na OOZN jest zależne od dwóch zasadniczych czynników: stopnia ciężkości choroby oraz możliwości leczenia w warunkach ambulatoryjnych. W przypadku uporczywych wymiotów, nasilenia objawów ZUM lub braku poprawy stanu klinicznego pacjenta mimo zastosowanego leczenia, u kobiet w ciąży lub przy braku współpracy pacjenta, a także w razie jakichkolwiek wątpliwości co do rozpoznania zaleca się hospitalizację i antybiotykoterapię dożylną. W OOZN o przebiegu łagodnym leczenie może odbywać się w warunkach ambulatoryjnych. Zaleca się doustną antybiotykoterapię przez 7–14 dni: lekami I rzutu są fluorochinolony – cyprofloksacyna 500 mg 2 razy dziennie lub lewofloksacyna 500 mg 1 raz dziennie. Można również stosować leki II rzutu: podanie dożylne jednorazowej dawki długo działającego antybiotyku – ceftriakson 1 g lub gentamycyna 240 mg. Po uzyskaniu wyników posiewu moczu i antybiogramu modyfikuje się antybioptykoterapię. Zaleca się odpoczynek w łóżku, odpowiednie nawodnienie, podanie leków przeciwgorączkowych i przeciwbólowych.

Ostre zapalenie pęcherza moczowego u pacjentów innych niż młode kobiety nie będące w ciąży, u których istnieje duże ryzyko bezobjawowego (utajonego) zajęcia procesem chorobowym nerek lub gruczołu krokowego – ten rodzaj zakażenia dotyczy: kobiet w ciąży, mężczyzn, osób starszych, chorych na cukrzycę, pacjentów po niedawno przebytym zabiegu/operacji urologicznej, osób z nawracającymi ZUM, chorych z utrzymującymi się objawami klinicznymi powyżej 7 dni od rozpoczęcia leczenia. Przed włączeniem antybiotykoterapii należy pobrać mocz na posiew. Rutynowe wykonywanie kontrolnego posiewu po zakończonym leczeniu nie jest zalecane, wyjątek stanowią kobiety w ciąży i chorzy z utrzymującymi się objawami klinicznymi ZUM. Farmakoterapia obejmuje takie same leki jak u pacjentów z niepowikłanym zapaleniem pęcherza moczowego lub można włączyć: 2 razy dziennie 960 mg kotrimoksazolu (trimetoprim + sulfametoksazol) przez 5 dni lub jednorazowo 3 g fosfomycyny lub fluorochinolony (ofloksacyna, cyprofloksacyna, lewofloksacyna w odpowiednich dawkach przez 5 dni) lub antybiotyki β-laktamowe (amoksycylina z kwasem klawulanowym, cefaklor w odpowiednich dawkach przez 5–7 dni).

Zapalenie gruczołu krokowego jest u mężczyzn częstą przyczyną nawrotów ZUM. Rozpoznanie ustala się na podstawie objawów klinicznych – dolegliwości bólowych okolicy krocza, stercza, moszny lub jąder, oraz dodatkowo wyników posiewu moczu pobranego bezpośrednio po masażu gruczołu krokowego ze środkowego strumienia. W badaniu palpacyjnym *per rectum* stwierdza się bolesny,

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

tkliwy gruczoł krokowy. Przewlekłe zapalenie gruczołu krokowego rozpoznawane jest wtedy, gdy objawy kliniczne utrzymują się przez okres dłuższy niż 12 tygodni. U mężczyzn z nawrotem ZUM i zapaleniem gruczołu krokowego stosuje się doustnie fluorochinolony w odpowiednich dawkach przez 4–6 tygodni.

Powikłane ZUM to zakażenie, które dotyka osób z anatomicznymi lub czynnościowymi zaburzeniami w odpływie i oddawaniu moczu bądź chorych z upośledzeniem miejscowych lub ogólnoustrojowych mechanizmów odpornościowych. Choroba może być wywołana drobnoustrojami innymi niż *Escherichia coli*, dlatego u każdego pacjenta należy wykonać posiew moczu. Stany kliniczne zakwalifikowane do grupy powikłanych ZUM to: obecność przeszkody w układzie moczowym (spowodowanej obecnością złogów, guzów, zwężeń, uchyłków pęcherza moczowego, torbieli nerek, przetok, przerostu gruczołu krokowego), zaburzenia czynnościowe (neurogenny pęcherz moczowy, refluks pęcherzowo-moczowodowy), obecność ciał obcych w drogach moczowych (cewnika, stentu moczowodowego, nefrostomii), choroby nerek lub inne czynnościowe lub anatomiczne patologie układu moczowego, zakażenia górnego odcinka dróg moczowych (oprócz młodych zdrowych kobiet), stan po transplantacji nerki, stosowanie immunosupresji, rozpoznanie wielolekoopornych patogenów, zakażenie szpitalne. Czynniki ryzyka powikłanego ZUM to: płeć męska, ciąża, połóg, cukrzyca i podeszły wiek. Diagnozę stawia się na podstawie obrazu klinicznego. Przebieg chorobowy może być skrajnie zróżnicowany: od łagodnego zapalenia pęcherza moczowego, do ciężkiej urosepsy włącznie. Do miejscowych objawów rozpoznawanych w ZUM dolnego odcinka dróg moczowych (zapalenie pęcherza moczowego) należą: częstomocz, bolesne parcia na mocz, dyzuria, nykturia oraz mimowolne (głównie u starszych kobiet z wypadaniem macicy) oddawanie moczu. W ZUM górnego odcinka (OOZN) występują dodatkowo objawy ogólne: gorączka, dreszcze, bóle okolicy lędźwiowej i bóle brzucha, czasem nudności lub wymioty. Ponadto stwierdza się dodatni objaw Goldflama.

W przypadku rozpoznania lub podejrzenia powikłanego ZUM należy zlecić:

- podstawowe badania laboratoryjne – morfologię krwi obwodowej, CRP, badanie ogólne moczu,
- ocenę czynności nerek – badanie kreatyniny i wskaźnika filtracji kłębuszkowej (*glomerular filtration rate* – GFR),
- posiewy moczu,
- USG jamy brzusznej w celu wykluczenia obecności przeszkody w odpływie moczu (np. wad wrodzonych układu moczowego, kamicy, ureterohydronefrozy, torbieli nerek, zalegania moczu po mikcji) lub rozpoznania powikłań (ropnia okołonerkowego lub ropnia nerki),
- wskazaniem do wykonania TK lub RM jamy brzusznej jest podejrzenie zmian ropnych lub martwiczych w obrębie nerek: ropnia okołonerkowego, ropnia nerki, roponercza, zgorzelinowego odmiedniczkowego zapalenia nerek, martwicy brodawek nerkowych.

Terapia empiryczna opiera się na takich samych zasadach jak w niepowikłanych OOZN i powinna trwać średnio 7–21 dni. Zalecane leki w powikłanym ZUM to: fluorochinolony, aminopenicyliny z inhibitorem β-laktamazy, cefalosporyny III generacji (cefotaksym, ceftriakson), aminoglikozydy. Po 48–72 godzinach leczenie należy modyfikować zgodnie z wynikiem posiewu moczu i antybiogramu. W razie niedostępności wyników posiewu moczu lub nieskuteczności leczenia empirycznego rekomendowane jest podanie antybiotyków o szerokim spektrum działania i aktywności wobec bakterii z rodzaju *Pseudomonas* lub *Proteus* (cefalosporyny III generacji, piperacylina/tazobaktam, karbapenemy lub karbapenemy w połączeniu z aminoglikozydem).

Bardzo często wskazana jest interwencja urologiczna, mająca na celu usunięcie przeszkody w odpływie moczu lub innych nieprawidłowości w drogach moczowych.

Hospitalizację zaleca się u chorych z niewydolnością nerek, nieprawidłowościami w obrębie dróg moczowych, współistnieniem chorób upośledzających odporność, kobiet w ciąży, przy braku współ-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

pracy ze strony pacjenta, współistnieniem innej ciężkiej choroby oraz nasileniem dolegliwości mimo włączonego leczenia lub wątpliwości diagnostycznych.

Bezobjawowy bakteriomocz, czyli znamienny bakteriomocz to dodatni wynik posiewu moczu u osoby bez jawnych objawów klinicznych ZUM.

Bezobjawowy bakteriomocz to obecność w prawidłowo pobranej próbce moczu:

- tego samego drobnoustroju w mianie $\geq 10^5$ CFU/ml w 2 kolejnych próbkach moczu u kobiet,
- jednego drobnoustroju w mianie $\geq 10^5$ CFU/ml w jednej próbce moczu u mężczyzn,
- jednego drobnoustroju w mianie $\geq 10^2$ CFU/ml w próbce moczu uzyskanej za pomocą jednorazowego cewnikowania pęcherza moczowego.

Bezobjawowy bakteriomocz najczęściej występuje u chorych na cukrzycę, osób przebywających w domach opieki społecznej oraz chorych dializowanych.

Stanowi wskazanie do antybiotykoterapii celowanej u kobiet w ciąży, u pacjentów przed planowanym zabiegiem/operacją urologiczną, a także u dzieci z podejrzeniem wady układu moczowego.

Nie należy stosować antybiotyków u następujących chorych z bezobjawowym bakteriomoczem: kobiet nie będących w ciąży, chorych na cukrzycę, osób w podeszłym wieku, chorych z uszkodzeniem rdzenia kręgowego, chorych z cewnikiem w drogach moczowych.

Choroby weneryczne

Choroby weneryczne to choroby zakaźne przenoszone drogą płciową; do zarażenia dochodzi poprzez kontakt seksualny z osobą chorą lub nosicielem (bardzo rzadko poprzez korzystanie z tych samych przedmiotów). Mogą być wywoływane przez bakterie, wirusy, grzyby lub pasożyty. W tabeli VII.5 przedstawiono główne czynniki etiologiczne chorób wenerycznych.

Tabela VII.5. Najważniejsze czynniki etiologiczne chorób wenerycznych

Etiologia	Drobnoustrój	Choroba
Bakteryjna	*Treponema pallidum*	kiła
	Neisseria gonorrhoeae	rzeżączka
	Chlamydia trachomatis	ziarniniak weneryczny nierzeżączkowe zapalenie cewki moczowej śluzowo-ropne zapalenie szyjki macicy
	Haemophilus ducreyi	wrzód miękki
Grzybicza	*Candida albicans*	kandydoza narządów płciowych
Wirusowa	*herpes simplex virus* (HSV)	opryszczka narządów płciowych
	human papilloma virus (HPV)	kłykciny kończyste
	human immunodeficiency virus (HIV)	zespół nabytego niedoboru odporności (AIDS)
Pierwotniakowa	*Trichomonas vaginalis*	rzęsistkowica

1. Kiła

Czynnik etiologiczny

Treponema pallidum (krętek blady) wywołuje kiłę. Są to długie, cienkie, przypominające korkociąg bakterie, poruszające się ruchem rotacyjnym dookoła dłuższej osi. Nie barwią się metodą Grama. Można je obserwować *in vivo* z użyciem mikroskopu w ciemnym polu widzenia. Należą do drobnoustrojów względnie beztlenowych. Nie można ich hodować w warunkach *in vitro* (na podłożach lub hodowlach tkankowych), namnażają się wyłącznie w warunkach *in vivo* (na zwierzętach). Podstawą diagnostyki laboratoryjnej kiły są metody serologiczne, polegające na poszukiwaniu przeciwciał przeciwkrętkowych w surowicy krwi.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Patogeneza

Zakażenie przenosi się przez bezpośredni kontakt seksualny (kiła nabyta) lub przez łożysko od chorej matki na płód (kiła wrodzona) oraz przypadkowo w wyniku przetoczenia zainfekowanej krwi lub kontaktu z nią (do zakażenia dochodzi w wyniku bezpośredniego kontaktu z materiałem zawierającym *Treponema pallidum*). Wrotami zakażenia są błony śluzowe lub uszkodzona skóra. Kiła nie jest wysoce zakaźna, ryzyko infekcji w czasie jednorazowego kontaktu seksualnego wynosi 30% i dotyczy głównie partnerów seksualnych ze zmianą pierwotną. Chorują wyłącznie ludzie. Okres wylęgania wynosi 2–4 tygodnie. Krętki mnożą się w miejscu wniknięcia, przedostają się do lokalnych węzłów chłonnych i dalej do krwiobiegu, gdzie wiążą się z białkami powierzchniowymi komórek, głównie komórek śródbłonka naczyń, indukując reakcję zapalną. Stan zapalny błony wewnętrznej naczyń, główny mechanizm uszkadzający w kile, może prowadzić do rozległej martwicy tkanek.

Postacie kliniczne i objawy kiły nabytej

Kiła jest przewlekłym zakażeniem ogólnoustrojowym. Przebieg jest różny: od całkowicie bezobjawowego – o zakażeniu świadczą jedynie dodatnie wyniki odczynów serologicznych – do choroby (kiła objawowa) przejawiającej się kolejnymi charakterystycznymi zmianami klinicznymi o różnym nasileniu.

W przebiegu kiły objawowej wyróżnia się kilka okresów:

- stadium I (kiła pierwszorzędowa, kiła pierwotna) – obecność zmiany pierwotnej; po 3–4 tygodniach od zakażenia w miejscu wniknięcia krętków pojawia się zmiana pierwotna (szankier, wrzód pierwotny, wrzód twardy), czyli pojedyncze, niebolesne, okrągłe lub owalne twarde ognisko, które przekształca się w owrzodzenie z odczynem ze strony okolicznych węzłów chłonnych; zmiana ta zawiera bardzo dużą liczbę krętków (jest miejscem namnażania bakterii) i jest wysoce zakaźna; po około 2 tygodniach–2 miesiącach samoistnie zanika bez pozostawienia blizny; około 75% chorych zostaje wyleczonych w tym stadium; u pozostałych 25% rozwija się kiła drugorzędowa; z wrzodu pierwotnego namnożone krętki rozprzestrzeniają się po organizmie drogą limfatyczną i krwionośną;
- stadium II (kiła drugorzędowa) – uogólnienie choroby; objawy pojawiają się po 4–8 tygodniach od zaniku zmiany pierwotnej; do typowych symptomów ogólnoustrojowych należą: stany podgorączkowe, gorączka, bóle głowy, bóle mięśni, wysypka plamisto-grudkowa na całej powierzchni skóry, wysypka na błonach śluzowych w postaci odbarwionych plam lub kłykcin płaskich (brodawkowatych nieuszypułowanych wykwitów), powiększenie węzłów chłonnych i łysienie kiłowe (nieregularne łysienie, które wyglądem przypomina futro wygryzione przez mole); zmiany (wykwity) na skórze i błonach śluzowych są wysoce zakaźne; wysypka może pojawić się jednorazowo, w dwóch lub w kilku rzutach; u około 15–20% pacjentów kiła drugorzędowa przechodzi w kiłę utajoną, a następnie w kiłę trzeciorzędową;

Stadia I i II są określane jako kiła wczesna.

- kiła utajona – brak objawów klinicznych i dodatnie wyniki odczynów serologicznych; w zależności od czasu, jaki upłynął od pojawienia się zmiany pierwotnej, kiła utajona może dotyczyć okresu: wczesnego – kiła utajona wczesna (do 4 lat od zakażenia), i późnego – kiła utajona późna (powyżej 4 lat od zakażenia);
- stadium III (kiła trzeciorzędowa, kiła późna) – występowanie nieodwracalnych zmian martwiczo-degeneracyjnych: kilaki na skórze, błonach śluzowych i w narządach wewnętrznych; zmiany mogą być wysoce zakaźne albo nie wykazują zakaźności; objawy kliniczne zależą od tkanek i narządów objętych procesem chorobowym: kiła sercowo-naczyniowa objawia się zarostowym zapaleniem błony wewnętrznej naczyń, kiłowym zapaleniem aorty, może pojawić się tętniak aorty; kiła układu nerwowego – obserwuje się dwie główne postacie: kiłę opono-naczyniową, czyli zarostowe zapalenie błony wewnętrznej małych oponowych naczyń krwionośnych mózgu i rdzenia kręgowego, oraz

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

kiłę miąższową, czyli zniszczenie komórek nerwowych kory mózgu i rdzenia kręgowego (wiąd rdzenia); pojawiają się zaburzenia mięśniowo-kostne w następstwie zmian neurologicznych, otępienie umysłowe, utrata wzroku; objawy kliniczne mogą się nakładać i dawać różnorodny obraz kliniczny, stąd kiła określana jest mianem „wielkiego naśladowcy"; w tym stadium choroby leczenie jest nieskuteczne.

Kiła wrodzona

Rozwija się w wyniku przeniesienia drobnoustrojów z matki na płód. Po ukończeniu 16 tygodnia ciąży *Treponema pallidum* mogą przechodzić przez łożysko i zakażać płód. Często (25% przpadków) kończy się to obumarciem płodu (poronieniem), zgonem dziecka zaraz po urodzeniu (25%) lub urodzeniem dziecka z poważnymi wadami rozwojowymi (50% przypadków). Bezpośrednio po urodzeniu stwierdza się: opóźnienie rozwoju wewnątrzmacicznego, występowanie surowiczego wycieku z nosa, powiększenie węzłów chłonnych, wątroby i/lub śledziony, żółtaczkę, zaburzenia w budowie układu kostnego oraz zmiany budowy twarzoczaszki (karbowane zęby, siodełkowaty nos, mikroszczęka, obecność guzów czołowych); obserwuje się występowanie tzw. triady Hutchinsona: karbowane zęby, śródmiąższowe zapalenie rogówki i głuchotę.

Diagnostyka laboratoryjna (badanie mikrobiologiczne)

Polega na pobraniu materiału ze zmiany pierwotnej (kiła pierwszorzędowa), z wykwitów skórnych (kiła drugorzędowa) lub z bioptatów węzłów chłonnych, następnie izolacji *Treponema pallidum* i obserwacji ruchu żywych bakterii w mikroskopie w ciemnym polu widzenia lub bezpośredniej immunofluorescencji. Obydwie metody pozwalają błyskawicznie postawić diagnozę, ale są pracochłonne i bazują na subiektywnej ocenie, dając duży odsetek wyników fałszywie ujemnych. Obecnie nie są rutynowo wykonywane.

Testy serologiczne

Wykrywają przeciwciała przeciwkrętkowe. Poszukuje się dwóch grup przeciwciał: przeciwciała antyfosfolipidowe określane jako reaginy kiłowe oraz przeciwciała antykrętkowe.
Odczyny serologiczne dzielimy na dwa zasadnicze rodzaje:

- odczyny klasyczne (nieswoiste, niekrętkowe, standardowe)
- odczyny krętkowe (swoiste).

Klasyczne (nieswoiste) odczyny kiłowe wykrywają reaginy kiłowe – przeciwciała klasy IgG i IgM, skierowane przeciwko lipidom uwalnianym z uszkodzonych tkanek we wczesnych stadiach choroby. Odczyny klasyczne jako antygen wykorzystują kardiolipinę (lipidowy wyciąg z mięśnia serca wołu). Przeciwciała antyfosfolipidowe wzbudzane przez *Treponema pallidum* i pojawiające się w surowicy chorego reagują krzyżowo z kardiolipiną.
Do klasycznych (nieswoistych) odczynów kiłowych należą testy kłaczkujące (flokulacyjne): VDRL i USR. Wykrywają zarówno przeciwciała klasy IgG, jak i IgM. Stosowane są jako testy jakościowe i ilościowe. Reakcja dodatnia pojawia się w okresie 4–6 tygodni od zakażenia i może utrzymywać się przez 6–18 miesięcy od wyleczenia. Przy braku leczenia najwyższe miana przeciwciał osiągają między 1 i 2 rokiem od zakażenia i pozostają dodatnie, w niskich mianach (stężeniach przeciwciał) w późnym okresie choroby. Miana odczynów klasycznych korelują z aktywnością choroby, służą do monitorowania przebiegu kiły i oceny skuteczności leczenia, dlatego wyniki odczynów należy podawać ilościowo.

- Odczyn VDRL (Venereal Disease Research Laboratories):
  - wymaga inaktywacji surowicy badanej (unieczynnienie dopełniacza poprzez ogrzanie do temperatury 50–60°C przez 30 minut),
  - wysoka czułość i swoistość odczynu,

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

  - łatwość wykonania,
  - odczyn jakościowy określający intensywność skłaczenia, tzw. mikroaglutynacji (określany w skali od – [ujemny wynik, czyli brak skłaczenia] do 4+ [intensywność skłaczenia określana w liczbie plusów]),
  - odczyn ilościowy – miano stanowi największe rozcieńczenie surowicy dające jeszcze wyniki dodatnie; odznacza się bardzo dobrą powtarzalnością.
- Odczyn USR (*unheated serum reagin* (*test*)), czyli odczyn RPR (*rapid plasma regain* (*test*)):
  - szybki odczyn reaginowy,
  - nie trzeba inaktywować surowicy badanej; przez dodanie chlorku choliny zostaje unieczynniony dopełniacz obecny w surowicy pacjenta,
  - łatwość wykonania,
  - bardziej czuły niż VDRL i mniej swoisty niż VDRL.

Wykonując odczyny klasyczne, należy pamiętać, że możemy otrzymywać wyniki fałszywie dodatnie (odczyny biologicznie mylne), występujące u osób, które nie przeszły zakażenia krętkowego. Częstość tych odczynów wynosi około 1%. Odczyny biologicznie mylne stwierdzane przez okres krótszy niż 6 miesięcy to odczyny typu ostrego, a w okresie dłuższym niż 6 miesięcy noszą nazwę odczynów typu przewlekłego.

Najczęstsze przyczyny występowania odczynów fałszywie dodatnich typu ostrego to: odczyny poszczepienne, wczesny okres po zawale mięśnia sercowego, choroby zakaźne przebiegające z gorączką, takie jak choroby wirusowe (grypa, mononukleoza zakaźna, ospa wietrzna, półpasiec, odra, wirusowe zapalenie płuc, mózgu lub wątroby) lub malaria oraz ciąża.

Najczęstsze przyczyny występowania odczynów fałszywie dodatnich typu przewlekłego to: choroby autoimmunologiczne, choroby tkanki łącznej, zakażenie wirusem HIV, choroby nowotworowe w zaawansowanych stadiach, przewlekłe uszkodzenia wątroby, stosowanie dożylnych środków odurzających.

Weryfikację wszystkich wątpliwych i dodatnich wyników odczynów co do swoistości zakażenia kiłowego przeprowadza się ostatecznie na podstawie odczynów swoistych.

Swoiste (krętkowe) odczyny kiłowe jako antygen wykorzystują *Treponema pallidum*: zabite lub żywe szczepy krętka bladego, rekombinowane antygeny krętkowe. Odczyny te wykrywają przeciwciała klasy IgM i IgG.

Do swoistych odczynów należą:

- odczyn immunofluorescencyjny (*fluorescent treponemal antibody* – FTA) – opiera się na immunofluorescencji pośredniej; antygenem są zabite krętki (szczepu Nicholsa), które umieszcza się na szkiełku; utrwalone na szkiełku podstawowym krętki blade nawarstwia się surowicą pacjenta; związane przeciwciała przeciwkrętkowe wykrywa się za pomocą znakowanych fluoresceiną antyludzkich przeciwciał; modyfikacją tego odczynu jest odczyn FTA-ABS (*fluorescent treponemal antibody absorption* (*test*)), czyli test immunofluorescencji krętków w modyfikacji absorpcyjnej z krętkami Reitera; polega on na wstępnej absorpcji surowicy ultrasonatem krętków szczepu Reitera i dalej przebiega identycznie jak odczyn FTA; odczyn FTA-ABS-IgM jest wykonywany jak wyżej, różnica polega na zastosowaniu znakowanych fluoresceiną antyludzkich przeciwciał skierowanych przeciwko przeciwkrętkowym IgM; przydatny do wykrywania kiły wrodzonej u noworodków;
- odczyn hemaglutynacji (*Treponema pallidum hemagglutination assay* – TPHA) – test hemaglutynacji, coraz częściej zastępowany przez odczyn hemaglutynacji biernej (*Treponema pallidum passive particle agglutination* (*test*) – TP-PA); polega na zastosowaniu erytrocytów barana opłaszczonych ultrasonatem krętków (antygenami są rozbite ultradźwiękami krętki szczepu Nicholsa), które reagują z przeciwciałami przeciwkrętkowymi w surowicy pacjenta, dając reakcję hemaglutynacji;

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

- odczyn unieruchamiania krętków (*Treponema pallidum immobilization* (test) – TPI, odczyn immobilizacyjny, odczyn Nelsona i Mayera) – unieruchamianie żywych krętków (szczepu Nicholsa) w obecności przeciwciał przeciwkrętowych występujących w surowicy pacjenta; odczyn TPI nie jest obecnie stosowany w diagnostyce;
- inne: krętkowy test immunoenzymatyczny (*treponemal* EIA), test z zastosowaniem chemiluminescencji (*chemiluminescence immunoassay* – CIA), bardzo rzadko wykonywany IgG immunoblot dla *Treponema pallidum* lub IgM immunoblot dla *Treponema pallidum*.

Odczyny swoiste wykonuje się w surowicy krwi pacjenta w celu stwierdzenia bądź wykluczenia obecności przeciwciał przeciwkiłowych; stają się pozytywne w 1–2 tygodniu od pojawienia się zmiany pierwotnej i u większości pacjentów pozostają dodatnie do końca życia. Z tego względu nie powinny być stosowane do oceny aktywności choroby ani kontroli po leczeniu. Różnią się techniką wykonania, czułością, swoistością oraz możliwością ich wykorzystania w różnych rodzajach kiły, na różnych etapach zakażenia kiłowego. Biologicznie mylne, czyli fałszywie dodatnie odczyny swoiste można obserwować w schorzeniach autoimmunologicznych, chorobach tkanki łącznej, boreliozie i ciąży.
Dodatni wynik odczynu krętkowego można potwierdzić lub wykluczyć za pomocą IgG immunoblot dla *Treponema pallidum*.

Zastosowanie odczynów serologicznych w diagnostyce kiły

W kile pierwszorzędowej i drugorzędowej zarówno odczyny nieswoiste, jak i swoiste dają wyniki dodatnie u prawie 100% zakażonych. W kile trzeciorzędowej odczyny swoiste są dodanie, ponadto stwierdza się niskie miana przeciwciał antyfosfolipidowych wykrywanych w odczynach klasycznych.
Ilościowe odczyny VDRL i USR są stosowane do monitorowania progresji choroby i oceny skuteczności leczenia.
W diagnostyce kiły wrodzonej wykorzystuje się odczyny krętkowe wykrywające przeciwciała klasy IgM: FTA-ABS-IgM, EIA-IgM, IgM immunoblot dla *Treponema pallidum*.
Zastosowanie testów serologicznych przedstawiono w tabeli VII.6.

Tabela VII.6. Praktyczne zastosowanie testów serologicznych w diagnostyce kiły

Zastosowanie testów serologicznych w kile	
Badanie przesiewowe	TPHA, TP-PA, EIA, CIA, VDRL, USR
Wstępna diagnostyka	TPHA, TP-PA, FTA-ABS, VDRL, USR
Diagnostyka specjalna	VDRL (ilościowo), USR (ilościowo), 19S- FTA-ABS
Monitorowanie leczenia	VDRL (ilościowo), USR (ilościowo)

Leczenie

Lekiem z wyboru w leczeniu kiły jest penicylina (najczęściej penicylina G), natomiast alternatywnie można stosować doksycyklinę lub erytromycynę. Schematy leczenia (dawka i czas trwania terapii) zależą od stadium choroby. Przykładowo pojedyncza, wysoka dawka penicyliny podana domięśniowo pozwala na wyleczenie pacjenta, który choruje krócej niż rok. Pacjenci, u których choroba trwa dłużej niż rok, otrzymują penicylinę raz w tygodniu przez 3 tygodnie. Pacjenci w późnym stadium choroby muszą być hospitalizowani i otrzymują penicylinę dożylnie we wlewie stałym przez 10 dni.
Powikłaniem związanym z zastosowanym leczeniem może być reakcja Jarischa i Herxheimera występująca po podaniu penicyliny i charakteryzująca się spadkiem ciśnienia tętniczego krwi, sinicą, wysoką gorączką i dreszczami. Objawy są związane z szybkim rozpadem (po podaniu antybiotyku) krętków i uwolnieniem produktów ściany komórkowej bakterii, których właściwości są podobne do endotoksyn. Symptomy mogą przypominać wstrząs anafilaktyczny, jednak w przypadku reakcji

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Jarischa i Herxheimera występuje gorączka; ponadto przed podaniem penicyliny każdorazowo wykonuje się próbę uczuleniową.
Leczenie kiły wrodzonej schematycznie przypomina leczenie kiły nabytej. Włącza się je w każdym potwierdzonym przypadku zakażenia oraz w sytuacjach, kiedy jest ono wysoce prawdopodobne, a matka nie była leczona przed porodem.

2. Rzeżączka

Czynnik etiologiczny

Neisseria gonorrhoeae (gonokok, dwoinka rzeżączki) wywołuje rzeżączkę. Należy do ziarenkowców Gram-ujemnych, komórki mają kształt ziarenek kawy, łączą się w pary, występując w postaci dwoinek. Są to bakterie tlenowe, nie wytwarzają zarodników i nie są zdolne do ruchu. Mają wysokie wymagania odżywcze. Rosną na agarze czekoladowym wzbogaconym skrobią, w temperaturze 37°C, w atmosferze wzbogaconej w 5–10% CO_2. Do czynników determinujących chorobotwórczość należą: fimbrie odpowiadające za przyleganie do komórek nabłonkowych, zewnętrzne białka błonowe typu I związane z inwazyjnością i rozprzestrzenianiem się zakażenia oraz typu II (białka Opa) umożliwiające przyleganie do komórek nabłonkowych oraz chroniące przed fagocytozą, proteaza IgA – enzym rozszczepiający przeciwciała IgA i tym samym zabezpieczający bakterie przed niszczącym działaniem tych przeciwciał, lipooligosacharyd (LOS) będący elementem ściany komórkowej i składający się z lipidu A o aktywności endotoksyny i oligosacharydu rdzeniowego.

Patogeneza

Zakażenie przenosi się przez kontakty seksualne (bardzo rzadko do transmisji dochodzi poprzez kontakt z przedmiotami – ręcznikami, pościelą, toaletą). Dwoinki rzeżączki przylegają do powierzchni komórek nabłonkowych dróg moczowo-płciowych, odbytu i gardła, a następnie wnikają do komórek nabłonka. Dalej gonokoki mogą rozprzestrzeniać się u mężczyzn z cewki moczowej na prostatę i najądrze (stąd też powikłaniem mogą być odpowiednio zapalenia prostaty lub najądrza i jądra), natomiast u kobiet zakażenie szerzy się na jajowody i jamę otrzewnową.
Zakażenie może mieć charakter miejscowy lub bardzo rzadko uogólniony. Objawy są różne zależnie od płci.

- Zakażenie miejscowe u mężczyzn występuje pod postacią zapalenie cewki moczowej z charakterystycznym samoistnym wyciekiem ropnej wydzieliny z cewki moczowej (objaw wiszącej kropli) i zaburzeniami w oddawaniu moczu (częste i bolesne oddawanie moczu). Powikłania to zapalenie prostaty, najądrza i jądra, rzadko rozsiane zakażenie.
- Zakażenie miejscowe u kobiet często przebiega bezobjawowo. W pozostałych przypadkach charakteryzuje się zapaleniem pochwy i szyjki macicy oraz zapaleniem cewki i pęcherza moczowego wraz z wysiękiem śluzowo-ropnym oraz zaburzeniami w oddawaniu moczu. Rzadkimi powikłaniami jest zapalenie miednicy, okolicy odbytu lub rozsiane zakażenie. Zapalenie miednicy występuje u około 10% kobiet z rzeżączką i cechuje się tkliwością lub bolesnością podbrzusza. Powikłaniami są: ostre zapalenie jajowodów, jajników, otrzewnej lub przewlekły stan zapalny miednicy, co z kolei może prowadzić do niedrożności jajowodów i niepłodności lub podwyższonego ryzyka ciąży pozamacicznej.
- Uogólnione (rozsiane) zakażenie występuje u około 1% przypadków zakażenia *Neisseria gonorrhoeae* na skutek rozsiewu drogą krwionośną i prowadzi do ropnego zapalenia stawów, zapalenia pochewek ścięgien, zmian skórnych, rzadziej do zapalenia wsierdzia, opon mózgowo-rdzeniowych lub szpiku kostnego. Rozsiane zakażenie jest częstsze u kobiet, gdzie w 80% przypadków jest następstwem miejscowej bezobjawowej infekcji.
- Noworodkowe rzeżączkowe zapalenie gałki ocznej objawia się najczęściej zapaleniem spojówek. Do zakażenia dochodzi podczas przechodzenia dziecka przez kanał rodny. Aby zapobiec infekcji

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

wykonuje się zabieg Credego, polegający na podaniu do worka spojówkowego 1-proc. roztworu azotanu srebra. Opcjonalnie w profilaktyce można zastosować antybiotyki – zakropić oczy roztworem tetracykliny lub podać erytromycynę w maści.

Diagnostyka

- Identyfikacja na podstawie preparatu bezpośredniego barwionego metodą Grama, wykonanego u kobiet z wymazu z szyjki macicy/pochwy, natomiast u mężczyzn z wymazu z ujścia cewki moczowej. Polega na wykazaniu Gram-ujemnych dwoinek obecnych wewnątrz leukocytów.
- Bezpośrednia immunofluorescencja za pomocą znakowanych barwnikiem fluorescencyjnym przeciwciał przeciwko *Neisseria gonorrhoeae* obecnej w materiale pobranym od pacjentów.
- Metody hodowlane – posiew wydzieliny z macicy/pochwy lub cewki moczowej na agarze czekoladowym lub podłożu Thayera i Martina.

Leczenie

W infekcjach miejscowych stosuje się fluorowane chinolony lub cefalosporyny (cefiksym) doustnie. W rozsianych zakażeniach cefalosporyny pozajelitowo, najczęściej ceftriakson lub cefotaksym.

3. Chlamydioza

Chlamydioza jest wywoływana przez *Chlamydia trachomatis*. Są to bakterie, które mogą przeżyć tylko wewnątrz komórki gospodarza (bezwzględne pasożyty wewnątrzkomórkowe). Ich ściana komórkowa nie zawiera peptydoglikanu, ale w składzie występuje lipopolisacharyd (LPS). Bakterie nie rosną na podłożach sztucznych i nie są wrażliwe na antybiotyki β-laktamowe.
Zakażenie przebiega pod postacią:

- ziarniniaka wenerycznego (ziarnicy wenerycznej pachwin) – zmiana grudkowo-pęcherzykowa, czasem wrzodziejąca; bolesne i częste oddawanie moczu, powiększenie węzłów chłonnych pachwinowych, gorączka;
- niegonokokowego zapalenia cewki moczowej – śluzowo-ropna, skąpa wydzielina z cewki moczowej; bolesne i częste oddawanie moczu; powikłania to zapalenie najądrzy i zespół Reitera (zapalenie stawów, spojówek i błony naczyniowej gałki ocznej wraz z objawami śluzówkowo-skórnymi objawiającymi się 1–4 tygodnie od zapalenia cewki moczowej);
- śluzowo-ropnego zapalenia szyjki macicy – śluzowo-ropne upławy; powikłaniem może być zapalenie narządów miednicy małej.

W diagnostyce najczęściej stosuje się immunofluorescencję bezpośrednią lub testy immunoenzymatyczne z wykorzystaniem przeciwciał wykrywających antygeny *Chlamydia trachomatis* w wymazach z cewki moczowej lub szyjki macicy.
Leczenie z zastosowaniem doksycykliny lub erytromycyny.

4. Wrzód miękki

Zakażenia wywołane przez *Haemophilus ducreyi* (pałeczkę Gram-ujemną), charakteryzujące się bolesnymi owrzodzeniami okolicy narządów płciowych oraz powiększeniem regionalnych węzłów chłonnych. Leczenie sulfonamidami lub aminoglikozydami.

5. Kandydoza

Głównym czynnikiem etiologicznym zakażeń grzybiczych są drobnoustroje z rodzaju *Candida*, głównie *Candida albicans.* Zakażenie najczęściej dotyczy kobiet i przebiega pod postacią drożdżycy pochwy z serowatymi, białymi upławami oraz świądem i bolesnością w okolicy pochwy, czasem z towarzyszącymi zaburzeniami w oddawaniu moczu. U mężczyzn występuje zaczerwienienie i obrzęk okolicy żołędzi prącia i napletka. Rozpoznawanie na podstawie obrazu klinicznego i wymazów ze zmienionych miejsc oraz posiewów na podłożu Sabourauda. W terapii stosuje się leki przeciwgrzybicze

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

miejscowo (klotrimazol, ikonazol, ekonazol, tiokonazol) lub doustnie (flokonazol, ketokonazol, intrakonazol).

6. Opryszczka narządów płciowych

Zakażenie wirusowe wywoływane przez HSV (*herpes simplex virus*), najczęściej typu II (rzadziej typu I), charakteryzujące się bolesnymi, pęcherzykowo-wrzodziejącymi zmianami zlokalizowanymi na skórze i błonach śluzowych zewnętrznych narządów płciowych. Objawy ustępują po 7–10 dniach. Po okresie zakażenia pierwotnego wirus opryszczki pospolitej lokalizuje się w zwoju krzyżowym, dlatego choroba charakteryzuje się nawrotami.

7. Kłykciny kończyste

Zakażenie ludzkim wirusem brodawczaka (*human papilloma virus*) powoduje pojawienie się charakterystycznych, niebolesnych, zakaźnych kłykcin kończystych (*condylomata acuminata*) w okolicy zewnętrznych narządów płciowych: u kobiet pochwy i okolicy krocza, u mężczyzn najczęściej na żołędzi prącia, w rowku zażołędnym i napletku. Infekcja określonymi serotypami HPV zwiększa ryzyko raka szyjki macicy u kobiet i raka prącia u mężczyzn.

8. AIDS

Do zakażenia ludzkim wirusem niedoboru odporności (*human immunodeficiency virus* – HIV) dochodzi przez kontakty płciowe. W efekcie infekcji może rozwinąć się zespół nabytego niedoboru odporności (*acquired immune deficiency syndrome* – AIDS). Szczegółowy opis znajduje się w rozdziale X.

9. Rzęsistkowica

Choroba wywoływana jest przez pierwotniaka rzęsistka pochwowego (*Trichomonas vaginalis*). Zakażenie u kobiet występuje w okolicy pochwy i charakteryzuje się bolesnością, świądem oraz obfitymi, pienistymi, cuchnącymi upławami połączonymi z zaburzeniami w oddawaniu moczu. Infekcja u mężczyzn przebiega zwykle bezobjawowo. Diagnostyka polega na badaniu mikroskopowym pobranej od pacjenta próbki i obserwacji ruchu trofozoitów. Lekiem z wyboru jest metronidazol.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

VIII. Zakażenia skóry i tkanki podskórnej. Sepsa, zakażenia szpitalne i zakażenia w chirurgii

Łukasz Sędek

Zakażenia skóry i tkanki podskórnej

Każde anatomiczne miejsce makroorganizmu, w tym człowieka, jest zasiedlone przez drobnoustroje tworzące tzw. naturalny mikrobiom (dawniej mikroflorę) charakterystyczny pod względem składu dla danego miejsca. Drobnoustroje te są komensalami i pełnią istotne dla człowieka funkcje od zapobiegania adherencji bakterii chorobotwórczych do stymulacji działania układu odpornościowego i syntezy niezbędnych związków (w tym witamin). Makroorganizm natomiast dostarcza mikrobiomowi powierzchni kolonizacyjnej oraz składników odżywczych. Należy pamiętać, że bakterie komensalne, gdy znajdą się w innym niż fizjologiczne miejscu lub przy współdziałaniu pewnych czynników zewnętrznych, mogą stać się patogenne i doprowadzić do rozwoju **zakażenia oportunistycznego**. Nie inaczej jest z bakteriami skórnymi, które są przyczyną zdecydowanej większości zakażeń skóry i tkanki podskórnej. W związku ze swą naturalną lokalizacją bakterie skórne łatwo przenoszą się z osoby na osobę przez bezpośredni kontakt lub poprzez przedmioty codziennego użytku. Mogą one być istotnymi patogenami dla człowieka, wywołując nie tylko infekcje skóry czy tkanki podskórnej, ale także zakażenia stawów, układu moczowego, oddechowego, wsierdzia, szpiku i kości, a nawet sepsę (por. dalej). Czynnikami predysponującymi do takich zakażeń są urazy przenikające skóry powstałe na skutek zranienia, oparzenia, a także na skutek ran powstałych po zabiegach chirurgicznych. Również sam pobyt w szpitalu, zwłaszcza gdy istnieje konieczność długotrwałego utrzymywania cewników naczyniowych lub urologicznych, może wpływać na wystąpienie różnych zakażeń szpitalnych, o których będzie mowa w dalszej części rozdziału dotyczącej zakażeń szpitalnych. Inną przyczyną zakażeń oportunistycznych jest stosowanie antybiotyków (zwłaszcza długotrwałe), w wyniku czego miejsca, w których naturalnie bytują bakterie komensalne, mogą zostać zasiedlone przez oporne bakterie patogenne lub grzyby drożdżopodobne (np. z rodzaju *Candida*). Ostatnią przyczyną zakażeń bakteriami komensalnymi jest stan niedoboru immunologicznego powstałego z różnych przyczyn, takich jak zespoły pierwotnych i wtórnych niedoborów odporności, przewlekły stres, leczenie immunosupresyjne (np. po transplantacji narządu), czy terapia antynowotworowa.

Najliczniejszym przedstawicielem naturalnego mikrobiomu skóry człowieka są bakterie z rodzaju ***Staphylococcus* (gronkowce)**. Zdecydowana większość należy do gronkowców tzw. koagulazoujemnych (*coagulase-negative staphylococci* – CNS, por. dalej) reprezentowanych przez gronkowca skórnego (*Staphylococcus epidermidis*) oraz *Staphylococcus saprophyticus*. Około 15–20% zdrowych dorosłych osób jest nosicielami gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*), co znaczy, że dla tej grupy osób bakteria ta nie jest patogenna. Mimo to gronkowiec złocisty jest uważany za przyczynę większości zakażeń gronkowcowych u ludzi, niekoniecznie związanych z chorobami skóry. *Staphylococcus aureus* poza skórą może też być obecny w nosogardzieli, przedniej części gardła, ujściu dróg moczowo-płciowych i przewodu pokarmowego, a przeniesienie bakterii z tych okolic może skutkować autozakażeniem.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

W skład naturalnego mikrobiomu skóry wchodzi też *Propionibacterium acnes*, zwłaszcza u nastolatków, u których jest jedną z przyczyn trądziku młodzieńczego.
Zakażenia skóry i tkanki podskórnej mogą również wywoływać inne bakterie, które nie bytują naturalnie na skórze, takie jak: paciorkowiec ropotwórczy *(Streptococcus pyogenes)*, pałeczka ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*), laseczka zgorzeli gazowej (*Clostridium perfringens*) czy laseczka wąglika (*Bacillus anthracis*).

1. Najważniejsze bakterie wywołujące zakażenia skóry i tkanki podskórnej

Gronkowce

Gronkowce zalicza się do ziarniaków, tj. bakterii o kształcie kulistym. Natomiast sama nazwa „gronkowce" wzięła się od charakterystycznego obrazu mikroskopowego tych bakterii, które mają tendencję do tworzenia skupisk przypominających kiść winogron. Gronkowce barwią się metodą Grama na kolor fioletowy, są więc bakteriami Gram-dodatnimi. Ważną cechą odróżniającą gronkowce od innych ziarniaków Gram-dodatnich jest wytwarzanie enzymu katalazy, który rozkłada nadtlenek wodoru. Z kolei ważną cechą różnicującą gronkowce jest zdolność lub niezdolność wytwarzania enzymu koagulazy. Bakterie produkujące ten enzym po umieszczeniu w osoczu krwi powodują powstanie skrzepu na skutek przekształcenia fibrynogenu w fibrynę. Jak wspomniano, większość gronkowców nie wytwarza tego enzymu i grupowana jest razem jako gronkowce koagulazoujemne (CNS). Jedynym przedstawicielem koagulazododatnich gronkowców o dużym znaczeniu klinicznym dla człowieka jest *Staphylococcus aureus*.
Gronkowce są naturalnie wrażliwe na antybiotyki β-laktamowe. Istnieją jednak tzw. metycylinooporne (*methicillin resistant* – MR) szczepy gronkowców, które wywołują poważne infekcje u pacjentów hospitalizowanych, ale także poza środowiskiem szpitalnym (por. dalej). Oporność gronkowców MR uwarunkowana jest obecnością genu *mecA*, który koduje zmienioną formę białka wiążącego penicylinę (*penicillin-binding protein* – PBP), do której nie przyłączają się antybiotyki β-laktamowe, w związku z czym synteza ściany komórkowej nie jest przez nie hamowana. Dla oznaczenia tych istotnych z punktu widzenia klinicznego szczepów gronkowców wprowadzono powszechnie używane skróty: MRSA dla gronkowca złocistego (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*), MRCNS dla gronkowców koagulazoujemnych (*methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci*), MRSE dla gronkowca skórnego (*methicillin-resistant Staphylococcus epidermidis*). Dodatkowo w przypadku MRSA istotne jest rozróżnienie pomiędzy szczepami nabytymi w szpitalu (*hospital acquired* MRSA – HA-MRSA) i poza środowiskiem szpitalnym (*community acquired* MRSA – CA-MRSA). Wśród gronkowców złocistych istnieją również szczepy oporne i średniooporne na wankomycynę, oznaczane odpowiednio skrótami VRSA (*vancomycin-resistant Staphylococcus aureus*) i VISA (*vancomycin--intermediate Staphylococcus aureus*). Znaczenie tych lekoopornych szczepów gronkowców oraz możliwości terapeutyczne zostały omówione w dalszej części rozdziału dotyczącej leczenia zakażeń skóry.
Do istotnych mechanizmów warunkujących patogenność bakterii należą: zdolność unikania fagocytozy, wytwarzanie białek ułatwiających przyleganie do tkanek (adhezyn), produkcja toksyn i enzymów hydrolitycznych powodujących uszkodzenie tkanek. Ściana komórkowa może nadawać komórkom bakterii odporność mechaniczną (w tym na zmienne warunki ciśnienia osmotycznego), posiada także właściwości immunogenne. Do najważniejszych czynników zjadliwości gronkowców należą:

- Peptydoglikan – Struktura ta, zbudowana z na przemian ułożonych podjednostek kwasu N-acetylomuraminowego (NAM) i N-acetyloglukozaminy (NAG) stanowi główną część ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich (około 90%). Reszty NAM posiadają boczne odgałęzienie utworzone z kilkuaminokwasowych oligopeptydów, które usieciowane są wiązaniami peptydowymi. U gronkowca złocistego występują unikalne mostki pentaglicynowe dodatkowo sieciujące łańcuchy oligopeptydowe. Peptydoglikan wykazuje aktywność endotoksyczną, stymuluje produkcję endogen-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

nych czynników zapalnych, w tym interleukiny 1 (IL-1) przez monocyty, a także aktywuje dopełniacz i stymuluje agregację neutrofilów.

- Kwasy tejchojowe i lipotejchojowe – Struktury te, będąc kowalencyjnie związane z resztami NAM peptydoglikanu (kwasy tejchojowe) lub z lipidami błony cytoplazmatycznej (kwasy lipotejchojowe), mają zdolność stymulacji specyficznej odpowiedzi humoralnej.
- Białka powierzchniowe odpowiedzialne za adhezję – Z peptydoglikanem gronkowców związane są kowalencyjnie białka powierzchniowe pełniące funkcję adhezyn. Poprzez wiązanie się z białkami macierzy zewnątrzkomórkowej (np. fibrynogenem, fibronektyną, kolagenem) umożliwiają przyleganie bakterii do tkanek gospodarza i ułatwiają im rozprzestrzenianie się. Inne białko adhezyjne – gronkowcowe białko A – ma zdolność wiązania się z receptorem Fc immunoglobulin IgG, tworząc kompleksy immunologiczne, do których następnie wiąże się dopełniacz. Dochodzi wówczas do obniżenia efektywnego stężenia dopełniacza w osoczu, co działa ochronnie. Wspomniana wcześniej koagulaza gronkowca złocistego również zaliczana jest do tej grupy czynników wirulencji i może występować w formie wolnej lub związanej z błoną komórkową. Ta druga postać koagulazy znana jest jako *clumping factor* (CF). Aktywność obydwu form koagulazy zapobiega sfagocytowaniu gronkowców przez makrofagi jako skutek wytworzenia bariery fibrynowej w okolicy ropnia.
- Otoczka – Otoczka śluzowa gronkowców utworzona jest przeważnie z monosacharydów, białek i małych peptydów, natomiast otoczkę polisacharydową wytwarza około 10% gronkowców. Śluz ułatwia adhezję bakterii zarówno do tkanek, jak i tworzyw sztucznych, z których zbudowane są cewniki, implanty, sztuczne zastawki, jest zatem czynnikiem znacznie ułatwiającym kolonizację. Otoczka chroni gronkowce przed fagocytozą ze strony neutrofilów. Z kolei związanie białek dopełniacza (w tym składnika C3) przez otoczkę gronkowców ułatwia fagocytozę przez makrofagi. Proces ten jest jednak zaburzony przez wspomniane wcześniej białko A.
- Toksyny – *Staphylococcus aureus* wytwarza toksyny o aktywności cytolitycznej (α, β, γ, δ, leukocydyna P-V), toksyny eksfoliatywne A i B (epidermolityczne), toksynę zespołu wstrząsu toksycznego 1 (*toxic shock syndrome toxin 1* – TSST-1) oraz liczne enterotoksyny (A–X) odpowiedzialne za zatrucia pokarmowe, które zostały omówione w rozdziale IX.

  Cytotoksyny mają zdolność łączenia się z różnymi składnikami błon komórkowych, powodując ich lizę, mają więc właściwości cytolityczne. Toksyna α łączy się z komponentą lipidową, natomiast toksyna β (zwana też sfingomielinazą C) z fosfolipidami błonowymi. Toksyna γ działa poprzez tworzenie porów w błonie, zwiększając jej przepuszczalność, natomiast toksyna δ działa podobnie do detergentu, rozrywając błony, również te wewnątrzkomórkowe. Cytolizyny gronkowcowe niszczą przede wszystkim erytrocyty i leukocyty, w tym makrofagi, ale także komórki takie jak hepatocyty, płytki krwi i fibroblasty. Uszkodzenia tkanek, jakie towarzyszą chorobom wywoływanym przez gronkowca złocistego, wynikają przynajmniej w części z aktywności wymienionych cytotoksyn. Liza leukocytów prowadzi do uwolnienia ich zawartości, w tym enzymów lizosomalnych, które dodatkowo uszkadzają tkanki. Ponadto aktywność leukocydyny P-V związana jest z ostrymi infekcjami skóry i płuc.

  Toksyny eksfoliatywne (znane są formy A i B) mają aktywność proteaz serynowych, uszkadzających połączenia międzykomórkowe utworzone przez desmogleinę w warstwie ziarnistej naskórka. Toksyny te odpowiedzialne są za tzw. zespół poparzonej skóry (*staphylococcal scalded skin syndrome* – SSSS), chorobę występującą głównie u noworodków i małych dzieci (por. dalej).

  Toksyna TSST-1 jest ciepłostabilnym białkiem, opornym na proteolizę. TSST-1 ma zdolność do penetracji błon śluzowych, co jest bezpośrednią przyczyną infekcji ogólnoustrojowych. Do działania TSST-1 wymagane jest podwyższone stężenie tlenu i obojętne pH, dlatego infekcje ran wywołane przez *Staphylococcus aureus* rzadko prowadzą do zespołu wstrząsu toksycznego (*toxic shock syndrome* – TSS) ze względu na panujące w ranie warunki beztlenowe i kwaśne pH. Zarówno TSST-1, jak i eksfoliatywna toksyna A należą do tzw. superantygenów, tj. cząsteczek mających

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

zdolność nietypowego wiązania się z cząsteczkami głównego układu zgodności tkankowej (*major histocompatibility complex* – MHC) na komórkach prezentujących antygen. Tak związane toksyny są następnie prezentowane limfocytom T i wiążą się z podjednostką β receptorów wielu klonów limfocytów T jednocześnie (pominięta zostaje typowa droga prezentacji poprzez endocytozę i fragmentację antygenu). Prowadzi to do aktywacji limfocytów i uwolnienia dużej ilości cytokin zarówno przez same limfocyty T (IL-2, IFN-γ, TNF-β), jak i makrofagi (IL-1β, TNF-α). Może to być przyczyną spadku ciśnienia tętniczego i objawów wstrząsu, ponadto IL-1β działa pirogennie. Przyczyną śmierci w TSS jest wstrząs hipowolemiczny prowadzący do dysfunkcji wielonarządowej. Szerzej procesy te zostały opisane w dalszej części rozdziału poświęconej sepsie.

- Enzymy – Oprócz wspomnianej wcześniej koagulazy i CF, które zaliczane są do enzymatycznych czynników adhezyjnych, gronkowce wytwarzają inne enzymy prowadzące do hydrolizy tkanek gospodarza, co umożliwia rozprzestrzenianie się bakterii w organizmie. Do enzymów tych należą: hialuronidaza, fibrynolizyna (stafylokinaza), lipaza oraz nukleaza.

Paciorkowce

Paciorkowce (*Streptococcus* spp.) podobnie jak gronkowce to ziarniaki Gram-dodatnie. Nie są typowymi przedstawicielami naturalnego mikrobiomu skóry, są jednak odpowiedzialne za część zakażeń skóry, w tym martwicze zapalenie powięzi, oraz inne zakażenia, takie jak płonica, angina, zapalenie płuc, kłębuszkowe zapalenie nerek, gorączka reumatyczna, zapalenie opon mózgowych czy TSS.
Zwyczajowo paciorkowce dzieli się na podstawie ich zdolności do wytwarzania enzymów hemolitycznych – streptolizyn, które są odpowiedzialne za hemolizę erytrocytów na podłożu agarowym z krwią baranią. Gatunki wywołujące całkowitą hemolizę tworzą grupę paciorkowców β-hemolizujących. Częściową hemolizę (typu α) wywołują tzw. paciorkowce zieleniące, natomiast brak hemolizy nazywany jest hemolizą typu γ. Dodatkowo paciorkowce β-hemolizujące podzielono na grupy (tzw. klasyfikacja Lancefield) w zależności od rodzaju wchodzącego w skład ściany komórkowej węglowodanu – wielocukru C. Jednym z ważniejszych z punktu widzenia klinicznego przedstawicieli paciorkowców jest należący do grupy A *Streptococcus pyogenes*, czynnik etiologiczny ropnych zapaleń gardła (angin) oraz skóry. Istotnym czynnikiem zjadliwości paciorkowców jest otoczka zbudowana z kwasu hialuronowego, która nie jest immunogenna, dzięki czemu bakterie te mogą być niewidoczne dla układu odpornościowego. Inny ważny czynnik to białko M o właściwościach antyfagocytarnych i antykomplementarnych, a także cytotoksycznych względem neutrofilów. Białko G ma podobną budowę i funkcję do gronkowcowego białka A, tj. ma zdolność wiązania się z fragmentem Fc immunoglobulin IgG, co uniemożliwia skuteczną fagocytozę. Białko F jest natomiast czynnikiem adhezyjnym i wiążąc się z fibronektyną, ułatwia paciorkowcom wiązanie się z nabłonkami i przenikanie do tkanek głębokich.
Paciorkowce produkują również egzotoksyny. Toksyna erytrogenna ma działanie pirogenne i wywołuje charakterystyczną wysypkę obserwowaną w przebiegu płonicy. Inna paciorkowcowa toksyna – egzotoksyna A – ma właściwości superantygenowe, działa podobnie do gronkowcowej TSST-1 i może wywołać paciorkowcowy zespół wstrząsu toksycznego. Natomiast egzotoksyna B jest proteazą odpowiedzialną za niszczenie tkanek u pacjentów z martwiczym zapaleniem powięzi. Dodatkowo paciorkowce wytwarzają inne enzymy ułatwiające im rozprzestrzenianie się w zakażonych tkankach, takie jak hemolizyny (niewrażliwa na tlen streptolizyna S i wrażliwa na tlen streptolizyna O), hialuronidaza, proteinazy, streptokinaza (katalizująca przemianę plazminogenu w plazminę), nukleaza (streptodornaza). Przeciwciała wytworzone przeciwko streptolizynie O (ASO) są wykorzystywane w diagnostyce chorób wywoływanych głównie przez *Streptococcus pyogenes*.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Laseczki

Laseczki są przedstawicielami Gram-dodatnich bakterii o kształcie cylindrycznym, wytwarzających formy przetrwalnikowe (spory). Pod względem zapotrzebowania na tlen laseczki dzieli się na tlenowe i beztlenowe; zarówno w jednej, jak i drugiej grupie są przedstawiciele wywołujący zakażenia skóry lub tkanki podskórnej.

Przykładem laseczki beztlenowej jest *Clostridium perfringens* odpowiedzialny za wiele różnych procesów chorobowych, w tym zatruć pokarmowych oraz procesów przebiegających z ropieniem, martwicą i gniciem tkanki, takich jak miejscowe zapalenie tkanki podskórnej, martwicze zapalenie powięzi, martwicze zapalenie jelit czy zgorzel gazowa (por. dalej). Bakteria ta wytwarza enterotoksynę oraz kilkanaście egzotoksyn, spośród których 4 mają najistotniejsze znaczenie dla chorobotwórczości (α, β, ε, ι). Na podstawie zdolności do produkcji określonych rodzajów toksyn, wyróżniono pięć typów *Clostridium perfringens* (A–E). Toksyna α występuje u wszystkich typów *Clostridium perfringens*, hydrolizuje lecytynę i sfingomielinę, powoduje uszkodzenie fosfolipidów błony komórkowej i mitochondrialnej, jest też odpowiedzialna za lizę erytrocytów, leukocytów i komórek śródbłonka oraz destrukcję tkanek, w tym tkanki mięśniowej. Natomiast toksyna β produkowana jest przez typ C *Clostridium perfringens* i odpowiedzialna jest za porażenie jelit, zniszczenie warstwy ochronnej śluzu, a także rozwój zmian nekrotycznych prowadzących do martwiczego (nekrotycznego) zapalenia jelit. Pozostałe toksyny – ε i ι – odpowiedzialne są za zwiększanie przepuszczalności naczyń krwionośnych ścian przewodu pokarmowego. Zakażenie *Clostridium perfringens* może być egzogenne (np. na skutek zanieczyszczenia rany) lub endogenne, gdyż bakteria ta jest naturalnym składnikiem mikrobiomu przewodu pokarmowego i żeńskich dróg rodnych. Zakażenie następuje najczęściej jako skutek urazów jamy brzusznej i zabiegów chirurgicznych, które prowadzą do skażenia tkanek kałem lub wydzielinami dróg rodnych. Zakażenia ropne i ropienie mogą lokalizować się w pęcherzyku żółciowym, macicy, jajowodach i jamie brzusznej.

Tlenowa laseczka *Bacillus anthracis* wywołuje chorobę zwaną wąglikiem, która często przybiera postać skórną. Wraz z pozostałymi jej postaciami choroba została szczegółowo omówiona w rozdziale IX.

Pałeczki

Do pałeczek, które mogą być czynnikiem etiologicznym zakażeń skóry, należy zaliczyć *Pseudomonas aeruginosa*. Ta Gram-ujemna pałeczka, zwana też pałeczką ropy błękitnej, wytwarza charakterystyczne barwniki – piocyjaninę (niebieski), piowerdynę (żółtozielony), piorubrynę (czerwonobrązowy), które nadają kolor agarowym podłożom, na których wzrasta. Są one jednocześnie czynnikami zjadliwości o aktywności enzymatycznej. Innymi enzymatycznymi czynnikami zjadliwości wytwarzanymi przez *Pseudomonas* są hemolizyny, proteazy, elastazy i fosfolipazy, które działając bezpośrednio na białka (w tym kolagen i elastynę), doprowadzają do zniszczenia tkanki podskórnej, błon śluzowych, a także do rozprzestrzenienia zakażenia. W ostrych zakażeniach proteazy mogą degradować składniki dopełniacza oraz hamować chemotaksję i aktywność neutrofilów, co sprzyja dalszemu rozprzestrzenianiu się zakażenia. Innymi czynnikami zjadliwości tej bakterii są toksyny (egzotoksyna A, egzotoksyny S i T, enterotoksyna) oraz lipopolisacharyd, otoczka alginianowa i adhezyny związane z fimbriami. Dodatkowo bakterie z rodzaju *Pseudomonas* posiadają system sekrecji typu III, który służy do wstrzykiwania wytwarzanych czynników zjadliwości bezpośrednio do zakażanych komórek.

Pseudomonas aeruginosa nie jest naturalnym składnikiem mikrobiomu skóry człowieka, choć możliwe jest bezobjawowe nosicielstwo. Bakteria ta jest szeroko rozpowszechniona w środowisku, w gospodarstwach domowych, zwłaszcza w miejscach wilgotnych, takich jak zlewy, toalety czy mopy podłogowe. Pałeczki te mogą również bytować w szpitalach i być przyczyną zanieczyszczenia szpitalnej aparatury (tj. respiratorów, aparatów do dializ). *Pseudomonas aeruginosa* może być przyczyną zapalenia mieszków włosowych, zakażenia ran pooparzeniowych i może prowadzić do lokalnych uszkodzeń naczyń krwionośnych, martwicy tkanek i w konsekwencji do bakteriemii i sepsy.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Ponadto *Pseudomonas aeruginosa* może być czynnikiem etiologicznym zapalenia tchawicy i oskrzeli, martwiczego, odoskrzelowego zapalenia płuc, zapalenia kości i chrząstek oraz zakażenia układu moczowego. Lekooporne szczepy *Pseudomonas aeruginosa* są też jednym z istotniejszych czynników etiologicznych zakażeń szpitalnych, niebezpiecznych dla życia pacjentów z rozległymi ranami pooparzeniowymi, mukowiscydozą i pacjentów leczonych antybiotykami o szerokim spektrum działania (por. dalej).

2. Najważniejsze choroby przebiegające z zakażeniem skóry i tkanki podskórnej

Zakażenia skóry można podzielić na pierwotne, wtórne i trzeciorzędowe. Zakażenia pierwotne rozwijają się na powierzchni nienaruszonej skóry i są wywoływane przez jeden gatunek bakterii. Należy tu zaliczyć: liszajec pęcherzowy, zapalenie mieszków włosowych, czyraki skórne pojedyncze i mnogie, gronkowcowy zespół oparzonej skóry. Zakażenia wtórne rozwijają się na skórze uszkodzonej, np. gojące się rany chirurgiczne, żylakowate i tętnicze owrzodzenia podudzi, miejscowe wypryskowe lub zapalne zmiany skórne (egzema atopowa, łojotokowe zapalenie skóry), a także przez obecność ciała obcego. Dla zakażeń wtórnych, podobnie jak dla zakażeń trzeciorzędowych, charakterystyczne jest występowanie więcej niż jednego bakteryjnego czynnika etiologicznego. Te ostatnie są jednak wynikiem hematogennego rozsiewu bakterii, jaki występuje w sepsie (por. dalej).

Gronkowcowy zespół poparzonej skóry (SSSS)

Dla choroby tej, nazywanej również chorobą Rittera, charakterystyczne są duże, płaskie pęcherze, które w ciągu dwóch dni mogą rozprzestrzenić się na całe ciało. Pęcherze nawet pod wpływem lekkiego ucisku rozrywają się (pozytywny objaw Nikolskiego) i dochodzi do odszczepienia naskórka oraz odsłonięcia rozległych powierzchni skóry właściwej. Rozwarstwienie nabłonka jest bezpośrednim efektem działania toksyny eksfoliatywnej. Sama toksyna nie wywołuje jednak lizy komórek ani stanu zapalnego, stąd w warstwie nabłonka dotkniętego działaniem tych toksyn nie stwierdza się obecności leukocytów. Choroba ustępuje po 7–10 dniach bez pozostawienia blizn, gdyż uszkodzeniu ulega tylko powierzchniowa warstwa nabłonka. SSSS występuje głównie u noworodków i małych dzieci, a także u dorosłych poddanych immunosupresji. Rokowanie jest bardzo dobre, pod warunkiem że nie dojdzie do wtórnej infekcji bakteryjnej uszkodzonych miejsc na skórze.

Liszajec pęcherzowy (impetigo)

To umiejscowiona postać SSSS, najczęściej wywoływana przez *Staphylococcus aureus*, ale również przez *Staphylococcus epidermidis* i paciorkowce z grupy A (*Streptococcus pyogenes*) oraz z grup C i G. Charakterystyczne dla liszajca jest występowanie pęcherzy, które w miarę trwania choroby pokrywają się strupami. W odróżnieniu od SSSS, w płynie wypełniającym pęcherze wykrywalne są bakterie. Zmiany skórne najczęściej obejmują odkryte obszary skóry (twarz, kończyny), powstają w miejscu urazu lub ukąszenia przez owada, a objaw Nikolskiego jest w liszajcu ujemny. Choroba jest wysoce zakaźna, dotyka głównie noworodki i małe dzieci. W ograniczonym stopniu i głównie u dzieci liszajec może rozprzestrzeniać się po ciele na skutek drapania.

Zapalenie mieszków włosowych (*figówka*, folliculitis)

Jak wskazuje nazwa, dotyczy ograniczonego zapalenia skóry w sąsiedztwie mieszków włosowych, wywoływanego przez gronkowce (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*). Następstwem zapalenia mieszków włosowych może być czyrak, a jeżeli umiejscowiony jest na brzegu powieki, nosi nazwę jęczmienia. Natomiast zakażenie obejmujące większe obszary skóry z mieszkami włosowymi, gruczołami potowymi i tkankami przyległymi to czyraki mnogie (karbunkuły). Najczęstszą lokalizacją jest szyja i kark, a to rozległe zakażenie, przebiegające z gorączką, może być źródłem bakteriemii i sepsy. Leczenie wymaga antybiotykoterapii i opracowania chirurgicznego.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Oprócz etiologii gronkowcowej możliwym czynnikiem etiologicznym zapalenia mieszków włosowych jest *Pseudomonas aeruginosa*. W przypadku etiologii *Pseudomonas* zapalenie mieszków włosowych może wystąpić jako powikłanie długotrwałej antybiotykoterapii trądziku młodzieńczego i różowatego lub po kontakcie z zanieczyszczoną wodą (baseny, jacuzzi). Dla *Pseudomonas* charakterystyczne jest również zapalenie ucha zewnętrznego (małżowiny usznej), zwane „uchem pływaka". Zakażeniom *Pseudomonas aeruginosa* sprzyjają drobne uszkodzenia skóry powstałe np. po goleniu oraz po zabiegach pielęgnacyjnych paznokci.

Płonica (szkarlatyna)

Wywoływana jest przez wytwarzające toksynę erytrogenną szczepy *Streptococcus pyogenes* posiadające gen dla tej toksyny (skutek transdukcji fagowej). Płonica rozwija się najczęściej wraz z zapaleniem gardła i charakteryzuje się drobną, czerwoną wysypką, która obejmuje całe ciało łącznie z błonami śluzowymi, z wyłączeniem obszaru twarzy wokół nosa i ust (tzw. trójkąt Fiłatowa). Złuszczenie naskórka na języku odsłania jego głębsze warstwy, o żywoczerwonym kolorze („malinowy język"). Innym charakterystycznym objawem jest objaw Pastii, tj. obecność wybroczyn w naturalnych zgięciach ciała (łokcie, kolana, dół brzucha). Wysypka płonicza blednie pod wpływem nacisku, zanika po 5–7 dniach, po czym następuje złuszczanie się naskórka.

Płonica gronkowcowa

To choroba przebiegająca z niezłuszczającą się, rumieniową wysypką, podobną do obserwowanej w płonicy paciorkowcowej (szkarlatynie). W odróżnieniu od szkarlatyny wysypka nie obejmuje jamy ustnej.

Róża (erysipelas)

Jest najczęstszą chorobą skóry wywoływaną przez paciorkowce. To nieropne, bolesne zakażenie skóry i/lub błon śluzowych, często zlokalizowane na kończynach i twarzy. Zakażone obszary skóry charakteryzują się wyniesieniem, rumieniem i podwyższoną ciepłotą. Obserwuje się również powiększenie lokalnych węzłów chłonnych. W przypadku gdy proces zapalny obejmuje głębsze warstwy skóry i przylegającą tkankę łączną, chorobę określa się jako *cellulitis.*

Martwicze zapalenie powięzi

Może być wywoływane przez *Streptococcus pyogenes* lub *Clostridium perfringens*. Choroba charakteryzuje się rozległą martwicą powięzi, tkanki podskórnej, mięśniowej i tłuszczowej. Do zakażenia dochodzi w następstwie zakażenia ran powstałych zarówno w wyniku drobnych skaleczeń, jak i na skutek zabiegów chirurgicznych czy oparzeń. Rozwijające się zapalenie powięzi prowadzi do powstania pęcherzy i martwicy tkanki jako efekt utrudnionego dopływu krwi.
W przypadku etiologii paciorkowcowej kluczowe jest działanie egzotoksyny B, natomiast toksyny α, ε, oraz ι są odpowiedzialne za nekrozę tkanek w przypadku zakażenia *Clostridium perfringens*. Zapalenie powięzi wywołane przez *Clostridium perfringens* rozwija się jako skutek zakażenia ran głębokich, w których panują warunki beztlenowe. Może ono przejść w ropiejące, a następnie martwicze (nekrotyczne) zapalenie mięśni oraz zgorzel gazową. Niezależnie od etiologii martwiczemu zapaleniu powięzi towarzyszą toksemia i niewydolność wielonarządowa. Antybiotykoterapia jest nieskuteczna i najczęściej konieczne jest chirurgiczne usunięcie zakażonych tkanek.

Zgorzel gazowa

To najbardziej niebezpieczna postać zakażenia *Clostridium perfringens*, rozwijająca się jako skutek rozległej martwicy tkanki podskórnej i mięśni. Charakteryzuje się wytwarzaniem gazu i jego gromadzeniem w pęcherzach podskórnych. Ucisk pęcherzy powoduje charakterystyczne trzeszczenie.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Zgorzel gazowa może być przyczyną wstrząsu septycznego ze wszystkimi jego konsekwencjami, w tym niewydolnością nerek i śmiercią (por. dalej).

Rumień guzowaty

Charakteryzuje się obecnością małych czerwonych guzków pod powierzchnią skóry jako objaw nadwrażliwości na antygeny ściany komórkowej paciorkowców.

Martwicze (nekrotyczne) zapalenie jelit

Martwicze zapalenie jelit (tzw. świński brzuch) jest skutkiem działania toksyny β, produkowanej przez typ C *Clostridium perfringens*. W chorobie tej rozprzestrzeniające się owrzodzenie śluzówki jelita powoduje odsłonięcie jego ściany. Objawami są skurcze brzucha z wodnistą biegunką, bez gorączki i wymiotów.

3. Leczenie zakażeń skóry

Zakażenia skóry o charakterze lokalnym mogą być leczone miejscowo przez stosowanie maści zawierających antybiotyki, takie jak gentamycyna, bacytracyna, neomycyna, kwas fusydynowy, a także poprzez stosowanie antyseptyków – chlorheksydyny, oktenidyny czy jodoforów. W przypadku zmian ropnych można wykonać nacięcie i drenaż. Zakażenie dużych obszarów ciała, zwłaszcza gdy objawy kliniczne stają się nasilone, jest wskazaniem do włączenia antybiotykoterapii układowej. Początkowo ma ona postać terapii empirycznej, zgodnej z rozpoznanym lub podejrzewanym czynnikiem etiologicznym, do czasu gdy dostępne są wyniki badania mikrobiologicznego określającego właściwą lekowrażliwość bakterii.

Zakażenia skóry i tkanki podskórnej wywołane przez paciorkowce (np. *Streptococcus pyogenes*) leczone są penicyliną, na którą bakterie te są naturalnie wrażliwe. W przypadku zakażeń gronkowcowych (np. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) empirycznie są one również leczone antybiotykami z grupy β-laktamów, takimi jak cefalosporyny oraz penicyliny oporne na penicylinazy (oksacylina, flukloksacylina). U pacjentów uczulonych na penicyliny stosuje się antybiotyki makrolidowe (np. erytromycynę) lub linkozamidy (np. klindamycynę). Szczepy gronkowców MRSA i MRSE są oporne na metycylinę, ale należy pamiętać, że oznacza to również jednoczesną oporność na inne antybiotyki β-laktamowe, w tym penicyliny, penicyliny z inhibitorami β-laktamaz, cefalosporyny, karbapenemy i monobaktamy. Dodatkowo szczepy MR często są również oporne na makrolidy i fluorochinolony; w tych przypadkach najczęściej stosuje się wankomycynę, daptomycynę, tigecyklinę lub linezolid. Z kolei wankomycynooporne szczepy gronkowców (VISA i VRSA) bywają wrażliwe na karbapenemy, jednak w przypadku oporności jedynymi skutecznymi opcjami terapeutycznymi są linezolid oraz chinuprystyna-dalfoprystyna.

Zakażenia o charakterze martwiczym wymagają opracowania chirurgicznego i natychmiastowego leczenia. W przypadku zgorzeli gazowej i martwiczego zapalenia powięzi wywołanego przez *Clostridium perfringens* antybiotykami z wyboru są penicyliny razem z antybiotykami o szerokim spektrum działania. Ponadto, tak jak w przypadku wszystkich zakażeń bakteriami beztlenowymi, stosowany jest tlen hiperbaryczny. Terapia empiryczna zakażeń wywoływanych przez *Pseudomonas aeruginosa* (np. terapia skojarzona antybiotykami β-laktamowymi i aminoglikozydowymi) najczęściej wymaga zmiany na podstawie indywidualnego wyniku antybiogramu, gdyż zakażenia najczęściej wywołują różne szczepy wielolekooporne. Z kolei wąglik skórny wywołany przez *Bacillus anthracis* najczęściej jest skutecznie leczony penicyliną, doksycykliną oraz cyprofloksacyną.

Sepsa, zakażenia szpitalne i zakażenia w chirurgii

Obecność we krwi obwodowej bakterii określana jest terminem **bakteriemia**. Analogicznie, obecność we krwi zdolnych do namnażania wirusów i grzybów określamy odpowiednio **wiremią** i **fungemią**.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Drobnoustroje (najczęściej bakterie) we krwi mogą znaleźć się na skutek np. urazu lub mogą pochodzić z wewnętrznego ogniska zakażenia. Bakteriemia może ustąpić samoistnie bez żadnych powikłań, może też nie dawać żadnych objawów klinicznych. Najczęściej jednak bakteriemii towarzyszą objawy **zespołu uogólnionej reakcji zapalnej** (*systemic inflammatory response syndrome* – SIRS), do których należą: tachykardia, *tachypnoë*, temperatura ciała poniżej 36°C lub powyżej 38°C, leukocytoza powyżej 12000/µl lub leukopenia poniżej 4000/µl. Przejściowa bakteriemia może występować po zabiegach chirurgicznych, stomatologicznych, diagnostycznych, a także w przebiegu niektórych chorób (np. zapalenia płuc, opon mózgowo-rdzeniowych, układu moczowego oraz w brucelozie czy leptospirozie). Bakteriemia może doprowadzić do powstania wtórnych ognisk zakażenia w procesie zwanym rozsiewem krwiopochodnym oraz do **posocznicy**, czyli **sepsy**. Bakteriemia jest więc stanem zawsze poprzedzającym sepsę, ale nie zawsze do niej prowadzi. Sepsę definiuje się jako ogólnoustrojową chorobę wywołaną obecnością we krwi bakterii i ich toksyn, charakteryzującą się zaburzeniami hemodynamicznymi oraz niewydolnością narządów i układów. Sepsa charakteryzuje się ciężkim przebiegiem oraz wysoką śmiertelnością, dlatego prawidłowe rozpoznanie i wdrożenie leczenia jest kluczowe, gdyż jest to stan bezpośredniego zagrożenia życia.

Do rozwoju sepsy dochodzi najczęściej z powodu zakażenia szpitalnego; wówczas czynnikiem etiologicznym najczęściej są *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium* spp., *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp. i *Streptococcus pneumoniae*. Możliwy jest również rozwój sepsy pozaszpitalnej, która najczęściej powodowana jest przez *Neisseria meningitidis*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* oraz *Clostridium* spp. i jest następstwem rozsiewu bakterii w przebiegu chorób wywoływanych przez te bakterie (por. dalej).

1. Mechanizm powstawania sepsy

Stan bakteriemii wiąże się z obecnością wysokich stężeń różnych czynników pochodzenia bakteryjnego o działaniu immunogennym. W przypadku bakteriemii spowodowanej przez bakterie Gram-ujemne jest to uwalnianie dużych ilości endotoksyny (LPS) z rozpadających się komórek bakteryjnych. Z kolei bakterie Gram-dodatnie najczęściej wytwarzają różne egzotoksyny mające właściwości superantygenowe (np. gronkowcowa toksyna TSST-1; por. wcześniej).

Zarówno w przypadku działania LPS, jak i egzotoksyn konsekwencją jest uaktywnienie wrodzonych mechanizmów odporności, w tym aktywacja makrofagów, neutrofilów i komórek śródbłonka. Komórki te mogą rozpoznawać tzw. molekularne wzorce patogenów (*pathogen-associated molecular patterns* – PAMP) za pomocą specjalnych receptorów rozpoznających je (*pattern recognition receptors* – PRR), do których należą m.in. receptory Toll-podobne (*Toll-like receptors* – TLR). Aktywacja receptorów inicjuje łańcuch interakcji wewnątrzkomórkowych i aktywację jądrowego czynnika transkrypcyjnego κB (*nuclear factor* κB – NFκB) regulującego ekspresję genów kodujących aktywatory odpowiedzi immunologicznej, do których należą m.in. cytokiny prozapalne, takie jak interleukina 1 (IL-1), interleukina 6 (IL-6), interleukina 8 (IL-8), czynnik martwicy nowotworów α (*tumor necrosis factor α* – TNF-α). Cytokiny te działają na poziomie podwzgórza i powodują wystąpienie takich objawów jak gorączka (działanie pirogenne), dreszcze, uczucie wyczerpania, czasami nudności i wymioty. Inne cytokiny, np. interleukina 2 (IL-2) produkowana przez limfocyty T, mogą zwiększać przepuszczalność naczyń włosowatych. Działając razem z bradykininą i składnikiem dopełniacza C5a, czynnikiem aktywującym płytki (*platelet activating factor* – PAF), tlenkiem azotu (*nitric oxide* – NO) i histaminą, które również są wytwarzane w trakcie bakteriemii, wpływają na rozszerzenie naczyń krwionośnych, zniwelowanie bariery przepuszczalności naczyń włosowatych, zwiększenie przesączania płynu wewnątrznaczyniowego do przestrzeni pozanaczyniowej i w konsekwencji spadek ciśnienia tętniczego krwi. Zmiany te są określane jako uogólniona dysfunkcja śródbłonka naczyniowego i jest to jeden z najistotniejszych czynników patogenezy sepsy. Inne zjawiska, jakie zachodzą w trakcie bakteriemii,

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

to aktywacja układów krzepnięcia i dopełniacza. Brak podjęcia interwencji terapeutycznej może w ciągu kilku godzin doprowadzić do wstrząsu septycznego (zapaści krążeniowej), zespołu rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC) jako skutek aktywacji układu krzepnięcia, zespołu niewydolności wielonarządowej na skutek spadku ciśnienia tętniczego krwi oraz niedostatecznego przepływu krwi i ostatecznie do śmierci.

2. Rozpoznanie i diagnostyka sepsy

Pierwszymi zauważalnymi objawami rozwijającej się bakteriemii są gorączka i SIRS. Istnieją jednak sytuacje, w których występuje gorączka nieznanego pochodzenia (np. u pacjentów z neutropenią, chorych z HIV), a SIRS rozwija się na skutek ran pooparzeniowych czy innych rozległych urazów. Dlatego bakteriemię i sepsę należy różnicować z wymienionymi stanami na podstawie dodatniego wyniku badania bakteriologicznego. Aby potwierdzić bakteriemię, należy wykonać posiew krwi obwodowej, gdyż to właśnie badanie mikrobiologiczne krwi ma największą wartość w diagnostyce bakteriemii i sepsy. Poza wymienionymi objawami (gorączka, SIRS) badanie to wykonuje się w przypadku stwierdzenia możliwości zakażenia pooperacyjnego, zapalenia wsierdzia, zakażeń narządowych z pogłębiającym się złym stanem ogólnym pacjenta oraz ciężkiego stanu klinicznego noworodka. W przypadku zidentyfikowania źródła zakażenia krwi pobiera się również próbkę z tego miejsca.
Krew pobiera się z żyły pacjenta z zastosowaniem znacznie bezpieczniejszego niż otwarty systemu zamkniętego (dwie igły połączone drenem). Próbka krwi powinna być pobrana 2- lub 3-krotnie w ciągu doby, z różnych miejsc, by zwiększyć prawdopodobieństwo izolacji i identyfikacji bakterii. Dopiero wyizolowanie tego samego gatunku bakterii z przynajmniej dwóch różnych próbek uwiarygadnia uzyskany wynik. Krew pobiera się w ilości 20–30 ml u dorosłych i 1–5 ml u dzieci. Próbki krwi na posiew pobierane są równolegle do dwóch zestawów butelek z medium przeznaczonych do hodowli bakterii tlenowych i bakterii beztlenowych. Dodatkowy zestaw pożywek może być wykorzystany do ewentualnego potwierdzenia fungemii. Istotne jest, aby miejsce wkłucia było zdezynfekowane, np. 70-proc. alkoholem etylowym, aby uniknąć kontaminacji florą fizjologiczną i zapobiec uzyskaniu wyników fałszywie dodatnich. Następnie butelki (z odpowiednim podłożem namnażającym) inkubowane są przez 5–7 dni; w tym czasie dokonuje się oceny zmętnienia medium lub stosuje metody wykrywające CO_2 – produkt metabolizmu węglowodanów. Możliwe jest również wykrycie określonych produktów pochodzenia bakteryjnego (np. toksyn). Jeżeli wyniki wskazują na obecność bakterii, wykonuje się posiewy na różne podłoża agarowe w celu izolacji i identyfikacji. Wykorzystuje się zarówno nieselektywne podłoża agarowe wzbogacone dodatkiem krwi baraniej, jak i wybiórczo-różnicujące w celu określenia wymagań odżywczych (np. zdolności rozkładu laktozy na podłożu MacConkeya) lub oporności na obecną w podłożu substancję (np. wysokie stężenie NaCl na podłożu Chapmana). Jeżeli po 5–7 dniach nie obserwuje się żadnych zmian, wynik posiewu uznaje się za ujemny. W przypadku gdy podejrzewa się zakażenie bakteriami o wolnym wzroście (np. *Mycobacterium tuberculosis*), czas obserwacji można przedłużyć. Próbki krwi na posiew powinny być pobrane przed wdrożeniem leczenia. Jeżeli nie jest to możliwe i pacjent jest w trakcie antybiotykoterapii, posiewy krwi pobrane w ciągu 24 godzin mogą dać wynik ujemny, dlatego badanie należy powtórzyć w późniejszym okresie. Po pomyślnej izolacji i identyfikacji bakterii wykonuje się badanie lekowrażliwości (antybiogram) z zastosowaniem zestawu antybiotyków dobranych dla określonego rodzaju bakterii. Wrażliwość bakterii na określony lek określana jest najczęściej metodą dyfuzyjno-krążkową na zasadzie pomiaru strefy zahamowania wzrostu wokół krążka z danym antybiotykiem lub metodą paskową z gradientem stężeń (tzw. E-Test). Druga metoda pozwala na wyznaczenie wartości minimalnych stężeń hamujących leków (*minimal inhibitory concentration* – MIC), których znajomość umożliwia dobranie odpowiednich dawek terapeutycznych. Obecnie w większości laboratoriów zarówno hodowla bakterii, jak i oznaczanie lekowrażliwości odbywa się w zautomatyzowanych systemach monitorujących.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Z zasady do diagnostyki bakteriemii krew nie powinna być pobierana z cewnika na stałe umieszczonego w naczyniu, chyba że jest to jedyna możliwość pobrania krwi lub gdy celem pobrania krwi jest potwierdzenie zakażenia odcewnikowego. Stosowanie cewników naczyniowych jest nieodłączną częścią współczesnego leczenia pacjentów hospitalizowanych. Mogą być one implantowane w centralnych lub obwodowych naczyniach krwionośnych i zapewniają możliwość podawania leków, płynów infuzyjnych oraz pobierania krwi do badań. Stosowanie cewników naczyniowych niesie jednak ze sobą pewne ryzyko i jest jedną z częstszych (40–60%) przyczyn wszystkich przypadków bakteriemii. Po pierwsze dlatego, że założenie cewnika naczyniowego wiąże się z przerwaniem bariery ochronnej organizmu, jaką jest skóra, po drugie zaś, że zwłaszcza w przypadku utworzenia długoterminowego dostępu naczyniowego wzrasta ryzyko zasiedlenia cewnika przez bakterie flory fizjologicznej, a także bakterie pochodzenia szpitalnego. Do potwierdzenia zakażeń odcewnikowych na posiew pobiera się dodatkowo próbkę krwi pobraną z innego miejsca, wymaz ze zmian w miejscu wkłucia, jeżeli są obecne, oraz posiew wykonany poprzez przetoczenie końcówki cewnika po podłożu mikrobiologicznym.

W diagnostyce mikrobiologicznej bakteriemii przydatne bywają również szybkie testy nie wymagające izolacji patogenu, ale umożliwiające jego identyfikację. Do testów takich należą testy lateksowe wykrywające koagulazę wytwarzaną przez gronkowca złocistego czy różne antygeny grzybicze, techniki immunoenzymatyczne, immunofluorescencyjne oraz techniki molekularne wykorzystujące reakcję PCR, którymi można wykryć materiał genetyczny wielu drobnoustrojów w jednym oznaczeniu. Możliwa jest również identyfikacja drobnoustrojów z zastosowaniem spektrometrii masowej. Oprócz badań mikrobiologicznych w diagnostyce i monitorowaniu sepsy przydatne jest oznaczanie białka C-reaktywnego (CRP), prokalcytoniny, mleczanów oraz kontrola parametrów równowagi kwasowo-zasadowej (tzw. gazometria krwi).

3. Zakażenia szpitalne i zakażenia w chirurgii

Zakażenia szpitalne najczęściej kojarzą się z rozwojem bakteriemii i posocznicy na skutek zakażenia ran powstałych po rozległych urazach, ran pooparzeniowych, ran pooperacyjnych oraz u chorych, u których istniała konieczność długotrwałego utrzymywania cewników urologicznych, portów dożylnych i rur intubacyjnych. Rany powstałe podczas zabiegów chirurgicznych również mogą być źródłem zakażenia, kiedy dochodzi do fizycznego przemieszczenia bakterii ze skóry do tkanki podskórnej. Najczęstszym czynnikiem etiologicznym zakażeń ran związanych z hospitalizacją jest *Staphylococcus aureus* (głównie metycylinooporne szczepy HA-MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium* spp., *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Enterococcus* spp. Do rozsiewu bakterii może też dochodzić na skutek powikłań infekcji układowych lub narządowych oraz zakażeń toczących się wewnątrz łożyska naczyniowego (np. w zapaleniu żył). Zakażenie krwi może również nastąpić po wprowadzeniu do krążenia płynów lub preparatów krwiopochodnych zanieczyszczonych drobnoustrojami. Ponadto do czynników predysponujących do rozwoju sepsy szpitalnej należą: transplantacje narządów i szpiku kostnego, intensywna chemioterapia, długotrwałe, inwazyjne leczenie i diagnostyka po ciężkich wypadkach, starszy wiek, stany immunosupresji (z różnych przyczyn), znaczna utrata krwi, a także zakażenia oportunistyczne bakteriami mikrobiomu przejściowego oraz istniejące wcześniej choroby, które mogą upośledzać odporność pacjenta. Pacjenci hospitalizowani, długotrwale poddani antybiotykoterapii są narażeni na nadmierny rozrost antybiotykoopornego *Clostridioides difficile* w jelicie, rozwój rzekomobłoniastego zapalenia jelit, a następnie rozsiew bakterii przez krew. Z zakażeniami szpitalnymi kojarzy się również zakażenie i sepsa wywołana przez bakterie z rodzaju *Enterococcus* (*E. faecalis*, *E. faecium*). Są one naturalnym składnikiem mikrobiomu jelita grubego, a także układu moczowo-płciowego. *Enterococcus* jest naturalnie oporny na antybiotyki β-laktamowe, dlatego długotrwałe stosowanie antybiotyków o szerokim spektrum działania (np. cefalosporyny) może doprowadzić do rozrostu i rozsiewu tych bakterii przez krew. Dodatkowo enterokoki mogą nabywać plazmi-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

dozależnej oporności na aminoglikozydy (tzw. szczepy HLAR – *high-level aminoglycoside resistance*) i wankomycynę (tzw. szczepy VRE – *vancomycin-resistant Enterococcus*), co znacznie zawęża możliwości terapeutyczne do linezolidu i chinuprystyny-dalfoprystyny (podobnie jak szczepy VRSA i VISA). Szczepy HLAR i VRE są istotnym problemem dla pacjentów hospitalizowanych i mogą być przyczyną zakażeń układu moczowego, otrzewnej i wsierdzia.

Osobną grupą zakażeń związanych z hospitalizacją są zapalenia płuc. Według definicji szpitalne zapalenie płuc (*hospital acquired pneumonia* – HAP) rozwija się co najmniej po 48 godzinach od chwili przyjęcia do szpitala u chorego, który nie był wcześniej zaintubowany. Zapalenie płuc, które występuje po 48–72 godzinach od intubacji dotchawiczej określa się jako respiratorowe zapalenie płuc (*ventilator-associated pneumonia* – VAP). Istnieje również postać zapalenia płuc związana z kontaktem ze służbą zdrowia (*healthcare-associated pneumonia* – HCAP). Zapadalność na HAP jest wyższa u pacjentów po intubacji. Czynnikiem etiologicznym wczesnego HAP, VAP oraz HCAP (do 4 dnia hospitalizacji) są bakterie wchodzące w skład naturalnej mikrobioty jamy ustnej i gardła, a do zakażenia dochodzi na skutek aspiracji wydzieliny z górnych dróg oddechowych. Do bakterii tych należą: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Moraxella catarrhalis* i *Mycoplasma pneumoniae*. HAP występujące po 5 dniach od przyjęcia do szpitala jest częściej wywoływane przez szpitalne, często lekooporne szczepy bakterii, takich jak: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, w tym szczepy MRSA, *Legionella pneumophila*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* czy *Enterobacter* spp. Oprócz wymienionych czynników ryzyka wystąpienia HAP do dodatkowych należy zaliczyć: współistnienie przewlekłej obturacyjnej choroby płuc, zakaźnej choroby wirusowej (w tym grypa, wirusowe zapalenie płuc, COVID-19), mukowiscydozę, rozstrzenie oskrzeli, a także nieprzestrzeganie higieny jamy ustnej (w tym ostatnim przypadku ryzyko zakażenia bakteriami beztlenowymi).

Pacjenci z wdrożonym leczeniem immunosupresyjnym są ponadto narażeni na zakażenie krwi przez wirusy, takie jak wirus cytomegalii (CMV), opryszczki (HSV), ospy wietrznej i półpaśca (VZV) czy wirus Epsteina-Barr (EBV), a także grzyby, głównie z rodzaju *Candida* oraz *Cryptococcus*, *Aspergillus* czy *Pneumocystis jirovecii*.

Z kolei na oddziałach neonatologicznych zakażenia okołoporodowe mogą być przyczyną sepsy u noworodków. Najczęściej są one wywoływane przez *Streptococcus agalactiae* oraz szczep K1 *Escherichia coli.* Źródłem sepsy u noworodków może też być zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych wywołane przez *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, a także zapalenie płuc wywołane przez *Streptococcus pneumoniae*.

4. Leczenie sepsy

Leczenie sepsy, niezależnie od tego, czy doszło do jej rozwoju w drodze zakażenia szpitalnego czy nie, należy rozpocząć najszybciej, jak to możliwe, poprzez dożylną podaż antybiotyków o szerokim spektrum działania i stosunkowo niskiej toksyczności. Jest to tzw. terapia empiryczna, wdrażana na podstawie wszystkich informacji, jakie da się uzyskać przed oznaczeniem lekowrażliwości, takich jak np. wynik barwienia metodą Grama, wiek i stan ogólny pacjenta, źródło zakażenia (szpitalne czy środowiskowe). W przypadku podejrzenia zakażenia bakteriami szczególnie opornymi (np. z rodzaju *Pseudomonas*, *Enterococcus*), a także u pacjentów z neutropenią i w immunosupresji stosuje się terapię skojarzoną. Ponadto należy wdrażać leczenie podtrzymujące lekami wazopresyjnymi oraz utrzymywać podaż płynów i elektrolitów, aby zminimalizować zaburzenia homeostazy, które są charakterystyczne dla wstrząsu septycznego. Jeżeli źródło zakażenia można zidentyfikować (np. obecna zanieczyszczona rana), może być niezbędna interwencja chirurgiczna polegająca na oczyszczeniu, drenażu lub wycięciu fragmentów tkanek objętych martwicą. W związku z tym, że bakterie szpitalne są często wielolekooporne, lekowrażliwość patogenów jest w każdym przypadku ustalana indywidualnie na podstawie antybiogramu. Na podstawie wyniku posiewu i oceny stanu klinicznego pacjenta

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

zazwyczaj po 72 godzinach podejmuje się decyzję o ewentualnej zmianie antybiotyku wybranego empirycznie.

5. Przykłady bakterii wywołujących bakteriemię i posocznicę

Najczęstszym czynnikiem etiologicznym bakteriemii spowodowanej przez bakterie Gram-dodatnie są bakterie z rodzaju *Staphylococcus*, *Streptococcus* (w tym paciorkowce grupy A, zieleniące, pneumokoki) i *Clostridium*. Natomiast spośród bakterii Gram-ujemnych do najczęściej wywołujących bakteriemię należą *Escherichia coli* oraz bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Salmonella* i *Neisseria*.

Gronkowce (*Staphylococcus* spp.)

Najczęściej bakteriemia (i posocznica) gronkowcowa jest wywołana przez koagulazododatniego gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*). Źródłem zakażenia może być ropień skóry lub inna zmiana skórna wywołana przez *Staphylococcus aureus*, jednak równie często jest to zakażenie szpitalne jako skutek operacji chirurgicznej lub długotrwale utrzymywanego skażonego cewnika naczyniowego. Bakteriemia *Staphylococcus aureus* może doprowadzić do gronkowcowego zapalenia wsierdzia, krwiopochodnego zapalenia płuc, nekrotycznego zapalenia płuc, ropniaka opłucnej, zapalenia szpiku kostnego, kości i stawów. Ponadto może bardzo szybko doprowadzić do posocznicy, wstrząsu septycznego i zgonu. Za wstrząs odpowiedzialna jest toksyna TSST-1, która bezpośrednio uszkadza komórki śródbłonka, zwiększając przepuszczalność naczyń krwionośnych i obniżając ciśnienie tętnicze krwi.
Gronkowce koagulazoujemne, tj. *Staphylococcus epidermidis* i *Staphylococcus saprophyticus*, również mogą powodować bakteriemię, której źródłem są różnego rodzaju implanty, tj. endoprotezy, cewniki urologiczne i dożylne czy sztuczne zastawki sercowe. Dostęp bakterii do krwiobiegu może prowadzić do bakteriemii. Kolonizacja wszczepionych sztucznych ciał stałych przez gronkowce to zjawisko określane jako PASI (*polymer associated staphylococcal infections*). Gronkowce CNS są bardzo dobrze przystosowane do zasiedlania implantów dzięki właściwości wytwarzania biofilmu, który chroni je przed działaniem układu odpornościowego i antybiotyków. Kolonizacja implantów często jest zapoczątkowana autoinfekcją podczas zabiegu wszczepiania, gdyż CNS należą do stałego mikrobiomu skóry człowieka. *Staphylococcus epidermidis* jest najczęstszym czynnikiem etiologicznym zapalenia wsierdzia u osób z wszczepionymi sztucznymi zastawkami. Ropnie wytworzone podczas zakażenia są przyczyną mechanicznego uszkodzenia mięśnia sercowego, co wymaga interwencji chirurgicznej.

Paciorkowce (*Streptococcus* spp.)

Bakteriemia paciorkowcowa najczęściej wiąże się z zakażeniem paciorkowcami β-hemolizującymi z grupy A (np. *Streptococcus pyogenes*), które wywołują martwicze zapalenie powięzi, i może rozwinąć się do paciorkowcowego zespołu wstrząsu toksycznego. Za wstrząs odpowiedzialne są erytrogenne egzotoksyny A i B, podobne do gronkowcowej toksyny TSST-1. Charakterystyczną cechą sepsy paciorkowcowej jest rozwój wysypki płoniczej przekształcającej się w złuszczającą martwicę naskórka. Objawy wstrząsu są podobne jak w przypadku posocznicy wywołanej przez inne bakterie, a dodatkowo może nastąpić depresja mięśnia sercowego jako następstwo kardiomiopatycznego działania toksyn paciorkowcowych oraz zespół ostrej niewydolności oddechowej (*acute respiratory distress syndrome* – ARDS). Z kolei *Streptococcus pneumoniae*, mimo iż nie wytwarza toksyn, również jest w stanie doprowadzić do wstrząsu septycznego poprzez aktywację makrofagów oraz układu dopełniacza i krzepnięcia, co w tym wypadku jest reakcją na antygeny ściany komórkowej oraz wielocukier otoczkowy C pneumokoków. Do bakteriemii pneumokokowej może dojść w przebiegu zapalenia płuc i opon mózgowo-rdzeniowych.
Zakażenie paciorkowcowe może być zainicjowane na skutek zabiegu chirurgicznego, oparzenia, a także niewielkich ran i uszkodzeń skóry o etiologii wirusowej, skutkujących przeniesieniem bakterii do tkanki podskórnej. Rozwijająca się wówczas posocznica może wiązać się z zapaleniem wsierdzia i zniszcze-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

niem zastawek oraz ropnym i martwiczym zapaleniem powięzi, tkanki mięśniowej i tłuszczowej, nazywanym również gangreną paciorkowcową. Martwiczemu zapaleniu powięzi często towarzyszy niewydolność wielonarządowa, a śmiertelność wśród pacjentów jest bliska 40%. Paciorkowce z grupy B (przedstawiciel: *Streptococcus agalactiae*) mogą być ponadto przyczyną zapalenia płuc oraz zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i bakteriemii u noworodków na skutek zakażenia paciorkowcami bytującymi w drogach rodnych kobiet. Niekontrolowane zakażenie może doprowadzić do rozwoju sepsy.

Clostridium perfringens (a także *C. septicum* i *C. ramosum*)

Bakteriemia wywołana przez tę bakterię może wywodzić się z okrężnicy, dróg żółciowych lub macicy. Posocznica rozwijająca się z układu pokarmowego jest ostrą, ciężką chorobą gorączkową, podczas której obserwuje się nasiloną hemolizę wewnątrznaczyniową (efekt działania toksyny α *Clostridium perfringens*), martwicę cewek nerkowych (efekt działania wolnej hemoglobiny), spadek ciśnienia tętniczego. Posocznica może być również następstwem poronienia (tzw. poronienie septyczne) i może dojść do szybkiego jej rozwoju w ciągu kilku godzin. Oprócz objawów typowych (jak np. gorączka, dreszcze, bóle mięśni) występują bolesne skurcze jelit, ostry ból w jamie brzusznej, wymioty, biegunka, krwawe upławy, a w rozwiniętej posocznicy skąpomocz, znaczny spadek ciśnienia tętniczego, żółtaczka spowodowana hemolizą wewnątrznaczyniową i wstrząs. Poronienie septyczne często wiąże się z zatorem płucnym materiałem pochodzącym z zakażonych żył miednicy mniejszej i jest stanem bezpośrednio zagrażającym życiu.

Escherichia coli

Bakteriemia wywoływana przez pałeczki Gram-ujemne, w tym *Eschericha coli*, wywodzi się najczęściej z przewodu pokarmowego. Może być konsekwencją zakażeń wywoływanych przez patogenne szczepy *Escherichia coli*, w tym szczepy enteropatogenne (EPEC) i enterokrwotoczne (EHEC). Te drugie są przyczyną krwotocznego zapalenia okrężnicy, które u części chorych może rozwinąć się w zespół hemolityczno-mocznicowy. Bakteriemia *Escherichia coli* może być również skutkiem pourazowej lub pooperacyjnej perforacji jelit, co prowadzi do zapalenia otrzewnej, a następnie sepsy. Inną częstą przyczyną sepsy wywołanej przez *Escherichia coli* są zakażenia układu moczowego wywołane przez uropatogenne szczepy *Escherichia coli.*

Pseudomonas aeruginosa

Bakteriemia o etiologii *Pseudomonas aeruginosa* rozwija się najczęściej na skutek zakażeń skóry i tkanki podskórnej, zwłaszcza rozwijających się na rozległych ranach pooparzeniowych u pacjentów hospitalizowanych. Czasami bakteriemii towarzyszy zgorzelinowe zapalenie skóry w postaci pęcherzyków przechodzących w martwicze zmiany i owrzodzenia. Możliwymi źródłami rozsiewu bakterii są też dolne drogi oddechowe i układ moczowy, zwłaszcza w sytuacjach długotrwale utrzymywanej aparatury podtrzymującej oddech oraz cewników moczowych. Niekorzystnymi czynnikami działającymi w bakteriemii *Pseudomonas* są neutropenia, nowotwory układu krwiotwórczego czy stosowanie immunosupresji.

Salmonella

Bakteriemia wywołana przez *Salmonella* może towarzyszyć zakażeniom wywołanym przez *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi i *Salmonella* Choleraesuis, zwłaszcza u dzieci i pacjentów zakażonych wirusem HIV, z niedokrwistością sierpowatą i pierwotnymi niedoborami odporności. Klinicznie bakteriemia *Salmonella* objawia się tak samo jak wywołana przez inne pałeczki Gram-ujemne, ale u części pacjentów mogą występować zlokalizowane zakażenia ropne, w tym stawów, wsierdzia i szpiku kostnego. Bakteriemia *Salmonella* Typhi i *Salmonella* Paratyphi jest typowa w przebiegu duru

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

brzusznego i paraduru. Objawy chorobowe występują po 10–14 dniach od zakażenia i obejmują bóle głowy, mięśni, jadłowstręt i złe samopoczucie oraz objawy ze strony układu pokarmowego. Bakteriemia doprowadza do kolonizacji woreczka żółciowego, który staje się rezerwuarem bakterii i źródłem ponownego zakażenia jelita.

Neisseria meningitidis

Bakteriemia meningokokowa wywoływana jest najczęściej przez serotypy A i B *Neisseria meningitidis*. Posocznica *Neisseria* prowadzi do zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, charakteryzuje się gorączką, złym samopoczuciem, osłabieniem, nudnościami, wymiotami, dreszczami, bólami głowy, mięśni i stawów. Charakterystycznym objawem są również krwawe wybroczyny na skórze. Szczególnie ciężką postacią posocznicy meningokokowej jest zespół Waterhouse'a i Friderichsena, tj. piorunująca posocznica o ostrym początku, z wysoką gorączką, DIC oraz martwicą niedokrwienną skóry i narządów wewnętrznych. Posocznica ma charakter zstępujący i prowadzi do zapalenia mięśnia sercowego oraz obustronnego, krwotocznego zniszczenia nadnerczy. Niskie ciśnienie tętnicze i wstrząs rozwijają się nagle, a rokowanie jest niepomyślne.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

IX. Schorzenia wywołane działaniem toksyn bakteryjnych

Zenon Czuba, Dagmara Jaworska

Pierwszy kontakt noworodka ze środowiskiem zewnętrznym nasyconym drobnoustrojami jest początkiem jego kolonizacji przez bakterie. Proces ten jest dynamiczny i zależny zarówno od różnorodności dostępnych drobnoustrojów, jak i właściwości kolonizowanego obszaru, które mogą się zmieniać wraz z rozwojem organizmu. Zewnętrzne drobnoustroje są elementem obcym dla układu odpornościowego. Prowadzi to do ustalania dynamicznych relacji drobnoustrojów z organizmem. Sprawny układ odpornościowy zapewnia ciągłą kontrolę, tolerując jedne i zwalczając inne drobnoustroje. Naruszenie tej subtelnej równowagi może prowadzić do choroby. Odporność wrodzona pozwala szybko zidentyfikować charakterystyczne elementy patogenów (wzorce molekularne patogenów – PAMP) i uruchomić reakcję obronną.

Rodzaje toksyn bakteryjnych

Zarówno składniki komórek bakteryjnych, jak i produkowane przez nie cząsteczki mogą działać toksycznie na organizm. Dawniej wyróżniano endo- i egzotoksyny. Endotoksyny były synonimem lipopolisacharydów, które są elementem ściany bakterii Gram-ujemnych. Natomiast egzotoksyny były produkowane i wydzielane przez bakterie. Obecnie wiemy, że nie tylko lipopolisacharydy, ale również inne elementy komórek bakteryjnych, np. składniki otoczki, peptydoglikan, kwas tejchojowy i lipotejchojowy, flagelina oraz kwasy nukleinowe, mogą działać toksycznie na organizm.

Egzotoksyny

Toksyny bakteryjne są białkami, które mogą produkować zarówno bakterie Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne. Efektem działania toksyn może być bezpośrednie uszkodzenie komórek organizmu (enzymy cytolityczne, np. hemolizyny) lub działanie z wykorzystaniem swoistych receptorów na powierzchni komórek docelowych.

Wiele toksyn składa się z podjednostek A i B. Stąd nazwa toksyny A-B. Podjednostka B takiej toksyny łączy się z receptorem komórkowym, umożliwiając następnie transport do wnętrza komórki podjednostki A (aktywnej), której szkodliwe działanie może dotyczyć rybosomów, mechanizmów transportu oraz substancji pełniących rolę przekaźników w komórce, np. białko G lub cykliczne AMP (*cyclic adenosine monophosphate*).

Niektóre bakterie, np. z rodzaju *Salmonella*, *Shigella* i *Pseudomonas*, wykształciły mechanizm bezpośredniego wstrzykiwania szkodliwych białek efektorowych (system sekrecji typu III) do wnętrza komórki docelowej za pośrednictwem fimbrii. Toksyny bakteryjne mogą również wnikać do płynów ustrojowych powodując zmiany w miejscach oddalonych od tych, gdzie występują drobnoustroje generujące je, np. gronkowcowa toksyna wstrząsu toksycznego.

Z kolei niektóre toksyny mogą pełnić rolę superantygenów. Superantygeny nie wymagają przetworzenia i prezentowania przez komórki prezentujące antygen (*antygen presenting cells* – APC) limfocytom T CD4+. Mają one możliwość łączenia się z łańcuchem β receptora TCR (*T-cell receptor*) limfocytów T, prowadząc do ich stymulacji, która zależnie od czynników kostymulujących może prowadzić do ich

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

nadmiernej aktywacji lub anergii i w konsekwencji do apoptozy. Taka nadmierna aktywacja prowadzi także do ograniczenia odpowiedzi swoistej na prezentowane antygeny połączone z cząsteczkami MHC klasy II. Przykłady toksyn gronkowcowych będących superantygenami wraz z ich opisem przedstawiono w rozdziale VIII.

Niektóre składniki komórek bakteryjnych mogą wykazywać podobieństwo do struktur w komórkach organizmu, prowadząc do reakcji krzyżowych indukujących szkodliwą reakcję układu odpornościowego. Przykładem takiej cząsteczki jest białko M *Streptococcus pyogenes*, mogące indukować m.in. zapalenie mięśnia sercowego.

Innym przykładem aktywności toksycznej może być polisacharyd C i antygen Forssmana (składniki *Streptococcus pneumoniae*); dotyczy ona alternatywnej aktywacji dopełniacza objawiającej się m.in. zwiększoną przepuszczalnością naczyń włosowatych, powstawaniem wysięku oraz napływem leukocytów do miejsca zakażenia.

Endotoksyny

Bardzo istotnymi endotoksynami bakterii Gram-ujemnych są lipopolisacharydy. Cząsteczki te składają się trzech głównych części: lipidu A, regionu oligosacharydowego, zawierającego heptozy i heksozy połączone z lipidem A za pomocą cukru (kwas ketodezoksyoktanowy – KDO), oraz dołączonego do nich długiego łańcucha polisacharydowego, odpowiedzialnego za swoistość antygenową lipopolisacharydu. Wielocukier ten może chronić komórki bakteryjne Gram-ujemne przed bakteriobójczym działaniem surowicy. Bardzo ważną rolę biologiczną w aktywacji komórek (np. makrofagi, limfocyty B) poprzez receptory CD14+ i/lub TLR4 (receptory Toll-podobne) pełni lipid A. Po stymulacji makrofagów lipidem A dochodzi do ich aktywacji i wydzielania m.in. cytokin prozapalnych (IL-1, IL-6 i TNF-α), a w przypadku aktywnych makrofagów dodatkowo dużych ilości reaktywnych form tlenu i azotu (tlenek azotu i jego pochodne). Może to prowadzić do aktywacji kaskady dopełniacza i czynników krzepnięcia, powodujących uszkodzenia śródbłonka oraz inne zmiany metaboliczne i fizjologiczne związane z posocznicą spowodowaną przez bakterie Gram-ujemne. Silna aktywacja mechanizmów krzepnięcia może doprowadzić do zespołu rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC).

Dodatkowo stosowanie antybiotyków działających na ścianę komórkową bakterii Gram-ujemnych może spowodować uwolnienie znacznych ilości lipopolisacharydów w miejscu występowania tych drobnoustrojów. Inne efekty toksyczne lipopolisacharydów to gorączka, trombocytopenia, zmniejszona cyrkulacja obwodowa i perfuzja do głównych narządów organizmu oraz wstrząs. Nadmierna aktywność układu odporności wrodzonej może prowadzić do tzw. burzy cytokin i w konsekwencji do śmierci.

Działanie lipopolisacharydu na organizm możemy obserwować w zjawisku Schwartzmana, w którym wykorzystuje się 2-krotne podanie lipopolisacharydu na modelu zwierzęcym. Pierwsza iniekcja jest wykonywana śródskórnie, w następnym dniu dożylnie. Druga dawka lipopolisacharydu indukuje powstanie martwicy w miejscu pierwotnego podania. Za nekrozę i apoptozę komórek w dużej mierze odpowiada czynnik martwicy guza – TNF-α. Podobne zjawiska możemy obserwować w postaci wybroczyn w zakażeniu *Neisseria meningitidis*.

Efekty biologiczne toksyn bakteryjnych

W wielu przypadkach sama toksyna wyprodukowana na zewnątrz organizmu może spowodować skuteczne objawy zatrucia, np. toksyny botulinowe. W związku z tym wśród toksykoz możemy wyróżnić intoksykacje i toksykoinfekcje. W pierwszym przypadku obserwujemy zmiany patologiczne po wprowadzeniu toksyn do organizmu. W przypadku toksykoinfekcji drobnoustroje zakażają organizm i produkują toksyny odpowiedzialne za zmiany chorobowe, np. botulizm noworodków.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Uwzględniając objawy kliniczne, egzotoksyny można podzielić na:

- enterotoksyny,
- neurotoksyny,
- cytotoksyny.

Jednymi z najsilniej działających toksyn są neurotoksyny botulinowe oraz toksyna tężcowa. To właśnie przede wszystkim wydzielanie tych toksyn powoduje, że niektóre laseczki z rodzaju *Clostridium* określane są jako niezwykle patogenne dla człowieka. *Clostridium* spp. to w większości przypadków niegroźne drobnoustroje saprofityczne, które są częścią naturalnej mikroflory przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt. Jednak niewielka ich część to dobrze poznane patogeny człowieka, odpowiedzialne za zakażenia takie jak: tężec (*C. tetani*), botulizm (*C. botulinum*, *C. baratii*, *C. butyricum*), zapalenie żołądka i jelit (*C. perfringens*), zakażenia skóry i tkanek podskórnych oraz nekrotyzujące zapalenie mięśni i zgorzel gazową (*C. perfringens*, *C. septicum*, *C. novyi*, *C. histolyticum*). Wcześniej do rodzaju *Clostridium* zaliczany był również gatunek *Clostridium difficile*, jednak od 2016 r., po dokładnej analizie sekwencji jego rRNA 16S, został wyodrębniony do rodzaju *Clostridioides.*

Kolejną grupą drobnoustrojów opisaną w niniejszym rozdziale są zakażenia wywołane przez bakterie z rodzaju *Bacillus*, czyli wąglik (*B. anthracis*) oraz zatrucia pokarmowe związane z toksynami *Bacillus cereus.* Jako uzupełnienie opisu intoksykacji pokarmowych umieszczono również opis gronkowcowego zatrucia pokarmowego. Jako jeszcze jeden ważny przykład infekcji wywołanej działaniem toksyn w rozdziale znajduje się opis zakażenia toksynotwórczymi szczepami *Corynebacterium diphtheriae*. Inne toksyny bakteryjne zostały omówione w pozostałych rozdziałach skryptu przy opisie mechanizmów patologicznych z udziałem konkretnych bakterii, które poza toksynami posiadają również inne czynniki zjadliwości.

Choroby wywoływane toksyną tężcową

Tężec jest chorobą, w której obserwuje się wzmożone skurcze mięśni szkieletowych i nadaktywność układu sympatycznego bez zaburzenia świadomości. Czynnikiem etiologicznym tężca są beztlenowe Gram-dodatnie laseczki (*Clostridium tetani*) zdolne do wytwarzania przetrwalników w końcowej części komórki bakteryjnej, nadających im charakterystyczny wygląd przypominający pałeczki dobosza. Obecność przetrwalników umożliwia przeżycie bakterii w niekorzystnych warunkach środowiska, np. wysoka temperatura i wysoki potencjał oksydoredukcyjny. W dogodnych warunkach przetrwalniki przekształcają się w formy wegetatywne, gdzie jest możliwa synteza dwóch toksyn – tetanospazminy i tetanolizyny.

Czynniki zjadliwości

Główne działanie toksyczne wiąże się z działaniem tetanospazminy. Po zakażeniu rany laseczkami tężca synteza toksyny rozpoczyna się już po 6–7 godzinie. Laseczki tężca lub ich przetrwalniki występują m.in. w glebie, kurzu, w strefach przydennych zbiorników wodnych oraz w przewodach pokarmowych zwierząt i ludzi. Powstające rany zanieczyszczone tymi drobnoustrojami, często z ciałami obcymi, które nie są właściwie oczyszczone i zdezynfekowane, w dłuższym czasie mogą stanowić źródło produkowanej tetanospazminy. Takie sytuacje często towarzyszą ciężkim wypadkom i kataklizmom. Czasami przyczyną tężca mogą być również niegroźnie wyglądające i niewłaściwie zaopatrzone otarcia skóry.

Tetanospazmina jest ciepłochwiejną cynkozależną metaloproteinazą należącą do grupy najsilniej działających toksyn biologicznych, a jej dawka śmiertelna wynosi około 2,5 ng/kg masy ciała. W laseczkach tężca jest ona kodowana na niekoniugacyjnym plazmidzie i uwalniana podczas lizy komórek bakteryjnych.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Patogeneza i objawy kliniczne

Po uwolnieniu poprzez limfę i krew toksyna dociera do zakończeń nerwowych. Następnie z przestrzeni subsynaptycznej neuronów pośrednich w rdzeniu drogą transportu wstecznego dostaje się do rdzenia przedłużonego i pnia mózgu. Połączenie z polisialogangliozydami (GT1) neuronów umożliwia fragment ciężki B tetanospazminy, co skutkuje wnikaniem do neuronów fragmentu lekkiego A. Fragment lekki, jako endopeptydaza, hydrolizuje synaptobrewinę odpowiedzialną za egzocytozę kwasu γ-aminomasłowego (GABA) i glicyny. To z kolei uniemożliwia hamowanie odruchów głębokich i aktywności motoneuronów rogów przednich rdzenia. Dodatkowo tetanospazmina hamuje presynaptyczne uwalnianie acetylocholiny z połączeń nerwowo-mięśniowych, prowadząc do osłabienia siły mięśniowej. Powyższa reakcja z gangliozydami jest nieodwracalna.

Objawy w tężcu mają charakter zstępujący i zaczynają się od nerwów głowy, następnie tułowia i kończyn, a okres ich powstawania wynosi średnio 3–21 dni. Typowe objawy są zależne od postaci tężca i najczęściej są to szczękościsk i skurcze mięśni mimicznych oraz szkieletowych. Skurcze mięśni głowy nadają twarzy charakterystyczny uśmiech szydercy (*risus sardonicus*). Inne objawy to tzw. deskowatość brzucha i charakterystyczne łukowate wygięcie grzbietu (*opistotonus*). W uogólnionym tężcu występują skurcze mięśni antagonistycznych, tzw. prężenia.

Można wyróżnić następujące postacie tężca: tężec uogólniony, miejscowy, tężec głowy i tężec noworodków. Objawy tężca uogólnionego mogą utrzymywać się przez 4–6 tygodni. Pobudzenie układu sympatycznego w tej postaci tężca wywołuje gorączkę, potliwość oraz zwiększone wydzielanie śluzu w drzewie oskrzelowym. Ponadto zmiany w układzie krążenia krwi mogą doprowadzić do jego zatrzymania i zgonu chorego. Przechorowanie tężca nie pozostawia odporności.

Tężec noworodków jest związany z zakażeniem kikuta pępowiny, a jego objawy występują najczęściej w ciągu 3–24 dni od porodu. Nieleczony zazwyczaj kończy się śmiercią. Często do takiego zakażenia dochodzi przy braku właściwego zaopatrzenia kikuta pępowiny z pominięciem zasad aseptyki i antyseptyki. Uodpornienie matki przed porodem anatoksyną może chronić noworodka przed zakażeniem laseczką tężca. Szczękościsk w tężcu noworodkowym utrudnia ssanie mleka (tzw. ryjkowate ułożenie ust). Przyczyną zgonu jest najczęściej bezdech i posocznica. U noworodków, które przeżyły tężec, może wystąpić opóźnienie w rozwoju.

W tężcu miejscowym, którego wrotami zakażeń są najczęściej drobne otarcia i rany, początkowe objawy działania toksyny dotyczą jedynie miejsca zranienia; następnie postać miejscowa może przekształcić się w postać tężca uogólnionego. Tężec głowy to postać tężca miejscowego o złym rokowaniu. Przy zakażeniu okolic głowy, karku i szyi, a także zakażeniu mieszanym ucha środkowego z udziałem gronkowca złocistego objawami są szczękościsk oraz po porażeniu nerwu twarzowego lub nerwów czaszkowych oftalmoplegia (zaburzenia ruchomości gałek ocznych) i zespół Hornera (objawy wynikające z zaburzenia współczulnego unerwienia oka: opadnięcie powieki, zwężenie źrenicy, zapadnięcie gałki ocznej i in.).

Leczenie i zapobieganie

W tężcu stosuje się leczenie przyczynowe i objawowe. Leczenie przyczynowe zakłada wykorzystanie swoistych, skierowanych przeciwko toksynie tężcowej immunoglobulin pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego (surowica odpornościowa, czyli antytoksyna). W celu ograniczenia laseczek tężca stosuje się metronidazol. Stosowanie penicyliny, skutecznej w odniesieniu do laseczek tężca, jest ograniczone ze względu na hamowanie przez penicylinę aktywności GABA. Głównym celem leczenia objawowego jest utrzymanie drożności dróg oddechowych, ograniczenie skurczów mięśni szkieletowych oraz częstości i nasilenia prężeń, zabezpieczenie odżywiania pacjenta, ustabilizowanie układu sympatycznego i ograniczenie zatorowości.

Przechorowanie tężca nie pozostawia trwałej odporności. Taką odporność można jedynie wytworzyć w organizmie po zastosowaniu szczepionek zawierających anatoksynę tężcową (odzjadliwioną toksynę

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

tężcową). Odporność bierną można wytworzyć po podaniu antytoksyny tężcowej ludzkiej lub pochodzenia zwierzęcego. Obecnie w Polsce ze względu na skuteczną profilaktykę przed- i poekspozycyjną tężec został radykalnie ograniczony, ale nadal stanowi problem w krajach słabo rozwiniętych.
Profilaktyka przeciwtężcowa zakłada metody nieswoiste, związane głównie z właściwym opracowaniem i zabezpieczeniem ran, oraz metody swoiste, związane ze stosowaniem immunizacji czynnej lub czynno-biernej. W celu immunizacji stosuje się samą anatoksynę tężcową lub w połączeniu z anatoksyną błoniczą i z inaktywowanymi pałeczkami krztuśca (szczepionka DTP – *diphtheria-tetanus--pertussis* – przeciwko błonicy, tężcowi i krztuścowi) lub antygenem pałeczek krztuśca (szczepionka DTPa). Cykl szczepień jest zgodny z obowiązującym kalendarzem szczepień. W przypadku zranienia profilaktyka swoista jest zależna od okresu, jaki minął od ostatniego szczepienia, oraz stopnia zanieczyszczenia rany. W przypadku znacznego zagrożenia i dużego zanieczyszczenia rany, jeżeli okres przekracza 10 lat, stosuje się zarówno anatoksynę tężcową, jak i surowicę odpornościową. W okresie od 5 do 10 lat stosuje się tylko anatoksynę tężcową. Przy uodpornieniu czynnym stosuje się cykl trzech dawek szczepionki. Dokładny schemat obowiązujący w przypadku profilaktyki poekspozycyjnej przedstawiono w tabeli IX.1.

Tabela IX.1 Profilaktyka poekspozycyjna tężca

Historia szczepienia	**Ryzyko wystąpienia tężca**	
	małe[1]	**duże**[2]
Brak szczepienia, szczepienie niekompletne, historia szczepienia niepewna	szczepienie według schematu 0–1–6	szczepienie według schematu 0–1–6 + surowica odpornościowa
Okres od szczepienia przekracza 10 lat	szczepienie – jedna dawka przypominająca	szczepienie – jedna dawka przypominająca + surowica odpornościowa
Okres od 5 do 10 lat od szczepienia	szczepienie – jedna dawka przypominająca	szczepienie – jedna dawka przypominająca
Okres krótszy niż 5 lat od szczepienia	nie ma wskazań do szczepienia	nie ma wskazań do szczepienia; przy szczególnie wysokim ryzyku można rozważyć podanie jednej dawki przypominającej szczepionki

[1] rany świeże, nieznacznie zanieczyszczone, brak tkanki martwiczej
[2] rany zbyt późno opracowane chirurgicznie, mocno zanieczyszczone (np. ziemią czy odchodami), rany kłute, postrzałowe, gryzione, odmrożenia

Zatrucie jadem kiełbasianym

Źródłem toksyn botulinowych najczęściej są Gram-dodatnie beztlenowe laseczki – zdolne do wytwarzania w położeniu subterminalnym przetrwalników – *Clostridium botulinum*. Laseczki te zostały po raz pierwszy odkryte w 1895 r. przez belgijskiego profesora Émile'a van Ermengema. Natomiast toksynę botulinową w formie krystalicznej otrzymał w 1944 r. Edward Schantz. Źródłem tych bakterii może być m.in. gleba, muł, kurz, strefy przydenne zbiorników wodnych, a także przewód pokarmowy zwierząt i człowieka. Bakterie są bezwzględnymi beztlenowcami, stąd do ich rozwoju dochodzi w środowisku z niską zawartością tlenu. Ich powszechność i wytwarzanie przetrwalników charakteryzujących się dużą opornością termiczną sprawia, że mogą zanieczyszczać produkty spożywcze. Wbrew nazwie (*botulus* 'kiełbasa') mogą znaleźć się w wielu innych produktach spożywczych, takich jak ryby i konserwowane produkty roślinne. Proces pasteryzacji nie niszczy przetrwalników, co sprawia, że konserwowana w ten sposób żywność może stwarzać dogodne warunki rozwoju bakterii i produk-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cji toksyny botulinowej. Toksyny botulinowe ulegają inaktywacji dopiero po ogrzewaniu w temperaturze 100°C przez 10 minut.

Czynniki zjadliwości

Obecnie znamy siedem serotypów neurotoksyn botulinowych: A, B, C1, D, E, F, G. Toksyna C2 nie jest neurotoksyną. Toksyny botulinowe uwalniane są podczas rozpadu komórek bakteryjnych. U człowieka za toksykozy najczęściej są odpowiedzialne toksyny A, B i E. Za wytwarzanie toksyn botulinowych znacznie rzadziej mogą być odpowiedzialne *Clostridium baratii* (toksyna F), *Clostridium butyricum* (toksyna E) i *Clostridium argentinense* (nietoksyczna dla człowieka toksyna G).
Toksyny botulinowe (masa cząsteczkowa około 150000 Da) składają się z dwóch fragmentów: lekkiego LC (*light chain*; $m_{cz.}$ około 50000 Da) i ciężkiego HC (*heavy chain*; $m_{cz.}$ około 100000 Da). W obrębie HC możemy wyróżnić dwie domeny: wiążącą i translokacyjną, natomiast w LC domenę enzymatyczną (metaloproteinaza zależna od cynku). Toksyna jest otoczona nietoksycznymi białkami uniemożliwiającymi trawienie jej w żołądku, co różni ją od toksyny tężcowej, która jest wrażliwa na działanie soków trawiennych.

Patogeneza i objawy kliniczne

Toksyny botulinowe w jelitach przechodzą do krwi i limfy, z którymi następnie przedostają się do przestrzeni międzykomórkowej, gdzie działają na synapsy nerwowo-mięśniowe, ograniczając wydzielanie acetylocholiny i tym samym ograniczając przekazanie włóknom mięśniowym impulsów do skurczu.
Mechanizm działania toksyn botulinowych jest podobny i w pierwszym etapie toksyna wiąże się z receptorem na błonie presynaptycznej neuronu za pośrednictwem fragmentu ciężkiego, a następnie przenika do wnętrza komórki w utworzonym endosomie. Na skutek działania pomp protonowych w błonie endosomu dochodzi do obniżenia pH < 5,5, co powoduje zmianę konformacji toksyny (ekspozycja reszt hydrofobowych) i jej osadzenie na błonie synaptycznej. Kolejnym etapem jest redukcja wiązań dwusiarczkowych, prowadząca do rozdzielenia łańcucha ciężkiego od lekkiego toksyny. Następnie łańcuch lekki powoduje degradację białek transbłonowych SNARE (*soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors*). Uszkodzenie jednego z białek SNARE uniemożliwia połączenie pęcherzyka z acetylocholiną z błoną presynaptyczną i wydzielenie jej do przestrzeni synaptycznej. W skład białek SNARE wchodzi synaptobrewina (*vesicle-associated membrane protein* 2 – VAMP2) połączona z błoną pęcherzyka z acetylocholiną oraz syntaksyna związana z białkiem SNAP25 (*soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein 25*) umiejscowiona na błonie presynaptycznej. Utworzenie kompleksu tych trzech białek umożliwia zbliżenie pęcherzyka z acetylocholiną do błony presynaptycznej, a następnie uwolnienie neuromediatora. Toksyny botulinowe typu A i E degradują białko SNAP25, typu B, D, F i G uszkadzają synaptobrewinę, a typu C degradują zarówno syntaksynę, jak i SNAP25. Uszkodzenia białek SNARE są nieodwracalne, co w konsekwencji prowadzi do długotrwałego zwiotczenia mięśni. Poznanie mechanizmu działania toksyn botulinowych umożliwiło prowadzenie prac, których celem jest znalezienie skutecznych inhibitorów działania tych toksyn.
Najlepiej poznaną toksyną botulinową, wykorzystywaną praktycznie, jest typ A. Jej aktywność jest 30 milionów razy większa od jadu kobry. Ze względu na działanie skierowane na synapsy nerwowo-mięśniowe aktywność toksyn botulinowych jest odwrotnie proporcjonalna do powierzchni tych synaps, a nie do masy ciała, co należy uwzględnić w próbach biologicznych. Na przykład dawka śmiertelna dla myszy jest tylko 7-krotnie niższa niż dla człowieka.
Z mechanizmów działania toksyn botulinowych wynikają objawy obserwowane w zatruciach botulinowych. Najczęściej objawy kliniczne występują po 12–36 godzinach od spożycia pokarmu zanieczyszczonego toksyną botulinową. Przy zatruciach mieszanych na początku mogą wystąpić objawy

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

żołądkowo-jelitowe. Im większa zawartość toksyny w pokarmie, tym krótszy czas do wystąpienia objawów.
Charakterystyczne objawy zatrucia botulinowego to podwójne widzenie, zaburzenia akomodacji, rozszerzone źrenice, opadanie powiek, suchość w ustach, trudności w połykaniu pokarmu, obstrukcje, zaburzenia w oddawaniu moczu, obniżona temperatura oraz ogólne osłabienie. Nie dochodzi do zaburzeń świadomości. Objawy zatrucia jadem kiełbasianym mogą utrzymywać się od kilku tygodni do kilku miesięcy.
Możemy wyróżnić botulizm pokarmowy, botulizm niemowląt, botulizm przyranny, botulizm jatrogenny i botulizm aerogenny. Botulizm pokarmowy najczęściej jest związany z zatruciem toksynami A i B, rzadziej E (ryby i produkty pochodzenia morskiego), po zjedzeniu źle zakonserwowanej żywności. Botulizm niemowląt (najczęściej od 1 do 6 miesięcy) wiąże się ze zjedzeniem produktów zawierających laseczki jadu kiełbasianego takich jak miód, a także ziemia i kurz. Nieukształtowana w tym okresie mikrobiota przewodu pokarmowego umożliwia rozwój *Clostridium botulinum* i produkcję toksyny. Charakterystycznym objawem jest osłabienie mięśni (tzw. objaw wiotkiego dziecka). Bardzo rzadko bakterie jadu kiełbasianego mogą kontaminować rany i prowadzić do botulizmu przyrannego. Ostatnie postacie botulizmu są związane z nadmierną dawką toksyny botulinowej stosowanej w terapii lub w zabiegach kosmetycznych, a postać aerogenna jest wynikiem stosowania toksyn botulinowych jako broni biologicznej.

Diagnostyka

W diagnostyce identyfikującej rodzaj toksyny w badanych materiałach można wykorzystać próby biologiczne na białych myszach (stosuje się zwierzęta zabezpieczone poszczególnymi typami antytoksyn i niezabezpieczone), a także różnego rodzaju odmiany metody ELISA. Do identyfikacji bakterii i produkowanych przez nie w hodowli toksyn stosuje się hodowlę w warunkach beztlenowych materiału wcześniej ogrzanego do 80°C oraz techniki PCR.

Leczenie i zapobieganie

Leczenie zakłada neutralizację toksyny w organizmie (można zneutralizować tylko toksynę niezwiązaną) za pomocą surowicy odpornościowej zawierającej najczęściej antytoksyny skierowane do typów toksyn A, B i E. Surowicę do pojedynczego typu toksyny można zastosować po potwierdzeniu, który typ toksyny wywołuje zatrucie. Ponadto, jeżeli stan pacjenta tego wymaga, należy zastosować leczenie objawowe związane z podtrzymaniem funkcji życiowych (umieszczenie pacjenta w ośrodku intensywnej terapii). Przy botulizmie niemowląt i przyrannym należy ograniczyć wzrost bakterii przez zastosowanie terapii przeciwdrobnoustrojowej.
Rozwój laseczek jadu kiełbasianego i tym samym produkcja toksyn są ograniczone w warunkach tlenowych, w środowisku kwaśnym oraz zawierającym wysokie stężenia cukru i soli. Samo zakwaszenie produktu zawierającego toksyny botulinowe powoduje ich stabilizację. Czynnikami ograniczającymi produkcję toksyn, stosowanymi w konserwacji żywności, są azotyny i azotany. Przy przechowywaniu żywności w obniżonej temperaturze dominują procesy gnilne, przy zahamowaniu rozmnażania laseczek jadu kiełbasianego. Stąd cechy organoleptyczne ograniczają spożycie takiej żywności.

Zatrucie pokarmowe wywołane przez *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens jest dużą Gram-dodatnią beztlenową laseczką, która rzadko wytwarza przetrwalniki, jest hemolizująca i bardzo aktywna metabolicznie. Produkcja tzw. letalnych toksyn spowodowała, że gatunek ten podzielono na pięć typów, od A do E.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Czynniki zjadliwości

Chorobotwórczy potencjał tych bakterii zależy od produkowanych przez nie toksyn i enzymów. Wśród czynników zjadliwości należy zwrócić uwagę przede wszystkim na tzw. toksyny letalne. Należą do nich: toksyna alfa (α), toksyna beta (β), toksyna epsilon (ε) i toksyna jota (ι).
Toksyna alfa (która jest lecytynazą) jest produkowana przez wszystkie typy *Clostridium perfringens*. Czynnik ten powoduje lizę erytrocytów, płytek krwi, leukocytów oraz komórek śródbłonka, odpowiada też za masywną hemolizę i destrukcję tkanek. Zakażenia skóry i ran wywołane przez *Clostridium perfringens* zostały opisane w rozdziale VIII.
Toksyna beta jest odpowiedzialna za zniszczenie ochronnej warstwy śluzu i zmiany nekrotyczne w obrębie jelita, co prowadzi do nekrotyzującego zapalenia jelita (tzw. świński brzuch). Produkowana jest przez *Clostridium perfringens* typu C.
Ostatnie z wymienionych, toksyny epsilon i jota, przede wszystkim zwiększają przepuszczalność naczyń krwionośnych.
Szczepy typu A *Clostridium perfringens* wytwarzają również enterotoksynę, która wiąże się z receptorami w obrębie rąbka szczoteczkowego nabłonka jelita i powoduje wzrost przepuszczalności błony komórkowej oraz sekrecję jonów i wody.

Patogeneza i objawy kliniczne

Clostridium perfringens typu A powoduje większość zakażeń u ludzi. Zakażenia w obrębie układu pokarmowego są stosunkowo częste, jednak ze względu na łagodny przebieg rzadko diagnozowane. Objawy obejmują wodnistą biegunkę i bóle brzucha trwające przez 24–48 godzin, ustępujące samoistnie. Źródłem zakażenia są najczęściej produkty mięsne zanieczyszczone laseczkami *Clostridium perfringens* typu A, które produkują enterotoksynę.
Clostridium perfringens typu C powoduje inny typ zakażenia u ludzi, występujący bardzo sporadycznie, zwany – jak już wspomniano – „świńskim brzuchem" lub nekrotycznym zapaleniem jelita. Przebiega z objawami takimi jak ostry ból brzucha, wymioty, krwawa biegunka i perforacja jelita, która często prowadzi do zapalenia otrzewnej i wstrząsu septycznego.

Diagnostyka

Hodowla tych beztlenowych laseczek jest stosunkowo prosta, gdyż bakteria wyrasta szybko nawet na zwykłych podłożach. Jednak w przypadkach zakażeń pokarmowych rzadko kiedy wykonuje się hodowlę ze względu na ich przemijający charakter.

Leczenie i zapobieganie

Rozwojowi laseczek w produktach mięsnych można zapobiegać poprzez szybkie schłodzenie przygotowanych potraw. Innym rozwiązaniem jest podgrzanie żywności powyżej 74°C, co niszczy powstałą enterotoksynę.
Zakażeń pokarmowych wywołanych przez *Clostridium perfringens* nie leczy się antybiotykami, najczęściej ustępują samoistnie.

Zakażenia *Clostridioides difficile* związane z produkcją toksyn

Clostridioides difficile (poprzednia nazwa: *Clostridium difficile*) jest Gram-dodatnią bezwzględnie beztlenową laseczką, występującą naturalnie w środowisku, jak również w organizmach ludzi. Wśród niemowląt i małych dzieci częste jest nosicielstwo *Clostridioides difficile*, jednak rzadko są one w tym wypadku przyczyną rozwoju zakażenia. Drobnoustrój rozprzestrzenia się drogą fekalno-oralną. Ma zdolność do tworzenia przetrwalników, które przeżywają kwaśne pH żołądka, w jelicie cienkim zaś przekształcają się w postacie wegetatywne, które mogą produkować toksyny.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Czynniki zjadliwości

Głównymi czynnikami zjadliwości laseczki *Clostridioides difficile* są toksyna A (enterotoksyna) i toksyna B (cytotoksyna). Enterotoksyna powoduje niszczenie połączeń między komórkami nabłonka jelita, co prowadzi do wzrostu przepuszczalności i rozwoju biegunki. Cytotoksyna z kolei powoduje niszczenie cytoszkieletu i apoptozę komórek nabłonka, co prowadzi m.in. do tworzenia charakterystycznych błon rzekomych. Działanie obu toksyn uzupełnia się, jednak wykazano, że szczepy pozbawione zdolności do syntezy toksyny A nadal pozostają patogenne.

Patogeneza i objawy kliniczne

Zakażenie drobnoustrojem z gatunku *Clostridioides difficile* określane jest jako CDI (*Clostridioides difficile infection*). Jest to obecnie najczęstsza przyczyna zakaźnej biegunki związanej z opieką medyczną w krajach rozwiniętych. Najważniejszą przyczyną CDI jest zaburzenie w składzie flory fizjologicznej jelit spowodowane przyjmowaniem antybiotyków o szerokim spektrum działania. Antybiotykoterapia niszczy naturalną mikroflorę, sprzyjając rozwojowi tych opornych na antybiotyki drobnoustrojów.

Do objawów klinicznych należy biegunka (co najmniej trzy luźne stolce w ciągu 24 godzin), bóle brzucha, leukocytoza. W ciężkich przypadkach rozwija się rzekomobłoniaste zapalenie jelita (*colitis pseudomembranosa*). Bardzo ciężkie postacie CDI obejmują zapalenie jelita grubego z niedrożnością i patologiczne poszerzenie jelita grubego potwierdzone radiologicznie (*megacolon toxicum*). U części pacjentów mimo zastosowanego leczenia dochodzi do nawrotu choroby w ciągu 2–8 tygodni od poprzedniego epizodu.

Diagnostyka

Materiałem do badania jest próbka kału biegunkowego pobrana od pacjenta z podejrzeniem CDI. Ponieważ drobnoustrój ten występuje w składzie naturalnej mikroflory, rozpoznanie zakażenia *Clostridioides difficile* opiera się przede wszystkim na konkretnych objawach klinicznych, tj. wystąpieniu biegunki, czy stwierdzeniu rzekomobłoniastego zapalenia jelit w badaniu endoskopowym, w czasie zabiegu lub w badaniu histologicznym.

Optymalny schemat diagnostyczny nadal jest przedmiotem badań i dyskusji ze względu na trudności w odróżnieniu objawowego CDI od nosicielstwa na podstawie dostępnych badań laboratoryjnych.

Do testów laboratoryjnych wykonywanych podczas diagnostyki CDI należą:

- wykrywanie antygenu GDH (dehydrogenazy glutaminianowej) metodami immunoenzymatycznymi (EIA),
- wykazanie obecności toksyn A i/lub B w kale, wykorzystując testy immunoenzymatyczne (EIA),
- testy amplifikacji kwasów nukleinowych (NAAT) – wykrywają geny dla toksyn, a nie same wolne toksyny,
- wykrywanie toksynotwórczych szczepów *Clostridioides difficile* w posiewie – sama obecność szczepów produkujących toksyny nie jest równoznaczna z rozpoznaniem CDI, gdyż może oznaczać kolonizację.

Leczenie i zapobieganie

U pacjentów z łagodną postacią CDI zazwyczaj wystarczające jest odstawienie antybiotyku, który wywołał schorzenie. W pozostałych przypadkach konieczne jest rozpoczęcie antybiotykoterapii. Lekiem z wyboru w leczeniu CDI jest wankomycyna (lub alternatywnie fidaksomycyna). W przypadkach nie reagujących na leczenie lub po co najmniej trzech nawrotach choroby coraz częściej stosuje się transplantacje mikrobioty jelitowej (*fecal microbiota transplantation* – FMT).

W celu ograniczania szerzenia się zakażenia *Clostridioides difficile* w środowisku szpitalnym należy stosować izolację pacjentów z CDI, przestrzegać procedur mycia i dezynfekcji rąk oraz stosować

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

dezynfekcję otoczenia z użyciem środków sporobójczych. Ograniczeniu rozwoju zakażeń *Clostridioides difficile* służy także właściwa polityka antybiotykowa.

Zatrucia wywołane toksynami *Bacillus cereus*

Gatunki z rodzaju *Bacillus* to Gram-dodatnie tlenowe lub względnie beztlenowe bakterie występujące w otoczeniu. Są to zazwyczaj bakterie nieszkodliwe dla człowieka z wyjątkiem *Bacillus anthracis*, który wywołuje wąglika, i *Bacillus cereus*, odpowiedzialnego za zapalenie żołądka i jelit oraz zakażenia oka czy posocznicę związaną z cewnikami dożylnymi.

Czynniki zjadliwości

Drobnoustrój produkuje dwie enterotoksyny: ciepłostałą, odpowiedzialną za postać wymiotną choroby, oraz ciepłochwiejną, odpowiedzialną za postać biegunkową.

Patogeneza i objawy kliniczne

Postać wymiotna choroby jest najczęściej wynikiem spożycia zanieczyszczonego przetrwalnikami ryżu. Ponieważ przetrwalniki są odporne na gotowanie, gdy ugotowany ryż jest przechowywany w temperaturze pokojowej, przetrwalniki kiełkują, a formy wegetatywne bakterii produkują ciepłostałą enterotoksynę. Przy kolejnym podgrzewaniu enterotoksyna nie jest niszczona i bardzo szybko po spożyciu (1–6 godzin) wywołuje objawy zatrucia, takie jak wymioty i skurczowe bóle brzucha, które bardzo szybko ustępują samoistnie.
Z kolei postać biegunkowa jest najczęściej wynikiem spożycia zanieczyszczonego mięsa lub warzyw. Bakterie namnażają się w jelitach i produkują enterotoksynę ciepłochwiejną. Toksyna ciepłochwiejna podobnie jak toksyny *Escherichia coli* i *Vibrio cholerae* powoduje wzrost cAMP w komórkach nabłonka jelita, co wywołuje wodnistą biegunkę. Ta postać również ustępuje samoistnie po 1–2 dniach bez specjalnego leczenia.

Zakażenia wywołane toksynami *Bacillus anthracis*

W obrębie rodzaju *Bacillus* największą chorobotwórczością cechuje się *Bacillus anthracis,* który jest czynnikiem etiologicznym wąglika. Rezerwuarem tej bakterii są zwierzęta roślinożerne (bydło, kozy, owce), dlatego zakażenia występują głównie u hodowców zwierząt i pracowników zajmujących się przetwórstwem produktów zwierzęcych. Ze względu na chorobotwórczość i występowanie w postaci przetrwalników bakteria ta była wykorzystywana jako broń biologiczna (w formie aerozolu lub proszku).

Czynniki zjadliwości

Do najistotniejszych czynników zjadliwości *Bacillus anthracis* zalicza się egzotoksynę składającą się z trzech różnych białek (czynnika obrzęku, czynnika letalnego i antygenu ochronnego), kodowanych na dużym plazmidzie pXO1. Pojedynczo czynniki te nie wykazują aktywności biologicznej, dopiero po połączeniu się antygenu ochronnego z czynnikiem obrzęku lub letalnym powstają odpowiednio toksyna obrzęku i toksyna letalna. Innym, unikalnym czynnikiem zjadliwości jest otoczka peptydowa utworzona z kwasu D-glutaminowego, mająca właściwości antyfagocytarne.

Patogeneza i objawy kliniczne

Toksyna obrzęku ma aktywność cyklazy adenylanowej i powoduje obrzęk komórek na skutek nagromadzenia wewnątrz komórek cyklicznego adenozynomonofosforanu i w konsekwencji wody. Natomiast toksyna letalna jest metaloproteinazą, która stymuluje makrofagi do wydzielania czynnika martwicy nowotworów (TNF-α) oraz innych cytokin prozapalnych. Powoduje również proteolityczny rozkład białek pośredniczących w przekazywaniu sygnału do komórek, co skutkuje ich śmiercią.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Choroba wywoływana przez laseczkę *Bacillus anthracis* może przybierać różne postacie. Najczęstsza jest postać skórna, występuje też wąglik pokarmowy i wąglik płucny (postać wziewna).
Wąglik skórny rozwija się wtedy, gdy w wyniku naruszenia ciągłości skóry dochodzi do inokulacji spor wąglika. Początkowo zmiana skórna powstająca w miejscu wniknięcia bakterii (najczęściej przez zanieczyszczoną ranę) przybiera formę małej, niebolesnej grudki, która następnie przekształca się w owrzodzenie otoczone pęcherzykami. Po ich pęknięciu tworzy się martwiczy, czarny strup, wokół którego rozwija się silny stan zapalny. Powiększeniu ulegają też lokalne węzły chłonne.
Wąglik pokarmowy rozwija się najczęściej w wyniku spożycia mięsa chorych zwierząt. Bakterie namnażają w węzłach chłonnych jelita, co prowadzi do powstania owrzodzeń w błonie śluzowej, następnie może dojść do uwolnienia bakterii do jamy otrzewnej. Do objawów towarzyszących temu zakażeniu należą wymioty, bóle brzucha, gorączka, i smoliste stolce z obecnością krwi. U chorych często dochodzi do ciężkich powikłań takich jak perforacja jelita i wstrząs septyczny, co może prowadzić do śmierci.
Wąglik płucny to postać, która rozwija się wówczas, gdy przetrwalniki wąglika zawarte w powietrzu dostaną się do pęcherzyków płucnych, gdzie fagocytowane są przez makrofagi i transportowane do okolicznych węzłów chłonnych. Towarzyszą temu nieswoiste objawy, takie jak gorączka, bóle mięśni i suchy kaszel. Po krótkim czasie dochodzi do limfadenopatii i zapalenia tkanki śródpiersia o charakterze krwotocznym, rozwija się też obrzęk płuc. Jest to postać związana z najwyższym stopniem śmiertelności. To właśnie ta postać rozwija się w przypadku ataku bioterrorystycznego z użyciem przetrwalników *Bacillus anthracis.*
Powikłaniem zakażenia wywołanego przez laseczkę wąglika może być zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, bakteriemia i sepsa.

Diagnostyka

Laseczki *Bacillus anthracis* obecne są we krwi w dużej ilości, przy ciężkich postaciach zakażeń, w związku z tym jest to jeden z nielicznych przypadków, gdy można wykryć bakterie i potwierdzić zakażenie metodą mikroskopową w rozmazie krwi obwodowej barwionym metodą Grama. Bakterie występują w postaci długich łańcuszków komórek przypominających sznury.
Drobnoustroje te hoduje się w warunkach tlenowych na zwykłych podłożach mikrobiologicznych lub na agarze z krwią. Kolonie z wyglądu są suche z nieregularnymi krawędziami i licznymi wypustkami (morfologia o kształcie głowy Meduzy).
Ze względu na znaczne ryzyko zakażenia laboratoryjnego jedynie referencyjne laboratoria wykonują takie badania. Zwykle to obraz kliniczny i okoliczności zachorowania powodują, że podejmuje się decyzje o konieczności leczenia. Możliwa jest też szybka diagnostyka z wykorzystaniem metody PCR.

Leczenie i zapobieganie

Zakażenia skórne wywołane przez *Bacillus anthracis* najczęściej są skutecznie leczone penicyliną, doksycykliną oraz cyprofloksacyną. Jednak sposób leczenia i rokowanie zależą w dużym stopniu od postaci choroby. Niestety postać płucna jest związana z bardzo wysoką śmiertelnością, a leczenie skutkuje tylko w przypadku gdy zostanie wdrożone bardzo szybko. W przypadku ekspozycji na przetrwalniki wąglika możliwe jest zastosowanie profilaktyki antybiotykowej i jednoczesne wykonanie szczepienia.
Dostępna jest szczepionka zawierająca oczyszczony antygen ochronny uzyskiwany z atenuowanego szczepu bakterii. Zalecana jest ona osobom pracującym przy hodowli bydła, weterynarzom itp.

Zakażenia wywołane przez *Corynebacterium diphtheriae*

Corynebacterium to Gram-dodatnie pleomorficzne pałeczki, których komórka przybiera kształt maczugi. Bardzo charakterystyczną cechą tych drobnoustrojów jest obecność ziarnistości wewnątrz-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

komórkowych, które stanowią materiał zapasowy. Określane są jako ciałka Ernsta-Babesa (ziarna wolutyny, ziarnistości metachromatyczne).
Bakterie należące do rodzaju *Corynebacterium* występują powszechnie w środowisku, stanowią też część mikroflory skóry i błon śluzowych ludzi oraz zwierząt. Główne szczepy chorobotwórcze *Corynebacterium* to takie, które mają zdolność do wytwarzania toksyny. To właśnie ta toksyna jest odpowiedzialna za objawy choroby zwanej błonicą. Czynnikiem etiologicznym błonicy są zatem toksynotwórcze szczepy maczugowca błonicy (*Corynebacterium diphtheriae*).

Czynniki zjadliwości

Toksyna błonicza zbudowana jest z dwóch podjednostek: A i B. Podjednostka B jest odpowiedzialna za transport podjednostki A przez błonę komórki. Podjednostka A hamuje syntezę białek poprzez inaktywację czynnika elongacyjnego 2 (*elongation factor 2* – EF-2). W wyniku zahamowania procesu translacji białek dochodzi do śmierci komórki.
Maczugowiec błonicy nabywa zdolność do produkcji toksyny tylko wtedy, gdy ulegnie zakażeniu bakteriofagiem β niosącym gen *tox*. Ekspresja genu *tox* jest regulowana przez dostępność wolnych jonów żelaza (Fe^{2+}) w środowisku. Gdy stężenie jonów żelaza jest niskie, dochodzi do indukcji syntezy toksyny błoniczej. Ponieważ w organizmie jony żelaza są głównie związane z białkami, ich niskie stężenie jest sygnałem dla bakterii, aby rozpocząć syntezę toksyny błoniczej.

Patogeneza i objawy kliniczne

Bakterie, które dostają się do organizmu głównie drogą kropelkową, kolonizują błony śluzowe, a wytwarzana przez nie toksyna przenika do krwiobiegu, prowadząc do rozwoju objawów charakterystycznych dla błonicy. Okres inkubacji wynosi około 2–4 dni.
Obraz zakażenia zależy od umiejscowienia i stanu odporności pacjenta. Można zatem wyróżnić główne postacie, takie jak błonica gardła i krtani oraz błonica skóry. Przebieg choroby także może być bardzo różny, od postaci łagodnych, aż po śmiertelne.
Podstawowym i charakterystycznym objawem błonicy są tzw. błony rzekome, które tworzą się w miejscu wniknięcia i namnożenia się bakterii. W skład błon rzekomych wchodzą bakterie, komórki układu odporności, poza tym fibryna i pozostałości martwych komórek. Błony rzekome przy próbie oderwania krwawią. Ponadto do objawów błonicy należy powiększenie węzłów chłonnych (tzw. szyja Nerona). Na skutek obecności błon rzekomych i nasilonego obrzęku u pacjentów dochodzi do zwężenia gardła i krtani.
Wytwarzana przez *Corynebacterium diphtheriae* toksyna oprócz działania miejscowego przenika do krwiobiegu, powodując powikłania systemowe. U pacjentów pojawia się zapalenie mięśnia sercowego oraz uszkodzenie nerwów (głównie nerwów ruchowych), na skutek czego porażone zostają podniebienie miękkie oraz mięśnie gałkoruchowe.
Błonica skóry rozwija się na skutek bezpośredniego kontaktu z osobą zarażoną. Bakterie rozwijają się w miejscach drobnych uszkodzeń skóry, gdzie powstaje grudka, która następnie ulega owrzodzeniu. Gojenie zmian jest powolne, dodatkowo często dochodzi do zakażenia innymi drobnoustrojami, takimi jak *Staphylococcus aureus*.

Diagnostyka

Diagnostyka opiera się na izolacji drobnoustroju i potwierdzeniu toksynotwórczości szczepu. Materiałem do badań są najczęściej wymazy z gardła i jamy nosowo-gardłowej.
Hodowlę prowadzi się na agarze z krwią oraz podłożach przeznaczonych dla maczugowców, takich jak podłoże Loefflera i agar z dodatkiem tellurynu potasu.
W celu wykazania toksynotwórczości szczepów maczugowca błonicy wykonuje się test Eleka (podwójnej immunodyfuzji w żelu agarozowym), oparty na zjawisku precypitacji toksyny wydziela-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

nej przez badany szczep z antytoksyną błoniczą. Obecność genu *tox* u badanych szczepów można potwierdzić metodą PCR.
Specyficznym dla maczugowców barwieniem jest barwienie Neissera, które uwidacznia charakterystyczne dla tych bakterii ziarnistości Ernsta-Babesa.

Profilaktyka i leczenie

Błonica jest obecnie chorobą bardzo rzadką ze względu na skuteczne szczepienia ochronne szczepionką DTP, w której skład wchodzi anatoksyna błonicza, anatoksyna tężcowa i zabite bakterie *Bordetella pertussis*. Odporność poszczepienna na błonicę u dorosłych jest jednak obniżona, dlatego istnieje ryzyko zachorowania, szczególnie u osób podróżujących do krajów endemicznego występowania błonicy.
Odporność na błonicę potwierdza się wykonując próbę Schicka, która polega na podskórnym wstrzyknięciu toksyny błoniczej. Zaczerwienienie i obrzęk oznaczają brak odporności na błonicę (dodatni odczyn Schicka), natomiast brak zaczerwienienia po podaniu toksyny jest wynikiem obecności przeciwciał neutralizujących (odczyn ujemny).
Wdrożenie odpowiedniego leczenia w przypadku błonicy jest konieczne w jak najkrótszym czasie. Podstawowym postępowaniem w przypadku błonicy jest jak najszybsza neutralizacja toksyny błoniczej poprzez podanie antytoksyny. Podaje się także antybiotyki i stosuje leczenie podtrzymujące, takie jak wspomaganie układu sercowo-naczyniowego czy utrzymanie drożności dróg oddechowych. W niektórych przypadkach konieczna jest tracheotomia.

Zatrucia pokarmowe wywołane przez enterotoksyny *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus należy do ważnych patogenów człowieka odpowiadających za wiele zagrażających życiu schorzeń, do których należą przede wszystkim infekcje skóry i tkanek miękkich, a też infekcje w obrębie układu moczowego, oddechowego czy pokarmowego. Dlatego zakażenia wywołane przez ten drobnoustrój pojawiają się w kilku rozdziałach skryptu. W niniejszym opisano jedynie zatrucie pokarmowe związane z produkcją enterotoksyn w żywności, co jest klasycznym przykładem intoksykacji.

Czynniki zjadliwości

Gronkowiec złocisty wytwarza liczne toksyny: cytolityczne, eksfoliatyny, enterotoksyny (A–E) i toksynę TSST-1. Z kolei do enzymów wytwarzanych przez *Staphylococcus aureus* należą: koagulaza i *clumping factor* (CF), hialuronidaza, fibrynolizyna, lipaza czy nukleaza.
Bakterie te posiadają również charakterystyczne białko w ścianie komórkowej, określane jako białko A. Białko to wiąże się z fragmentami Fc przeciwciał klasy IgG.

Patogeneza i objawy kliniczne

Za gronkowcowe zatrucia pokarmowe odpowiadają przede wszystkim enterotoksyny (A–E). Są one ciepłostałe i oporne na działanie enzymów żołądkowych. Produkuje je około 30–50% szczepów gronkowca złocistego. Toksyny te należą do superantygenów, które aktywują nieswoiście limfocyty T i stymulują je do produkcji cytokin prozapalnych.
Gronkowcowe zatrucie pokarmowe jest intoksykacją związaną ze spożyciem żywności zawierającej enterotoksyny. Żywność, która jest najczęściej powiązana z przypadkami tych zatruć, to mięso i jego przetwory, ciasta, sałatki i produkty mleczne oraz żywność garmażeryjna. Do skażenia dochodzi najczęściej w wyniku przeniesienia *Staphylococcus aureus* z rąk pracowników przygotowujących żywność. Po dostaniu się gronkowców do pożywienia następuje namnożenie się bakterii i produkcja toksyn. Ponieważ toksyny są odporne na wysoką temperaturę, w wyniku podgrzewania żywności dochodzi do usunięcia bakterii, ale nie ich toksyn.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Do charakterystycznych cech gronkowcowego zatrucia pokarmowego należą: bardzo krótki czas inkubacji (od 30 minut do 6 godzin) oraz gwałtowny przebieg. Do głównych objawów zalicza się nudności, wymioty i bóle brzucha. Towarzyszyć im mogą biegunka, umiarkowane podwyższenie temperatury ciała i ogólne osłabienie. Objawy zwykle ustępują samoistnie po 24–48 godzinach, a powikłania zdarzają się rzadko i dotyczą najczęściej osób starszych i dzieci.

Diagnostyka

Diagnostyka gronkowcowego zatrucia pokarmowego opiera się zwykle na stwierdzeniu przynajmniej 10^5 komórek *Staphylococcus aureus* w gramie badanej żywności, wykryciu enterotoksyn gronkowcowych w badanej żywności albo wyizolowaniu tego samego szczepu *Staphylococcus aureus* od chorego oraz z żywności powiązanej z zatruciem. Jednak tego typu testy wykonywane są rzadko, gdyż chorzy zazwyczaj nie zgłaszają się po pomoc medyczną ze względu na krótki czas trwania choroby i jej samoograniczający się przebieg.

Leczenie

Leczenie jest głównie objawowe, polegające na uzupełnianiu płynów i elektrolitów oraz stosowaniu leków hamujących biegunkę. Antybiotykoterapia nie jest wskazana, gdyż objawy wynikają z działania toksyny, a nie namnażających się bakterii.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

X. Wybrane zakażenia o etiologii wirusowej

Patrycja Gazy

Wirusowe choroby zakaźne wieku dziecięcego

Choroby wirusowe wieku dziecięcego to zróżnicowana grupa chorób o etiologii wirusowej, charakterystycznej manifestacji klinicznej, ustępujących samoistnie, a przechorowanie pozostawia trwałą odporność. Występują najczęściej u dzieci, ale mogą także dotyczyć dorosłych, wtedy przebieg schorzenia może być dużo cięższy. Przebieg tych chorób często jest na tyle charakterystyczny, że pozwala na postawienie rozpoznania na podstawie typowego obrazu klinicznego. W większości przypadków są to choroby wysypkowe, ale mogą być też przyczyną narządowo-swoistego stanu zapalnego (np. świnka). Leczenie opiera się na postępowaniu objawowym, natomiast główną metodą zapobiegania ich występowaniu w populacji są szczepienia ochronne.

W ciągu wielu lat postępujący wpływ środowisk antyszczepionkowych spowodował gwałtowny spadek odporności populacyjnej, a w połączeniu z nasiloną migracją ludności prawdopodobieństwo kontaktu z odrą, świnką czy różyczką w praktyce ratownika medycznego jest coraz większe. Wczesne rozpoznanie lub nawet wysunięcie podejrzenia wirusowej choroby zakaźnej wieku dziecięcego jest w tym wypadku niezwykle ważne z uwagi na konieczność izolacji chorego i przerwania łańcucha epidemiologicznego.

Na potrzeby niniejszego skryptu rozdział został podzielony na wysypkowe choroby wirusowe wieku dziecięcego, narządowo-swoiste, wyodrębniono także grupę innych chorób wirusowych częściej spotykanych w populacji dziecięcej, do której zaliczono mononukleozę i cytomegalię, gdyż mogą one przebiegać w sposób niecharakterystyczny, trudny w różnicowaniu, zarówno z zajęciem narządów, jak i występowaniem zmian skórnych.

1. Wysypkowe choroby wirusowe wieku dziecięcego

Częstą manifestacją kliniczną wiremii jest wywoływanie chorób skóry. Większość wysypkowych chorób wirusowych przebiega w postaci wysypki plamisto-grudkowej (odra, różyczka, rumień nagły, choroba piąta) lub pęcherzykowej (ospa – wysypka polimorficzna, opryszczka, półpasiec, zespół dłoni, stóp i ust, herpangina). Ważna jest ponadto nie tylko morfologia tych zmian, ale także chronologia ujawniania się kolejnych wykwitów i towarzyszących im objawów dodatkowych. Do klasycznych schorzeń wysypkowych okresu dziecięcego, które zostaną omówione w niniejszym rozdziale, należą:

- rumień nagły (HHV-6),
- rumień zakaźny (tzw. choroba piąta; parwowirus B19),
- opryszczka,
- choroby wywoływane przez wirusy Coxsackie (w tym zespół dłoni, stóp i ust),
- ospa wietrzna i półpasiec,
- odra,
- różyczka.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Ostatnie trzy wymienione choroby wirusowe należy brać pod uwagę w przypadku dzieci nieszczepionych. Wystąpienie którejkolwiek z nich u dziecka zaszczepionego może sugerować niedobór odporności.

Rumień nagły

ETIOLOGIA: Choroba wywoływana jest przez ludzki wirus *herpes* typu 6 i 7 (*human herpesvirus type 6* – HHV-6; *human herpesvirus type 7* – HHV-7). Wirusy te zbudowane są z genomu, na który składa się podwójna nić DNA, otoczonego 20-ściennym kapsydem i otoczką lipidową, pomiędzy nimi zaś znajduje się warstwa zwana tagumentem. Wirusy są wrażliwe na kwasy (w tym m.in. na kwas żołądkowy) oraz na działanie środków dezynfekcyjnych na bazie alkoholu lub środków powierzchniowo czynnych.
DROGA ZAKAŻENIA: Do zakażenia dochodzi najczęściej przez bezpośredni kontakt z zakażonymi ludźmi, w tym także przez kontakty seksualne (najczęściej są to osoby bezobjawowe z zakażeniem latentnym) lub rzadziej pośrednio przez kontakt ze skażonymi przedmiotami. Możliwa jest również wertykalna droga zakażenia – z matki na płód.
OKRES WYLĘGANIA: Wynosi 7–17 dni, najczęściej średnio 9 dni.
ZAKAŹNOŚĆ: HHV-6 i HHV-7 to wirusy występujące powszechnie. Około 60–80% niemowląt jest zakażonych wirusem HHV-6, natomiast pierwotne zakażenie wirusem HHV-7 występuje nieco później, między 2 i 5 rokiem życia. Szacuje się, że 95% populacji dorosłych jest zakażonych tymi wirusami.
PRZEBIEG KLINICZNY: Objawowe pierwotne zakażenie najczęściej występuje u niemowląt i małych dzieci w wieku 6–24 miesięcy. Młodsze dzieci chronione są matczynymi przeciwciałami biernie przekazanymi przez łożysko. Zakażenie przybiera postać tzw. gorączki trzydniowej, co doskonale opisuje naturalny przebieg choroby. U niemowlęcia w dobrej ogólnej kondycji występuje gorączka do 39,4°C, trwająca 3–7 dni (najczęściej 3–4 dni), czasem mogą jej towarzyszyć dodatkowe objawy, takie jak biegunka, kaszel, katar. Fizykalnie można obserwować powiększenie węzłów chłonnych, a także obecność grudkowych wykwitów na błonie śluzowej gardła. W tym okresie mogą również wystąpić drgawki gorączkowe. Gorączka ustępuje nagle, po czym na skórze twarzy i tułowia pojawia się plamisto-grudkowa wysypka. Zmiany skórne samoistnie i szybko bledną, ustępując całkowicie po kilku dniach bez pozostawienia śladu. Jest to najczęściej występująca wysypka u małych dzieci. Po przebytym zakażeniu wirus przybiera formę latentną.

Rumień zakaźny i zespół grudkowo-krwotocznych „rękawiczek i skarpetek”

ETIOLOGIA: Rumień zakaźny wywoływany jest przez ludzki parwowirus B19, będący małym bezosłonkowym wirusem należącym do rodziny *Parvoviridae*, którego genom stanowi jednoniciowy DNA o wysokiej oporności na działanie czynników chemicznych i fizycznych.
DROGA ZAKAŻENIA: Zakażenie rozprzestrzenia się drogą kropelkową, a źródłem są ludzie chorzy lub zakażeni bezobjawowi. Wirus replikuje się głównie w komórkach progenitorowych układu krwiotwórczego, co tłumaczy możliwy przebieg kliniczny infekcji.
OKRES WYLĘGANIA: Najczęściej wynosi 4–14 dni.
ZAKAŹNOŚĆ: Nieznana jest ogólna liczba zachorowań na świecie, jest to jednak najczęstsza choroba wysypkowa u dzieci w wieku szkolnym. Po kontakcie z chorym do zakażenia dochodzi w 50–60%. Obserwowana jest sezonowość zakażeń od późnej zimy do wczesnej wiosny. Przechorowanie pozostawia trwałą odporność.
PRZEBIEG KLINICZNY: Często bezobjawowy lub przypominający łagodne przeziębienie. Postać objawowa przybiera formę rumienia zakaźnego lub zespołu grudkowo-krwotocznych „rękawiczek i skarpetek”. Rumień zakaźny najczęściej jest chorobą o łagodnym przebiegu, może jednak stanowić poważne zagrożenie u osób z niedokrwistością hemolityczną (ryzyko wystąpienia przełomu aplastycznego), niedoborem odporności najczęściej humoralnym (ryzyko wystąpienia przewlekłej niedokrwistości

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

aplastycznej) oraz u kobiet w ciąży (transmisja wirusa do płodu związana jest z rozwojem niedokrwistości i obrzęku uogólnionego płodu stanowiącego wysokie ryzyko zgonu płodu i noworodka). Ryzyko zakażenia płodu jest największe w II trymestrze ciąży; w przypadku stwierdzenia zakażenia u ciężarnej konieczny jest ścisły monitoring ultrasonograficzny rozwijającego się płodu przez 10––12 tygodni. Charakterystykę postaci klinicznych przedstawiono w tabeli X.1.

Tabela X.1. Charakterystyka postaci klinicznych wywołanych zakażeniem ludzkim parwowirusem B19

Postać kliniczna	**Objawy**	**Czas trwania**
Rumień zakaźny	• okres prodromalny – objawy z górnych dróg oddechowych: nieżyt nosa, zapalenie gardła, kaszel, a także gorączka, bóle mięśniowe, nudności • osutka – kiedy się pojawia, kończy się okres zakaźności; występuje głównie u dzieci, u dorosłych rzadko, początkowo postać jasnoczerwonego dobrze odgraniczonego rumienia na policzkach, z ominięciem grzbietu nosa i okolicy ust; po kilku dniach pojawiają się plamki i grudki na skórze ramion, tułowia, kończyn dolnych i pośladków, które zlewając się, przybierają charakterystyczną dla tej choroby girlandowatą wysypkę przypominającą siateczkę lub koronkę; osutka nie występuje na powierzchni dłoni ani podeszew stóp; u dorosłych może jej towarzyszyć świąd • zapalenie stawów – występuje głównie u dorosłych, towarzysząc osutce, lub jako jedyny objaw choroby; zapalenie rozwija się najczęściej symetrycznie w małych stawach rąk, nadgarstka, a także w stawach kolanowych, łokciowych, skokowych	okres prodromalny: 1–7 dni osutka: zwykle po 7–10 dniach od objawów prodromalnych, może się utrzymywać lub nawracać przez 1–3 tygodnie zapalenie stawów: ustępuje samoistnie po około 3 miesiącach, choć zdarza się, że zmiany utrzymują się do kilku miesięcy
Zespół grudkowo-krwotocznych „rękawiczek i skarpetek”	• okres prodromalny – gorączka, brak łaknienia, bóle stawowe • osutka – występuje jeszcze w czasie wiremii i objawów prodromalnych, początkowo jako bolesny obrzęk dłoni i stóp ze zmianami o charakterze wybroczyn i plamicy krwotocznej, ograniczonymi do obu powierzchni dłoni i stóp, nie wykraczającymi poza ostrą granicę na poziomie nadgarstka i kostek; zmianom skórnym towarzyszą często świąd i pieczenie; zakaźność utrzymuje się przez cały czas trwania osutki! • zapalenie jamy ustnej – nadżerki, pęcherzyki, obrzęk warg, wybroczyny na podniebieniu twardym, gardle, języku; UWAGA! Mogą przypominać plamki Koplika (różnicowanie z odrą)	okres prodromalny: do kilku dni osutka: ustępuje samoistnie po 1–3 tygodniach bez złuszczania i blizn zapalenie jamy ustnej: ustępuje samoistnie po 7–14 dniach

Opryszczka

ETIOLOGIA: Czynnikiem etiologicznym są wirusy opryszczki zwykłej HSV-1 i HSV-2, należące do grupy otoczkowych wirusów DNA z rodziny *Herpesviridae*. Jak wszystkie wirusy otoczkowe są one nietrwałe, wrażliwe na wysychanie czy działanie kwasów (w tym żołądkowego), detergentów, alkoholu. Wywołują zakażenia lityczne (prowadzą do śmierci komórek gospodarza – fibroblastów i komórek nabłonka). Posiadają zdolność do zakażenia latentnego neuronów, dając możliwość występowania skąpoobjawowych nawrotów, przez co osoba zainfekowana do końca życia pozostaje źródłem infekcji. DROGA ZAKAŻENIA: Rezerwuarem wirusa są zakażeni ludzie. Wirus wydzielany jest do śliny, wydzieliny pochwowej i płynu pęcherzykowego. Oba typy HSV mogą wywoływać owrzodzenia w jamie ustnej i na genitaliach, jednak typ 1 wirusa częściej szerzy się przez kontakt bezpośredni (np. przez

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

pocałunki, kontakt uszkodzonej skóry ze zmianą opryszczkową, co może prowadzić do samozakażenia i rozprzestrzeniania zmian skórnych, a także być przyczyną zakażeń ocznych i palców) oraz przez pośredni kontakt z przedmiotami skażonymi śliną chorego (tab. X.2).

Tabela X.2. Najważniejsze różnice pomiędzy typami 1 i 2 wirusa HSV

Charakterystyka	**HSV-1**	**HSV-2**
Epidemiologia	występuje powszechnie, przeciwciała obecne u około 90% osób przed ukończeniem 2 roku życia	pierwotne zakażenie występuje później niż HSV-1; uważa się, że zakażonych może być około 25% populacji (dane dla USA)
Droga przenoszenia	najczęściej droga oralna	najczęściej droga genitalna
Neuroinfekcja	częściej pod postacią zapalenia mózgu	częściej pod postacią zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych
Możliwe postacie kliniczne	zapalenie mózgu zapalenie migdałków opryszczka wargowa zapalenie dziąseł i jamy ustnej zapalenie gardła zapalenie przepływu zapalenie tchawicy i oskrzeli infekcje genitalne zanokcica	zapalenie mózgu i opon mózgowo-rdzeniowych zapalenie błony śluzowej jamy ustnej zapalenie gardła infekcje urogenitalne zapalenie odbytu zanokcica
Zakażenie latentne	+	+
Najczęstsza lokalizacja zakażenia latentnego	zwój czuciowy nerwu trójdzielnego	zwój krzyżowy
Zakażenie noworodka	tylko w przypadku infekcji pierwotnej u matki	zarówno w przypadku infekcji pierwotnej, jak i nawrotowej (zakażenie okołoporodowe)

OKRES WYLĘGANIA: Zależny jest od postaci klinicznej, najczęściej 1–26 dni (średnio 6–8 dni).
PRZEBIEG KLINICZNY: Wyróżnia się wiele postaci klinicznych zakażenia. Charakterystyczne dla wszystkich postaci jest występowanie bolesnych zmian pęcherzykowych, zlewających się, wypełnionych klarowną, wodnistą treścią – wysoce zakaźnym płynem pęcherzykowym (tab. X.3).

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela X.3. Najczęstsze postacie kliniczne zakażenia ludzkim wirusem opryszczki

Postać kliniczna	Objawy	Czas trwania
Opryszczka błony śluzowej jamy ustnej i gardła – zakażenie pierwotne	• zakażenie pierwotne a) ostre zapalenie błony śluzowej dziąseł i jamy ustnej – najczęściej występuje u dzieci; okres wylęgania trwa 3––6 dni, po nim występują ostre objawy o gwałtownym początku (wysoka gorączka, obrzęk, zaczerwienienie i bolesność dziąseł, nadżerki i pęcherzyki na błonie śluzowej jamy ustnej, języka, na skórze warg i wokół jamy ustnej) b) ostre zapalenie gardła i migdałków podniebiennych – częściej u dorosłych; najczęściej HSV-1, ale może być również wywołane przez HSV-2, wtedy towarzyszy zmianom na narządach płciowych; objawy – początkowo nieswoiste (gorączka, osłabienie, ból głowy, gardła, mięśni), potem pęcherzyki na midgałkach i tylnej ścianie gardła, po pęknięciu pozostawiają szare nadżerki i owrzodzenia; zmiany na wargach bardzo rzadko; dodatnie objawy oponowe w około 30% w pierwotnym zakażeniu HSV-2 • zakażenie nawrotowe – reaktywacja utajonego wirusa – opryszczka wargowa, przed pojawieniem się wykwitu ból, mrowienie, świąd, następnie na podłożu obrzękowym powstaje grudka, wreszcie pęcherzyk zajmujący określony obszar, zakres zmian znacznie mniej rozległy w porównaniu z zakażeniem pierwotnym	zakażenie pierwotne (w obu postaciach): ostre objawy trwają 5––7 dni, gojenie zmian trwa około 2 tygodni; UWAGA! Okres zakaźności jest dłuższy – wirus wydalany jest w ślinie nawet do 3 tygodni zakażenie nawrotowe: okres zakaźności do 5 dni
Opryszczka narządów płciowych	• zakażenie pierwotne (wywoływane przez HSV-1 i HSV-2) – źródłem zakażenia często jest bezobjawowy nosiciel! Przebieg często ciężki, zwłaszcza u kobiet; objawy: pęcherzyki u mężczyzn na prąciu, rzadziej mosznie, skórze ud, u kobiet na wargach sromowych, kroczu, czasem wewnętrznej powierzchni ud, w pochwie na szyjce macicy; czasem pęcherzykom towarzyszą inne objawy: wyciek śluzowej wydzieliny z cewki moczowej, pochwy, powiększenie i ból węzłów chłonnych pachwinowych, objawy dyzurii • zakażenie nawrotowe – wywoływane głównie przez HSV-2; przebieg łagodny i skąpoobjawowy; zwykle bez objawów ogólnych; u kobiet bolesne pęcherzykowe wykwity na wargach sromowych większych i mniejszych oraz na skórze krocza, u mężczyzn niebolesne pęcherzyki na prąciu	zakażenie pierwotne: objawy dyzurii nawet do 17 dni, pęcherzyki mogą się utrzymywać przez około 20 dni (u mężczyzn około 2 tygodni); okres zakaźności 10––12 dni zakażenie nawrotowe: okres zakaźności około 5 dni
Inne możliwe postacie zakażenia	• opryszczka narządu wzroku – zwykle na skutek samozakażenia; przy częstych nawrotach może prowadzić do bliznowacenia rogówki, a nawet utraty wzroku • opryszczka skóry – zanokcica opryszczkowa, wyprysk opryszczkowy (często u chorych na atopowe zapalenie skóry) i tzw. „opryszczka zapaśników” – na skórze klatki piersiowej, uszu, twarzy i rąk • opryszczkowe zapalenie mózgu – wywoływane przez HSV-1; śmiertelność do 30%; zaburzenia świadomości, drgawki	–

ROZPOZNANIE: Stawiane jest na podstawie całokształtu obrazu klinicznego i wywiadu. W sytuacjach wątpliwych możliwe badanie DNA PCR wirusa z płynu pęcherzykowego, płynu mózgowo-rdzeniowego, ewentualnie hodowla wirusa. Badania serologiczne nieprzydatne we wczesnym okresie zakażenia pierwotnego – przeciwciała pojawiają się po kilku tygodniach od zakażenia.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Choroby wywoływane przez wirusy Coxsackie

ETIOLOGIA: Różnorodna grupa chorób wywoływanych przez wirusy Coxsackie będące enterowirusami należącymi do rodziny *Picornaviridae.* Są odporne na działanie kwasu i środków dezynfekcyjnych zarówno alkoholowych, jak i powierzchniowoczynnych. Mogą przetrwać w środowisku w pokojowej temperaturze nawet przez wiele dni.
W odniesieniu do chorobotwórczości podzielono je na grupy: A (wywołuje herpanginę, krwotoczne zapalenie spojówek, zespół dłoni, stóp i ust) i B (zapalenia mięśni, choroba bornholmska, zapalenie osierdzia i mięśnia sercowego).
DROGA ZAKAŻENIA: Fekalno-oralna przez bezpośredni kontakt z wydzielinami i/lub wydalinami (choroba brudnych rąk).
OKRES WYLĘGANIA: Wynosi 2–14 dni w zależności od typu wirusa, ale najczęściej mniej niż 7 dni.
ZAKAŹNOŚĆ: Występuje sezonowość zachorowań ciepłą porą roku (najczęstsza przyczyna niecharakterystycznej choroby gorączkowej w sezonie letnim).
PRZEBIEG KLINICZNY: Wirusy Coxsackie obu grup mogą wywoływać różnorodne wysypki – różyczko- czy odropodobne, pęcherzykowate, wybroczynowe, czy też przypominające pokrzywkę. Infekcja często wiąże się z wystąpieniem ostrego zapalenia gardła (tzw. herpangina – na łukach podniebiennych, podniebieniu miękkim i na języczku pojawiają się grudki, pęcherzyki, czasem krwotoczne, zwykle z rąbkiem zaczerwienienia). Zazwyczaj nie wywołują kataru ani zapalenia oskrzeli. Ból gardła obserwuje się przez około 5–7 dni. Manifestacje kliniczne przedstawiono w tabeli X.4.

Tabela X.4. Podstawowe manifestacje kliniczne związane z zakażeniem wirusami Coxsackie

Choroba	Objawy
Zespół dłoni, stóp i ust	pęcherzykowe tkliwe wykwity przypominające ospę, ale o różnej lokalizacji – na dłoniowej powierzchni rąk, na stopach, w tym podeszwach, i na błonie śluzowej jamy ustnej; wykwitom towarzyszą często objawy ogólne, złe samopoczucie, gorączka, ból gardła
Ostre krwotoczne zapalenie spojówek	nagły silny ból oka, zaburzenia widzenia ze światłowstrętem i wodnistym wyciekiem z oka; oko obrzęknięte i przekrwione, na spojówce mogą się znajdować pęcherzyki, podspojówkowo wybroczyny
Nieswoista choroba gorączkowa („letnia grypa")	nieswoista gorączka ustępująca w ciągu tygodnia, mogą jej towarzyszyć bóle głowy, złe samopoczucie, objawy ze strony górnych dróg oddechowych; występuje latem i wczesną jesienią
Choroba bornholmska	pleurodynia; wysoka gorączka, której towarzyszy silny kłujący ból w klatce piersiowej – napady bardzo silnego kłującego bólu trwające 15–30 minut (przypominają dźganie nożem); może przypominać zawał mięśnia sercowego; czasem można stwierdzić tarcie blaszek opłucnej

Ospa wietrzna i półpasiec

ETIOLOGIA: Czynnikiem etiologicznym jest wirus ospy wietrznej i półpaśca (VZV) należący do rodziny alfa-herpeswirusów.
DROGA ZAKAŻENIA: Rezerwuarem są wyłącznie ludzie. Zakażenie przenosi się drogą kropelkową, przez kontakt bezpośredni i przez łożysko. Wirus wnika drogą górnych dróg oddechowych i/lub spojówek do okolicznych węzłów chłonnych, po kilku dniach przedostaje się do wątroby i śledziony, gdzie następuje replikacja. Następnie dochodzi do wiremii – uogólnionego zakażenia wielonarządowego z zajęciem komórek nabłonka skóry i błon śluzowych z wytworzeniem charakterystycznych polimorficznych zmian skórnych. W następnej kolejności wirus przybiera formę latentną w komórkach

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

zwojów korzeni grzbietowych – stąd też reaktywacja zakażenia przebiega w formie półpaśca, ze zmianami skórnymi w obrębie jednego dermatomu.

OKRES WYLĘGANIA: Wynosi 10–21 dni, zwykle około 14 dni. U noworodków jest krótszy, u osób z immunosupresją dłuższy, nawet do około 1 miesiąca.

ZAKAŹNOŚĆ: Wysoka! Zaczyna się dwa dni przed wystąpieniem zmian skórnych i trwa aż do przyschnięcia ostatnich pęcherzyków (z wytworzeniem strupka), czyli około 5 dni. Konieczność izolacji! Stwierdzenie przypadku zakażenia należy zgłaszać do sanepidu. Noworodki i niemowlęta z infekcją wrodzoną nie zakażają.

PRZEBIEG KLINICZNY: Zakażenie pierwotne przebiega jako ospa wietrzna, zakażenia nawrotowe przebiegają w formie półpaśca. Zakażenie przybiera niecharakterystyczną formę u noworodków i osób zaszczepionych. Postacie kliniczne przedstawiono w tabeli X.5. WAŻNE! W leczeniu przeciwgorączkowym nie stosować kwasu acetylosalicylowego ze względu na wysokie ryzyko zespołu Reye'a.

Tabela X.5. Przebieg kliniczny zakażenia wirusem ospy wietrznej i półpaśca

Postać kliniczna	**Charakterystyka**	**Czas trwania i okres zakaźności**
1	2	3
Ospa wietrzna – pierwotne zakażenie VZV	• objawy prodromalne (zwiastunowe), nieswoiste – złe samopoczucie, ból mięśni, gardła, nieżyt nosa, gorączka, stan podgorączkowy, ból brzucha • osutka – początkowo w ciągu pierwszych 3–4 dni przekształcające się w rumieniowe plamki, następnie grudki o średnicy około 5–10 mm, na nich pojawiają się pęcherzyki wypełnione początkowo przejrzystym, potem mętnym płynem pęcherzykowym; po kolejnych 2–3 dniach przekształcają się one w krosty zasychające w strupki; po odpadnięciu strupa o niepowikłanym przebiegu powstaje przebarwienie, które ustępuje w kolejnych tygodniach; wykwity zlokalizowane są na skórze całego ciała, także na owłosionej skórze głowy, na błonach śluzowych, z pominięciem dłoniowej powierzchni rąk i podeszwowej stóp; w pełni rozkwitu równocześnie występują zmiany na różnym etapie rozwoju wykwitu; wykwitom towarzyszy intensywny świąd; charakterrystyczna jest także chronologia pojawiania się zmian skórnych – początkowo skóra głowy i tułowia, potem kończyny górne, na końcu kończyny dolne; osutce często towarzyszy gorączka; strupki powikłane infekcją bakteryjną lub po zdrapaniu pozostawiają trwałe blizny	objawy prodromalne: 1–2 dni przed pojawieniem się osutki; zarówno w okresie prodromalnym, jak i osutkowym wysoka zakaźność! Ważny wywiad dotyczący kontaktu z ospą około 10–21 dni przed wystąpieniem objawów; zakaźność do zaschnięcia wszystkich wykwitów, najczęściej około 5 dni od wystąpienia osutki

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cd. tab. X.5

1	2	3
Półpasiec – reaktywacja wirusa u chorych w stanie obniżonej odporności	• czynnikami ryzyka są: starszy wiek (> 65 r.ż), immunosupresja, nowotwory złośliwe, AIDS • zakaźność znacznie mniejsza w porównaniu z ospą wietrzną, konieczny kontakt ze zmianami skórnymi na odsłoniętych częściach ciała • brak ryzyka zakażenia wrodzonego u noworodka (matka musiała wcześniej przebyć ospę z wytworzeniem przeciwciał, które przekazała biernie przez łożysko), ale możliwe zakażenie noworodka przez kontakt ze zmianami pęcherzykowymi! Nie należy przerywać karmienia piersią (przekazywanie przeciwciał noworodkowi), chyba że wykwity występują na piersi, wtedy zaleca się przystawianie do piersi zdrowej i koniecznie osłanianie wykwitów • przebieg kliniczny: a) okres zwiastunowy – występuje u większości chorych – ból ciągły lub sporadyczny, piekący, pulsujący, kłujący, wyzwalany dotykiem, parestezje, mrowienie, świąd w obrębie dermatomu b) okres zmian skórnych – polimorficzna wysypka w obrębie dermatomu, występująca w skupiskach w obrębie unerwienia nerwów czuciowych, najczęściej na skórze tułowia w obrębie dermatomów Th3-L3, lub na skórze głowy – w zakresie unerwienia czuciowego nerwów czaszkowych, najczęściej V, VII i VIII, asymetrycznie – po jednej stronie ciała (patrz ryc. X.1); zmianom skórnym towarzyszą ból i świąd • szczególne postacie półpaśca: a) półpasiec oczny – wzdłuż unerwienia nerwu V – przebieg może być ciężki i prowadzić do upośledzenia widzenia oraz ślepoty, a także porażenia nerwu okoruchowego b) półpasiec uszny – wzdłuż nerwów obwodowych zwoju kolanka, zajęcie nerwu VIII – wykwity na małżowinie, okolicy zamałżowinowej, w przewodzie słuchowym zewnętrznym, na błonie bębenkowej; towarzyszą im szumy uszne, ból ucha, zawroty głowy c) półpasiec rozsiany – uogólniony ze zmianami wielonarządowymi, występuje głównie u chorych na chłoniaki	okres zwiastunowy: 3––4 dni przed wystąpieniem wykwitów i może trwać po ich ustąpieniu. U osób starszych i z obniżoną odpornością ból może utrzymywać się nawet > 30 dni od początku choroby
Ospa wietrzna wrodzona	• zakażenie w I, II trymestrze ciąży najczęściej prowadzi do obumarcia płodu/poronienia lub wystąpienia zespołu ospy wietrznej wrodzonej • największe zagrożenie dla noworodka stanowi wystąpienie objawów ospy u ciężarnej od 5 dni przed urodzeniem dziecka do 2 dni po porodzie z uwagi na zbyt krótki czas na wytworzenie przeciwciał u matki, które przenikając przez łożysko, chroniłyby noworodka (wysokie ryzyko ciężkiego przebiegu zachorowania i zgonu noworodka); wysokie ryzyko ciężkiego przebiegu także dla ciężarnej, dlatego też konieczne jest podanie swoistej immunoglobuliny chroniącej przed ciężkim przebiegiem zachorowania. UWAGA! Pierwsze objawy u noworodka mogą wystąpić dopiero po kilku dniach od urodzenia, zgodnie z odpowiednim okresem wylęgania; aktualnie uważa się, że izolacja donoszonego noworodka od matki nie jest konieczna, wystarczającym zabezpieczniem jest podaż swoistej immunoglobuliny; możliwe jest także karmienie piersią. Wcześniaki powinny być izolowane od matek i karmione mlekiem odciągniętym.	noworodki z zespołem ospy wietrznej wrodzonej nie zakażają; noworodek matki, u której objawy ospy wystąpiły od 5 dni przed urodzeniem dziecka do 2 dni po porodzie – zarówno matkę, jak i dziecko należy izolować od innych noworodków

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cd. tab. X.5

1	2	3
Ospa wietrzna u osób zaszczepionych	przebieg bardzo łagodny, znacznie mniejsza liczba wykwitów plamisto-grudkowych, bardzo rzadko z wytworzeniem typowego pęcherzyka	–

PROFILAKTYKA POEKSPOZYCYJNA: Konieczna jest w przypadku narażonych na ospę z grupy wysokiego ryzyka ciężkiego przebiegu choroby, przy czym ważny jest czas! Do profilaktyki poekspozycyjnej zalicza się szczepienie, podaż swoistej immunoglobuliny i profilaktyczną podaż leku przeciwwirusowego – acyklowiru. Grupy ryzyka wymagające zastosowania profilaktyki:

- pacjenci z pierwotnymi i nabytymi niedoborami odporności, z przewlekłą immunosupresją, (np. biorcy przeszczepów, chorzy na zespół nerczycowy),
- ciężarne z wysokim ryzykiem ciężkiego przebiegu ospy – najczęściej po 20 tygodniu ciąży,
- noworodki matek, u których objawy ospy wystąpiły 5 dni przed i 2 dni po urodzeniu dziecka,
- narażone na ospę wszystkie wcześniaki poniżej 28 tygodnia ciąży i z urodzeniową masą ciała < 1000 g, niezależnie od statusu uodpornienia matki (wydolny przezłożyskowy transfer przeciwciał zabezpieczający płód przed zachorowaniem na ospę możliwy po 28 tygodniu ciąży).

Ryc. X.1. Ewolucja zmian w półpaścu.
Źródło: materiał własny dzięki uprzejmości lek. Sabiny Olszowskiej.

Odra

ETIOLOGIA: Czynnikiem etiologicznym jest wysoce zakaźny wirus odry należący do rodziny paramyksowirusów – grupy wirusów RNA.
DROGA ZAKAŻENIA: Rezerwuarem wirusa są wyłącznie ludzie.
OKRES WYLĘGANIA: Wynosi 8–12 dni (średnio 10 dni).
ZAKAŹNOŚĆ: Wysoka. Chory zakaża od wystąpienia objawów zwiastunowych do 3–4 dni po ustąpieniu osutki. Konieczność izolacji! Stwierdzenie przypadku zakażenia należy zgłaszać do sanepidu. Wirus pozostaje zakaźny w powietrzu i na skażonych powierzchniach nawet do 2 godzin.
PRZEBIEG KLINICZNY: Przedstawiono w tabeli X.6.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela X.6. Przebieg kliniczny zakażenia wirusem odry

Charakterystyka	Objawy	Czas trwania
Objawy zwiastunowe	• wysoka gorączka (około 40°C) • suchy kaszel • nieżyt nosa • zapalenie spojówek ze światłowstrętem i obrzękiem powiek	okres nieżytowy: 1–7 dni zapalenie spojówek: 1–2 tygodnie, ustępuje wraz z ustąpieniem gorączki
Plamki Koplika	• objaw patognomomiczny • szarobiałe grudki na błonie śluzowej policzka w okolicy zębów przedtrzonowych	1–2 dni przed wystąpieniem osutki i utrzymują się do 1–2 dni po jej ustąpieniu
Osutka plamisto-grudkowa	• plamki i grudki zlewające się ze sobą o barwie od ciemnoczerwonej do fioletowej • wykwity pojawiają się w charakterystycznej kolejności – najpierw na głowie (czoło poniżej linii włosów, za uszami), następnie schodzą niżej na tułów i kończyny, pokrywając całą skórę z pozostawieniem białych pasm oszczędzonej skóry (tzw. skóra lamparcia); zmiany zanikają w tej samej kolejności z pozostawieniem brunatnych przebarwień i delikatnym złuszczaniem naskórka	wykwity pojawiają się przez około 2–4 dni i zanikają po 3–7 dniach
Powikłania	• zapalenie ucha środkowego, płuc, mózgu, mięśnia sercowego, drgawki, ślepota • wtórne zakażenia bakteryjne • podostre stwardniające zapalenie mózgu – największe ryzyko u dzieci < 2 r.ż. – powoduje postępujące latami uszkodzenie mózgu, prowadząc nieuchronnie do zgonu	–

Różyczka

ETIOLOGIA: Czynnikiem etiologicznym jest wirus różyczki (*rubella*), będący wirusem RNA należącym do rodziny *Togaviridae.*

DROGA ZAKAŻENIA: Rezerwuarem są ludzie. Do zakażenia dochodzi głównie drogą kropelkową, a także przez kontakt bezpośredni z materiałem zakaźnym (mocz, krew, kał, wydzielina z dróg oddechowych) oraz przez łożysko.

OKRES WYLĘGANIA: Wynosi 12–23 dni.

ZAKAŹNOŚĆ: Zakaźność jest wysoka w dłuższym i częstym kontakcie. Okres zakaźności wynosi od 7 dni przed wystąpieniem osutki do około 6 dni po jej ustąpieniu. UWAGA! Dzieci z zespołem różyczki wrodzonej bardzo długo wydalają wirusa z moczem, nawet powyżej 12 miesięcy. Konieczne są izolacja i zgłaszanie zakażenia do sanepidu.

PRZEBIEG KLINICZNY: W około 50% przypadków przebieg jest bez- lub skąpoobjawowy (tab. X.7).

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela X.7. Przebieg kliniczny zakażenia wirusem różyczki

Przebieg naturalny	Objawy	Czas trwania
Objawy zwiastunowe	złe samopoczucie, ból głowy, mięśni, nieżyt nosa, suchy kaszel, zapalenie spojówek (UWAGA! bez światłowstrętu), gorączka, stan podgorączkowy	kilka dni
Powiększenie węzłów chłonnych	węzły chłonne potyliczne i karkowe, zauszne i szyjne; często jedyny objaw	pojawia się 1 dzień przed wystąpieniem osutki, utrzymuje się nawet kilka tygodni
Osutka	plamista lub plamisto-grudkowa, na twarzy wykwity się zlewają, przypominając odrę, na tułowiu bardziej przypomina osutkę płoniczą charakterystyczna jest chronologia pojawiania się zmian! Najpierw za uszami, na twarzy zajmując także przestrzeń między fałdami policzkowymi, na skórze tułowia, po 1–2 dniach obejmuje także kończyny	wykwity zanikają po 2–3 dniach bez przebarwień, czasem z dyskretnym złuszczaniem

RÓŻYCZKA WRODZONA: Zachorowanie ciężarnej w I lub II trymestrze ciąży grozi poronieniem, obumarciem wewnątrzmacicznym płodu, rozwojem licznych poważnych wad wrodzonych, a im wcześniej w ciąży dochodzi do zakażenia, tym rozleglejsze i poważniejsze są nieprawidłowości. Zakażenie ciężarnej po 22 tygodniu ciąży nie stanowi niebezpieczeństwa dla płodu. Zaleca się ocenę przeciwciał IgG przeciw różyczce u ciężarnych lub najlepiej na etapie planowania ciąży. Przy ujemnym mianie zaleca się szczepienie kobiet planujących ciążę. Wady wrodzone w zespole różyczki wrodzonej to przede wszystkim wrodzone wady serca, upośledzenie słuchu typu odbiorczego, zaćma (triada Gregga), a także małogłowie i upośledzenie rozwoju psychoruchowego.

2. Narządowo-swoiste choroby wirusowe wieku dziecięcego

Świnka (nagminne zapalenie przyusznic)

ETIOLOGIA: Czynnikiem etiologicznym świnki jest wirus RNA z rodziny paramyksowirusów, podobnie jak wirus odry.
DROGA ZAKAŻENIA: Do zakażenia dochodzi drogą kropelkową przez kontakt bezpośredni z chorym lub pośredni z zakaźnym materiałem i zakażonymi przedmiotami (krew, płyn mózgowo-rdzeniowy, ślina, mocz). Wrota zakażenia stanowią drogi oddechowe, a wstępna replikacja odbywa się w komórkach nabłonka oddechowego. Rezerwuarem wirusa jest człowiek chory lub zakażony bezobjawowy.
OKRES WYLĘGANIA: Wynosi 14–21 dni.
ZAKAŹNOŚĆ: Trwa od 7 dni przed wystąpieniem obrzęku ślinianki przyusznej do 9 dni po jego wystąpieniu. UWAGA! W moczu wirus wydalany jest dłużej, nawet do 2 tygodni.
PRZEBIEG KLINICZNY: Przebieg bezobjawowy możliwy jest w 20–30%.
PRZEBIEG OBJAWOWY: Przedstawiono w tabeli X.8.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela X.8. Przebieg kliniczny i możliwe powikłania zakażenia wirusem świnki

Przebieg kliniczny	**Charakterystyka**	**Czas trwania**
Okres prodromalny	objawy grypopodobne	1–7 dni przed wystąpieniem zapalenia ślinianek
Zapalenie ślinianek	Najczęściej (60–70%) dotyczy zajęcia ślinianek przyusznych, zwykle obustronnie (kolejno lub jednocześnie): a) ból nasilający się w trakcie jedzenia, zwłaszcza kwaśnych produktów, obrzęk (ślinianka „ciastowata") ze stopniowym obejmowaniem tkanek otaczających, odsuwając na zewnątrz małżowinę uszną b) zaczerwienienie ujścia ślinianki przyusznej i obrzęk na błonie śluzowej policzka, zmniejszenie wydzielania śliny, suchość w ustach c) trudności w otwieraniu ust, żuciu pokarmu	stopniowe ustępowanie obrzęku do około 7 dni
Objawy ogólne	gorączka (38–39°C), ogólne złe samopoczucie, osłabienie, ból głowy	równolegle z zapaleniem ślinianek, czas trwania 3–4 dni
Przebieg powikłany		
Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych	częstość występowania 60–70%; przebieg najczęściej bez- lub skąpoobjawowy; objawy (z dodatnimi objawami oponowymi) dotyczą głównie chorych dorosłych, najczęściej o małym nasileniu	między 4 i 8 dniem choroby, ustępuje samoistnie w ciągu około tygodnia
Zapalenie jąder i najądrzy	częstość występowania 30–40%; jedno- lub obustronne; objawy występują nagle – silny ból podbrzusza i jądra promieniujący do krocza, moszna obrzęknięta, nadmiernie ucieplona, zaczerwieniona; może towarzyszyć gorączka, dreszcze, nudności wymioty; możliwe powikłanie – upośledzenie funkcji plemnikotwórczej i niepłodność!	występuje zwykle pod koniec pierwszego tygodnia choroby, trwa około 4 dni
Zapalenie jajnika	częstość występowania 5–7%; jedno- lub obustronne; ból, tkliwość podbrzusza, mniej nasilone niż w przypadku zapalenia jądra u chłopców; może imitować zapalenie wyrostka robaczkowego; niepowikłane niepłodnością	jw.
Zapalenie trzustki	częstość < 10%; ostry ból w nadbrzuszu promieniujący do pleców i na stronę lewą, nudności, wymioty, biegunka, gorączka, dreszcze; zwiększona aktywność lipazy i amylazy w surowicy	około 7 dni

3. Inne choroby wirusowe częściej spotykane w populacji dziecięcej

Mononukleoza zakaźna

ETIOLOGIA: Czynnikiem etiologicznym jest wirus Epsteina-Barr (EBV) należący do podrodziny gamma-herpeswirusów. Atakuje bardzo niewiele gatunków i wykazuje tropizm do limfocytów B, a także niektórych komórek nabłonka jamy nosowo-gardłowej.
DROGA ZAKAŻENIA: Ludzie są jedynym rezerwuarem. Do zakażenia dochodzi po kontakcie ze śliną chorego lub zakażonego człowieka (przez bliski kontakt, np. przez pocałunki – „choroba pocałunków", lub dzielenie się kęsami pokarmu, picie z jednej butelki). Ryzyko zakażenia występuje również przez przetoczenie krwi, przeszczep komórek krwiotwórczych lub narządów litycznych
OKRES WYLĘGANIA: Wynosi 30–50 dni.
ZAKAŹNOŚĆ: Zakaźność jest stosunkowo mała (konieczny bliski kontakt z zakażoną śliną), ale utrzymuje się długo, nawet do 1,5 roku, najczęściej około 6 miesięcy.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

PRZEBIEG KLINICZNY: Wirus wnika do komórek nabłonka gardła, zakaża i aktywuje limfocyty B, te zaś stymulują proliferację limfocytów T, wskutek czego rozwijają się typowe objawy – gorączka, zapalenie gardła i migdałków, powiększenie węzłów chłonnych, wątroby i śledziony. U niemowląt i małych dzieci przebieg zakażenia może być bezobjawowy. Obraz kliniczny może sugerować anginę paciorkowcową, a do czynników różnicujących zalicza się:

- objawy uogólnione – uogólnione powiększenie węzłów chłonnych, a nie tylko szyjnych, powiększenie wątroby, śledziony,
- dłużej trwająca gorączka,
- obrzęk powiek,
- w badaniach dodatkowych leukocytoza z przewagą limfocytów i obecnością tzw. limfocytów atypowych w rozmazie manualnym krwi, a także obecność przeciwciał heterofilnych,
- wystąpienie drobnoplamistej osutki po zastosowaniu antybiotyków (najczęściej po ampi- i amoksycylinie) po około 7–10 dniach od zastosowania pierwszej dawki antybiotyku.

Przebieg i postacie kliniczne przedstawiono w tabeli X.9.

Tabela X.9. Przebieg i postacie kliniczne zakażenia wirusem Epsteina-Barr

Przebieg kliniczny	**Charakterystyka**	**Czas trwania**
Okres prodromalny	objawy grypopodobne	1–2 tygodnie
Zapalenie gardła i migdałków	silny ból gardła, gardło intensywnie zaczerwienione, wybroczyny na podniebieniu, migdałki powiększone, pokryte biało-żółtym wysiękiem, przykry zapach z ust, gorączka do 40°C	gorączka trwająca kilkanaście dni, wyjątkowo nawet do 5 tygodni
Limfadenopatia i powiększenie śledziony	węzły chłonne są znacznie powiększone, nawet > 3 cm, twarde, bolesne, przesuwalne względem podłoża, nie tworzą pakietów; u dzieci częściej limfadenopatia uogólniona, u młodzieży i u dorosłych powiększone są głównie węzły chłonne szyjne tylne, przednie i podżuchwowe; u połowy chorych obserwuje się także splenomegalię	limfadenopatia – trwa najdłużej, nawet do 6 miesięcy splenomegalia – trwa 7–10 dni
Wysypka	drobnoplamista lub drobnogrudkowa u niewielkiego odsetka pacjentów osutka może występować po zastosowaniu antybiotyków (w 80–90% po zastosowaniu ampicyliny, w około 30% po zastosowaniu amoksycyliny) – odropodobna, swędząca na skórze i błonach śluzowych	–
Inne	słaba tolerancja wysiłku, osłabienie, zaoczodołowe bóle głowy	tzw. zespół przewlekłego zmęczenia może trwać nawet > 6 miesięcy
Powikłania	zapalenie wątroby (podwyższone aminotransferazy, powiększenie wątroby, zwykle bez żółtaczki) niedokrwistość hemolityczna, neutropenia, aplazja szpiku znaczne powiększenie śledziony z wysokim ryzykiem pęknięcia po urazie zapalenie mózgu i opon mózgowo-rdzeniowych zespół limfoproliferacyjny – u osób z niedoborami odporności, chorych na AIDS, biorców przeszczepów przewlekłe aktywne zakażenie EBV – postać występująca bardzo rzadko	–

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

LECZENIE: Leczenie jest objawowe, zaleca się odpoczynek, unikanie wysiłku. UWAGA! W przypadku znacznego powiększenia śledziony może być konieczna obserwacja w warunkach szpitalnych z uwagi na duże ryzyko pęknięcia. Leczenie przeciwwirusowe jedynie w zespołach limfoproliferacyjnych.

Cytomegalia

ETIOLOGIA: Zakażenie wywołane jest przez wirus DNA należący do rodziny *Herpesviridae.*
DROGA ZAKAŻENIA: Rezerwuarem wirusa jest człowiek. Do zakażenia dochodzi przez kontakt bezpośredni z chorym lub jego wydzielinami (mocz, ślina, łzy), a także mlekiem kobiecym (cytomegalia okołoporodowa). Przenosi się także drogą krwiopochodną (transfuzja krwi, przeszczepy narządów), przezłożyskową (cytomegalia wrodzona) i płciową (nasienie, wydzielina pochwowa, szyjkowa).
OKRES WYLĘGANIA: Nie jest dokładnie określony, po transfuzji krwi około 3–12 tygodni, po przeszczepie od 4 tygodni do 4 miesięcy.
ZAKAŹNOŚĆ: Wirus występuje powszechnie. Zakażenie trwa całe życie, a wirus może być bezobjawowo wydzielany przez miesiące, a nawet lata. W populacji dzieci w wieku między 2 i 4 rokiem życia seropozytywność obserwuje się w ponad 66%.
PRZEBIEG KLINICZNY: Przebieg zakażenia zależy od stanu immunologicznego pacjenta:
– u zdrowych dzieci i dorosłych przebieg najczęściej bezobjawowy, ale może też wystąpić tzw. zespół mononukleozy z ujemnymi przeciwciałami heterofilnymi,
– u noworodków – zakażenie wrodzone (drogą krwiopochodną, przezłożyskową) i okołoporodowe (w trakcie porodu kontakt z wydzieliną dróg rodnych, mlekiem matki),
– u chorych z zaburzeniami odporności, w immunosupresji – objawowe zakażenia pierwotne i nawrotowe,
– u biorców przeszczepów i preparatów krwiopochodnych – przebieg może być bezobjawowy lub mononukleozopodobny; jest to częsta przyczyna niepowodzeń przeszczepów nerek.

Poszczególne postacie kliniczne przedstawiono w tabeli X.10.

Tabela X.10. Postacie kliniczne cytomegalii (*cytomegalovirus* – CMV)

Postać kliniczna	Charakterystyka	Diagnostyka
Zakażenie wrodzone	• CMV jest najczęstszym wirusowym zakażeniem u noworodków i najczęstszą przyczyną wirusowych wad wrodzonych (główna przyczyna niedosłuchu o podłożu niegenetycznym) • zakażenie drogą przezłożyskową zarówno w okresie pierwotnego, jak i wtórnego zakażenia, ale ryzyko wyższe w przypadku serokonwersji w ciąży (zakażenie pierwotne) • 85–90% zakażeń przebiega po urodzeniu bezobjawowo, co nie zmniejsza ryzyka niekorzystnych następstw (niedosłuchu, uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego) • ryzyko transmisji rośnie wraz z czasem trwania ciąży, ale ryzyko niekorzystnych następstw jest najwyższe w zakażeniach w pierwszej połowie ciąży • u ciężarnych z przewlekłym zakażeniem CMV ryzyko transmisji jest niskie (1–3%) • główne objawy – hipotrofia, małogłowie, poszerzenie układu komorowego mózgu, zwapnienia w mózgu, hepatosplenomegalia, wrodzone zapalenie płuc, aseptyczne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie siatkówki i naczyniówki oka, neutropenia, małopłytkowość, wysypka wybroczynowa	złotym standardem jest badanie PCR w kierunku CMV w moczu noworodka do 21 doby życia ujemny wynik PCR w moczu pozwala na wykluczenie wrodzonej cytomegalii konieczna długotrwała obserwacja audiologiczna

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cd. tab. X.10

1	2	3
Zakażenie okołoporodowe	• u zdrowych, donoszonych noworodków zakażenie przebiega bezobjawowo, w ciągu 3–4 tygodni od zakażenia stają się wydalaczami wirusa (co może się utrzymywać nawet przez kilka lat!) • u noworodków urodzonych przedwcześnie choroba może przebiegać z zapaleniem wątroby, małopłytkowością, zapaleniem płuc – częstym źródłem zakażenia jest mleko matki, może być też spowodowane transfuzjami preparatów krwiopochodnych • ryzyko odległych następstw jest znikome	badanie PCR w kierunku CMV w moczu noworodka
Zakażenie CMV u osób immunokompetentnych	• przebieg najczęściej bezobjawowy • przebieg objawowy stanowi zespół mononukleozy z ujemnymi przeciwciałami heterofilnymi – objawy typowe jak w przypadku mononukleozy – limfadenopatia, hepatosplenomegalia (częściej u dzieci), gorączka (częściej u dorosłych), ból, zapalenie gardła, w badaniach laboratoryjnych częściej niż w EBV wzrost aktywności aminotransferaz, brak przeciwciał heterofilnych, limfocytoza z obecnością limfocytów atypowych	stwierdzenie dodatnich przeciwciał IgM przeciw CMV dodatnie miano przeciwciał IgG na początku choroby świadczy o przebytym zakażeniu
Zakażenie u chorych z zaburzeniami odporności i biorców przeszczepów, w immunosupresji	• pierwotne i nawrotowe zakażenia oportunistyczne CMV • cytomegalowirusowe zapalenie płuc – o ciężkim przebiegu, nieleczone może prowadzić do zgonu chorego • inne prezentacje kliniczne: zapalenie przełyku, odbytnicy, siatkówki, zapalenie mózgu	badanie PCR w moczu, materiale biopsyjnym, krwi, popłuczynach oskrzelowych u pacjentów z AIDS miano swoistych przeciwciał IgM może być bardzo wysokie ocena miana przeciwciał IgG i IgM jest nieadekwatna

PROFILAKTYKA: Szczepionka nie istnieje. W profilaktyce stosuje się testowanie dawców szpiku i krwi w kierunku infekcji CMV. Stosowanie dożylnych preparatów immunoglobulin IVIG ma niewielkie znaczenie w profilaktyce.

4. Choroby wirusowe przenoszone drogą krwiopochodną

Krwiopochodna droga zakażenia stanowi szczególne ryzyko w zawodzie ratownika medycznego, dlatego też na potrzeby niniejszego skryptu nieco sztucznie wydzielono kategorię chorób wirusowych przenoszonych tą drogą. Omówione zostaną wirusy pierwotnie hepatotropowe, będące czynnikami etiologicznymi wirusowego zapalenia wątroby i ludzki wirus niedoboru odporności (HIV). Poza obrazem klinicznym zakażenia szczegółowo zostaną omówione metody profilaktyki pierwotnej, a także postępowanie poekspozycyjne.

Wirusowe zapalenia wątroby (WZW)

Ostre wirusowe zapalenie wątroby to szybko postępujące uszkodzenie wątroby na tle zmian zapalnych i martwiczych wywołanych przez wirusy pierwotnie hepatotropowe (wirusy zapalenia wątroby A, B, C, D i E) i wtórnie hepatotropowe (herpeswirusy, adenowirusy, enterowirusy, wirus odry, paragrypy, różyczki, Dengi, żółtej gorączki, filowirusy Ebola i Marburg, parwowirus B19).

- Ostre WZW typu A

ETIOLOGIA: Zakażenie wywoływane jest przez bezosłonkowy wirus RNA z rodziny *Picornaviridae*, ale wykazujący oporność na działanie kwasów i środków dezynfekcyjnych w porównaniu z innymi

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

wirusami z tej rodziny. Inaktywacja wirusa możliwa jest przez chlorowanie wody pitnej. Po 20 minutach w temperaturze 61°C ulega częściowej inaktywacji.
DROGA ZAKAŻENIA: Rezerwuarem wirusa jest człowiek. Do zakażenia dochodzi na drodze fekalno-oralnej, poprzez spożywanie zakażonej wody i żywności (w tym spożywanie zakażonych mięczaków jadalnych, ostryg, małży importowanych z miejsc o słabej skuteczności metod kontroli żywności). Epidemie HAV często pochodzą od wspólnego źródła – ujęcie wody, restauracja, miejsce dziennego pobytu, jednak szybka identyfikacja i likwidacja źródła zakażenia są znacznie utrudnione przez bezobjawowe uwalnianie wirusa i długi okres wylęgania. Możliwe jest także zakażenie przez kontakty seksualne, a czynnik ryzyka stanowi również zakłucie skażoną igłą narkomanów.
OKRES WYLĘGANIA: Wynosi 15–40 dni.
ZAKAŹNOŚĆ: Wirus rozprzestrzenia się łatwo i szybko. Wydalany jest z kałem przez 1–2 tygodnie przed wystąpieniem i około 1 tygodnia po wystąpieniu objawów klinicznych.
PRZEBIEG KLINICZNY: Zakażenie w większości przypadków (około 90% dzieci i 25–50% dorosłych) przebiega bezobjawowo. W przebiegu objawowym rokowanie jest dobre, wirus nie wywołuje przewlekłego zapalenia wątroby. Może występować w trzech postaciach klinicznych: najczęstszej bezżółtaczkowej, żółtaczkowej i cholestatycznej. Objawy ostre ustępują po kilku dniach, ale zwiększona aktywność aminotransferaz może się utrzymywać kilka tygodni. Objawy są zmienne, najczęściej osłabienie, nudności, wymioty, bóle brzucha, mięśni, stawów; w postaci żółtaczkowej odbarwienie stolca i ściemnienie moczu, w postaci cholestatycznej dodatkowo świąd skóry.
LECZENIE: Brak leczenia przyczynowego. Celem leczenia jest nawodnienie i prawidłowy stan odżywienia chorego. Należy unikać stosowania leków metabolizowanych w wątrobie lub wywołujących cholestazę.
POWIKŁANIA: Występują bardzo rzadko, przebieg najczęściej jest łagodny. Możliwe powikłania to nadostre lub piorunujące uszkodzenie wątroby i uszkodzenie nerek (przez działanie kompleksów immunologicznych).
METODY PROFILAKTYKI: Do profilaktyki pierwotnej należą: metody nieswoiste – wysoki standard higieny, oraz metody swoiste – szczepionka zabita. Profilaktyka poekspozycyjna to immunizacja bierna (IVIg), która skutecznie zapobiega zakażeniom.

- Ostre i przewlekłe WZW typu B

ETIOLOGIA: Zakażenie wywoływane jest przez HBV (*hepatitis B virus*) – wirus DNA z rodziny *Hepadnaviridae*, oporny na działanie leków przeciwwirusowych. Ważnym elementem budowy wirusa jest obecna na powierzchni HBV glikoproteina s (antygen Hbs – HBsAg) i uwalniana do surowicy w wysokich mianach u osób zakażonych. Stanowi ważny element diagnostyki WZW typu B.
DROGA ZAKAŻENIA: Jedynym rezerwuarem jest człowiek. Istnieją trzy drogi zakażenia – pozajelitowa (głównie krwiopochodna), płciowa i okołoporodowa. Do zakażenia dochodzi przez kontakt uszkodzonej skóry lub błon śluzowych z materiałem zakażonym. Za materiał zakaźny uważa się: krew, płyn mózgowo-rdzeniowy, opłucnowy, osierdziowy, maziowy, otrzewnowy i owodniowy, nasienie, treść dróg rodnych, tkanki nieutrwalone formaliną, ślinę (tylko w przypadku ekspozycji przezskórnej), pokarm kobiecy (tylko gdy kobieta karmiąca piersią jest w fazie ostrego zakażenia HBV), wszystkie inne płyny ustrojowe i wydaliny zanieczyszczone w widoczny sposób krwią.
OKRES WYLĘGANIA: Wynosi 28–160 dni.
ZAKAŹNOŚĆ: HBV jest prawdopodobnie najbardziej zaraźliwym patogenem człowieka. Do zakażenia wystarczy około dziesięciu cząstek wirusa, co odpowiada objętości około 0,0004 ml zakażonej krwi, dlatego może dochodzić do zakażenia po kontakcie z niezabrudzonym makroskopowo materiałem.
PRZEBIEG KLINICZNY: Przebieg jest zazwyczaj ciężki, zwłaszcza w postaciach żółtaczkowych i cholestatycznych. Okres inkubacji jest długotrwały, po nim następuje okres objawów prodromalnych (gorączka, osłabienie, złe samopoczucie, nudności, wymioty, bóle brzucha). Żółtaczka rozwija się

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

w krótkim czasie, trwa około 4–6 tygodni, wskazuje na uszkodzenie wątroby. Początkowo zażółcenie dotyczy twardówek, potem również całych powłok skórnych i błon śluzowych. Mocz jest ciemny, stolec odbarwiony. Kiedy po około tygodniu pojawia się łaknienie, jest to pierwsza oznaka zdrowienia. Postaci cholestatycznej towarzyszy nasilony świąd skóry, głównie w nocy, z obecnością przeczosów (zadrapań).

POWIKŁANIA: Śmiertelność wynosi 1–1,5%, głównie u chorych powyżej 60 roku życia. U dzieci przebieg częściej jest skąpoobjawowy lub pozawątrobowy. Piorunujące zapalenie wątroby rozwija się u 1% chorych i może prowadzić do zgonu. Przebieg może być powikłany kłębuszkowym zapaleniem nerek czy guzkowym zapaleniem tętnic (rzadziej) wskutek tworzenia się i odkładania kompleksów immunologicznych, a także przewlekłym zapaleniem wątroby, mogącym prowadzić do marskości i niewydolności wątroby oraz zwiększającym ryzyko rozwoju raka wątroby.

Przewlekłe zapalenie wątroby typu B, czyli utrzymujące się dłużej niż 6 miesięcy, może prowadzić do marskości i raka wątroby. W zakażeniach u noworodków i niemowląt przebieg jest najczęściej bezobjawowy, ale w aż 90% rozwija się przewlekłe zapalenie, u dzieci poniżej 5 roku życia w 30% i u chorych powyżej 5 roku życia w 5% przypadków.

METODY PROFILAKTYKI:

- metody nieswoiste: ograniczenie kontaktu z materiałem zakaźnym – unikać tamowania krwawienia, wyciskania krwi z rany; ranę obficie spłukać pod bieżącą wodą lub umyć wodą z mydłem; po ekspozycji błon śluzowych – natychmiast przemyć wodą lub solą fizjologiczną;
- profilaktyka poekspozycyjna: skuteczność profilaktyki uzależniona jest od czasu, jaki upłynął od ekspozycji, dlatego też wdrożenie profilaktyki czynno-biernej – zarówno szczepienie, jak i podanie HBIG (*hepatitis B immunoglobulin* – preparat immunoglobulin, głównie IgG z wysokim stężeniem przeciwciał przeciw antygenowi HBs) – należy zastosować jak najszybciej, czyli nie później niż w ciągu 24 godzin od ekspozycji; nie ustalono górnej granicy czasowej zastosowania profilaktyki, zgodnie z wynikami badań wydaje się ona skuteczna do 7 dni od zakłucia igłą lub po ekspozycji wertykalnej i do 14 dni po kontakcie seksualnym z osobą zarażoną;
- narażenie zawodowe: zdarzenie należy zgłosić przełożonemu i odnotować w dokumentacji; jeśli źródło ekspozycji jest znane, należy zabezpieczyć krew do badań w kierunku infekcji HCV, HBV i HIV po uzyskaniu pisemnej zgody pacjenta; decyzja o wdrożeniu i zastosowaniu profilaktyki poekspozycyjnej HBV zależy od rodzaju ekspozycji i materiału zakaźnego, a także od statusu serologicznego źródła potencjalnego zarażenia i uodpornienia osoby narażonej; osoby narażone z prawidłową odpowiedzią poszczepienną nie wymagają dodatkowego postępowania, dlatego konieczne jest pełne szczepienie przeciw WZW typu B u pracowników medycznych; w przypadku ekspozycji na materiał zakaźny pacjenta HbsAg (+) u osoby narażonej z niezadowalającą odpowiedzią poszczepienną konieczne jest podanie pojedynczej dawki HBIG i szczepienie przeciw WZW typu B; szczepionkę oraz HBIG można podać jednocześnie, ale w różne okolice anatomiczne ciała;
- ekspozycja matczyno-płodowa: noworodkom matek HbsAg (+) należy podać pojedynczą dawkę HBIG i pierwszą dawkę szczepienia przeciw WZW typu B optymalnie do 12 godziny życia; po zakończeniu cyklu szczepienia u niemowląt w wieku 9–12 miesięcy należy ocenić skuteczność profilaktyki czynno-biernej – HbsAg i miano przeciwciał anty-HBs.

- Ostre i przewlekłe WZW typu C

ETIOLOGIA: Czynnikiem etiologicznym jest wirus RNA z rodziny *Flaviviridae* z sześcioma głównymi genotypami (G1–G6), różniącymi się odpowiedzią na zastosowane leczenie przeciwwirusowe. Wirus namnaża się w hepatocytach.

DROGA ZAKAŻENIA: Jedynym rezerwuarem są ludzie chorzy i nosiciele. Wirus przenoszony jest przez zakażoną krew i przez kontakty seksualne. Bezobjawowe przewlekłe zakażenia ułatwiają rozprzestrzenianie się wirusa.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

OKRES WYLĘGANIA: Wynosi 15–160 dni.
ZAKAŹNOŚĆ: Wirus jest wysoce zakaźny w okresie wiremii.
PRZEBIEG KLINICZNY: Przebieg zakażenia jest taki jak w przypadku WZW typu A i B, ale łagodniejszy. Często jest bezobjawowy. Eliminacja wirusa możliwa jest w 15–50% przypadków, zwłaszcza przy nasilonych objawach choroby. W przypadku przebiegu bezobjawowego częściej przechodzi w fazę przewlekłą.
LECZENIE: W leczeniu stosowane są interferony, rybawiryna i leki o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym. Celem jest eradykacja wirusa i trwała odpowiedź wirusologiczna. Leczenie niefarmakologiczne obejmuje zalecenia dietetyczne, redukcję masy ciała oraz unikanie używek. Alkohol 2-krotnie przyspiesza postęp marskości wątroby.
POWIKŁANIA: Zdarzają się rzadko (< 1% przypadków), jako nadostre lub piorunujące zapalenie wątroby. Śmiertelność w ostrym zakażeniu jest niska, ale w przypadku przewlekłego zapalenia wątroby typu C u 5–20% chorych rozwija się marskość wątroby w ciągu 20–25 lat, natomiast u 3–5% w tym czasie rozwija się rak wątrobowokomórkowy. Możliwe są również manifestacje pozawątrobowe, w tym kłębuszkowe zapalenie nerek.
METODY PROFILAKTYKI: Nie ma możliwości prowadzenia profilaktyki czynnej czy biernej. Jedyną możliwość stanowią metody nieswoiste – zapobieganie zakażeniom przenoszonym przez krew. Izolacja chorych nie jest wymagana. Zachowanie ostrożności w kontakcie z rzeczami osobistymi chorego, które mogą być skażone krwią (np. szczoteczka do zębów, maszynka do golenia, igły i strzykawki). Podczas kontaktów seksualnych należy stosować prezerwatywę. Kobieta HCV-dodatnia może karmić piersią. Po zakażeniu przeciwciała anty-HCV można wykryć po około 4–10 tygodniach od zakażenia.

- WZW typu D

ETIOLOGIA: Czynnikiem etiologicznym jest wirus RNA, który może się replikować i wywoływać zakażenie tylko w obecności wirusa HBV (koinfekcja lub nadkażenie nosiciela).
DROGA ZAKAŻENIA: Wirus jest bardzo rozpowszechniony, rozprzestrzenia się tymi samymi drogami i w tych samych grupach ryzyka co HBV.
OKRES WYLĘGANIA: Wynosi 21–140 dni.
ZAKAŹNOŚĆ: W Polsce zakażenia wirusem HDV są rzadkie.
PRZEBIEG KLINICZNY: Przebieg jednoczesnego zakażenia HBV i HDV jest taki jak w przypadku WZW typu B. Zakażenie nosiciela HBV prowadzi do zaostrzenia i może być przyczyną rozwoju nadostrego zapalenia wątroby o wysokim ryzyku zgonu.
LECZENIE: Brak jednoznacznych wytycznych. Stosowane są interferony.
METODY PROFILAKTYKI: Tak jak w przypadku WZW typu B.

- WZW typu E

ETIOLOGIA: Czynnikiem etiologicznym jest HEV (*hepatitis E virus*), wirus RNA należący do rodziny *Hepeviridae.*
DROGA ZAKAŻENIA: Miejscem pierwotnym replikacji jest najpewniej przewód pokarmowy, a do zakażenia dochodzi drogą fekalno-oralną, przez nieodpowiednie standardy sanitarne lub skażenie wody pitnej.
OKRES WYLĘGANIA: Wynosi 15–65 dni.
ZAKAŹNOŚĆ: Prawdopodobnie jest to najczęstszy czynnik wywołujący wirusowe zapalenie wątroby na świecie, ale sytuacja epidemiologiczna nie jest doszacowana przez trudności diagnostyczne i nieuwzględnianie HEV w diagnostyce różnicowej.
PRZEBIEG KLINICZNY: Najczęściej jest bezobjawowy. Możliwe objawy są podobne do obserwowanych w przypadku WZW typu A. Przebieg ciężki, powikłany może występować u ciężarnych w III trymestrze, a także u osób w immunosupresji.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

PROFILAKTYKA: Metody nieswoiste – poprawa standardów sanitarnych, obróbka termiczna potraw mięsnych. Metody swoiste – istnieje szczepionka zarejestrowana w Chinach, druga jest w fazie testów klinicznych.

Zespół nabytego niedoboru odporności (AIDS)

ETIOLOGIA: Chorobę wywołuje retrowirus HIV (*human immunodeficiency virus* – ludzki wirus nabytego niedoboru odporności). Wykryto dwa typy wirusa: typ 1 (HIV-1) występuje na całym świecie, typ 2 (HIV-2) występuje w Afryce Zachodniej. Wirion zbudowany jest z dwóch jednakowych pojedynczych nici RNA otoczonych białkowo-lipidową otoczką (w niej zakotwiczone są ważne w procesie zakażania komórek i diagnostyce serologicznej glikoproteiny: gp41 i gp120).
DROGA ZAKAŻENIA I ZAKAŹNOŚĆ: Do zakażenia dochodzi poprzez kontakty seksualne, drogą krwiopochodną, wertykalną (z matki na płód) w okresie ciąży i porodu, a także w trakcie karmienia piersią. Do czynników ryzyka zakażenia zalicza się ryzykowne kontakty seksualne – niezabezpieczone prezerwatywą (prezerwatywa zmniejsza ryzyko zakażenia o około 80–95%). Droga krwiopochodna dotyczy przede wszystkim narkomanów stosujących narkotyki dożylnie, ale także pracowników ochrony zdrowia – zakłucie igłą zanieczyszczoną krwią chorego. Centra krwiodawstwa badają krew dawców w kierunku zakażenia HIV, wobec czego preparaty krwiopochodne uważa się za bezpieczne. Z uwagi na wrażliwość wirusa na warunki zewnętrzne do zakażenia nie dochodzi, jeśli nie było bezpośredniej ekspozycji na krew, nasienie, wydzielinę z pochwy lub mleko osoby zakażonej. Ryzyka nie stanowi wobec tego korzystanie ze wspólnej toalety, pocałunek, ukąszenie komara, korzystanie z basenów publicznych czy używanie wspólnych grzebieni, sztućców oraz ręczników.
OKRES WYLĘGANIA: Objawy nieswoiste ujawniają się po około 1–8 tygodniach od zakażenia i mogą się utrzymywać od kilku dni do nawet kilkunastu tygodni, zwykle jednak do 2 tygodni.
PRZEBIEG KLINICZNY: HIV atakuje przede wszystkim komórki układu immunologicznego – makrofagi i aktywowane limfocyty T. W pierwotnym zakażeniu HIV dochodzi początkowo do wysokiej wiremii z przejściowym zmniejszeniem liczby limfocytów CD4+ i rozwoju ostrej choroby retrowirusowej (im wyższa wiremia, tym szybciej rozwija się pełnoobjawowy AIDS). Zakażenie przewlekłe przez wiele lat przebiega bezobjawowo, w tym czasie replikacja wirusa jest stała ze stopniowym spadkiem liczby limfocytów CD4+. W zależności od objawów klinicznych i immunologicznych (liczba limfocytów CD4+) stosuje się klasyfikację stadiów zakażenia HIV w trzech kategoriach (tab. X.11).
DIAGNOSTYKA: W diagnostyce serologicznej istotne jest pojęcie „okna serologicznego", kiedy po zakażeniu pierwsze przeciwciała stwierdza się dopiero po kilku tygodniach. Testy przesiewowe w kierunku HIV III generacji to testy oparte na metodach immunoenzymatycznych, wykrywających przeciwciała anty-HIV – charakteryzują się wysoką czułością po upływie 12 tygodni od potencjalnego zakażenia. Testy przesiewowe IV generacji – testy EIA wykrywające przeciwciała anty-HIV i antygen p24 – charakteryzują się wysoką czułością jeszcze przed wytworzeniem pierwszych przeciwciał, już po 6 tygodniach od zachowania ryzykownego. Każdy dodatni wynik testu przesiewowego wymaga zastosowania testu potwierdzenia metodą western blot – wynik dodatni oznacza istnienie przeciwciał przeciw trzem lub więcej antygenom HIV.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela X.11. Klasyfikacja stadiów zakażenia HIV

Kategoria A	**Kategoria B**	**Kategoria C**
Ostra choroba retrowirusowa: • występuje u 40–90% zakażonych • objawy przypominają mononukleozę zakaźną • często przebieg skąpoobjawowy • najczęstsze objawy to: gorączka, uogólniona limfadenopatia, zapalenie gardła, osutka plamisto-grudkowa na twarzy, tułowiu, rękach i stopach	Faza objawowa – występowanie zakażeń oportunistycznych o dość łagodnym przebiegu: • półpasiec >1 dermatomu • leukoplakia włochata – przypomina kandydozę jamy ustnej, jednak białawych nalotów na bocznych powierzchniach języka nie udaje się ściągnąć szpatułką • przetrwała i nawracająca kandydoza pochwy i sromu • gorączka trwająca > 1 miesiąca • przewlekła biegunka > 1 miesiąca	Pełnoobjawowy AIDS: • rozwija się, gdy liczba limfocytów CD4+ spada poniżej 200––400/µl – poziomu zapewniającego skuteczną obronę organizmu zarówno przez zakażeniami, jak i procesami nowotworowymi • w tym okresie rozwijają się choroby wskaźnikowe – choroby patognomoniczne (infekcje oportunistyczne, charakterystyczne nowotwory) nasuwające podejrzenie AIDS
Stwierdzenie zakażenia w okresie bezobjawowym	–	**Zakażenia oportunistyczne wskaźnikowe** to m.in.: • powtarzające się zapalenia płuc • gruźlica płuc lub pozapłucna, • mykobakteriozy • kandydoza przełyku • przewlekłe zakażenia HSV • cytomegalia i toksoplazmoza • pneumocystozowe zapalenie płuc • kryptosporydioza
Przetrwała uogólniona limfadenopatia: • często poprzedza wystąpienie AIDS • objawy: przewlekłe zmęczenie, ból głowy, powiększenie węzłów chłonnych > 1 cm w dwóch lub więcej okolicach w okresie > 3 miesięcy, powiększenie śledziony	–	Nowotwory wskaźnikowe: • mięsak Kaposiego • chłoniaki • inwazyjny rak szyjki macicy
–	–	Inne objawy i zespoły chorobowe: • zespół wyczerpania • encefalopatia związana z HIV

PROFILAKTYKA POEKSPOZYCYJNA: Minimalizacja ryzyka transmisji – usunięcie potencjalnego materiału zakaźnego – miejsce skaleczenia, zakłucia przemyć wodą z mydłem, nie tamować krwawienia! Worek spojówkowy obficie przepłukać wodą lub roztworem soli fizjologicznej. Ustalić ryzyko zakażenia – status HIV osoby eksponowanej i źródła ekspozycji. W przypadku istniejącego ryzyka zakażenia zastosowanie najszybciej jak to możliwe przed upływem 48 godzin dwóch leków z grupy inhibitorów odwrotnej transkryptazy (*nucleoside reverse transcriptase inhibitor* – NRTI) i jednego inhibitora proteazy (*protease inhibitor* – PI).

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

XI. Podstawy immunologii

Bogdan Mazur

Immunologia jest stosunkowo młodą dziedziną nauk medycznych. Przez wiele lat była częścią mikrobiologii. Dzisiaj ma bardzo duży wpływ na zrozumienie etiologii wielu schorzeń, pozwala też na skuteczną terapię wielu chorób, poczynając od zwykłej grypy, a skończywszy na chorobach nowotworowych. Nazwa „immunologia" pochodzi od słowa *immunitet*, które pierwotnie oznaczało zwolnienie ze służby wojskowej, cła lub podatku, a odporność – z punktu widzenia historycznego – rozumiana była jako zabezpieczenie przed chorobami zakaźnymi. Początki immunologii datuje się na XVIII w. i wiąże z angielskim lekarzem Edwardem Jennerem, który 14 maja 1796 r. dokonał zaszczepienia materiałem zakaźnym ospy krowianki ośmioletniego chłopca. Chłopiec przechorował krowiankę, po czym Jenner zaszczepił go ponownie, jednak już materiałem zakaźnym ospy prawdziwej. Chłopiec nie zachorował, ponieważ uzyskał odporność. Przełomowe znaczenie odkrycia Jennera polegało na wykazaniu, że jest możliwe uodpornienie człowieka poprzez szczepienie.

Rolą układu odpornościowego jest ochrona integralności całego organizmu przez zapewnienie ochrony przed czynnikami „zewnętrznymi" (pasożyty, bakterie, wirusy) oraz czynnikami „wewnętrznymi" (komórki nowotworowe, autoagresja).

Układ odpornościowy ma zatem dwa główne zadania:

1 – rozróżnianie pomiędzy tym, co jest własne dla organizmu (komórki, czynniki humoralne), i tym, co jest dla niego obce (patogeny),

2 – skuteczną eliminację „elementów obcych", czyli patogenów, oraz zapewnienie większej odporności w razie ponownego kontaktu (wytwarzanie przeciwciał).

Układ odpornościowy stanowi zintegrowaną sieć narządów, tkanek i komórek, które w ewolucyjnym procesie rozwoju gatunku wykształciły mechanizmy rozpoznawania struktur własnych i eliminowania obcych. W proces ten zaangażowane są krążące leukocyty, naczynia limfatyczne oraz narządy limfatyczne takie jak: grasica, szpik kostny, śledziona, węzły chłonne oraz tkanka limfatyczna związana ze skórą oraz błonami śluzowymi.

Narządy limfatyczne

Pierwotne (centralne) narządy limfatyczne

- **Grasica** – w pełni rozwinięta w momencie urodzenia, otoczona torebką łącznotkankową, składa się z dwóch płatów. W grasicy zachodzi intensywne dojrzewanie wczesnych postaci limfocytów T (tymocytów) i ich różnicowanie. Główną rolą grasicy jest wytwarzanie antygenowo swoistych limfocytów T, które migrują do obwodowych narządów limfatycznych i zapewniają ochronę przeciwko patogennym mikroorganizmom. Pierwsze tymocyty (prekursory limfocytów T) zasiedlają grasicę około 10 tygodnia życia wewnątrzmacicznego, wędrują do niej z wątroby, a następnie ulegają intensywnej proliferacji i różnicowaniu w limfocyty T. Grasica osiąga pełny rozwój pod koniec życia płodowego. Jako narząd nie zanika z wiekiem, ale zanika jej tkanka limfoidalna. W grasicy

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

wytwarzane są także liczne czynniki wpływające na różnicowanie i proliferacje limfocytów: tymozyna, grasiczy czynnik humoralny, tymopoetyna, tymulina, tymopentyna i tymostymulina.

- **Szpik kostny** – najważniejszy narząd krwiotwórczy. U osób dorosłych znajduje się wewnątrz takich kości, jak: żebra, miednica, kręgi, kości czaszki czy mostek, i stanowi około 5% masy ciała. Szpik, który odpowiada za produkcję krwi, nazywamy szpikiem czerwonym; istnieje również szpik żółty, składający się głównie z komórek tłuszczowych. Szpik kostny składa się z delikatnej, silnie unaczynionej tkanki włóknistej, w której hemocytoblasty, czyli komórki macierzyste krwi, produkują codziennie 200 miliardów nowych elementów morfotycznych krwi. Pluripotencjalne komórki macierzyste różnicują się na dwie główne linie rozwojowe: mielopoetyczną, z której powstają krwinki czerwone, płytki krwi, granulocyty i monocyty, oraz limfopoetyczną, z której powstają limfocyty T i B oraz naturalne komórki cytotoksyczne.

Wtórne (obwodowe) narządy limfatyczne

- **Grudki limfatyczne** – występują pojedynczo lub w grupach w tkance łącznej wiotkiej, najczęściej w ścianie przewodu pokarmowego, dróg oddechowych i narządów moczowo-płciowych.
- **Plamki mleczne** – skupiska limfocytów i makrofagów występujące w błonie surowiczej pokrywającej jamę otrzewnową i opłucnową.
- **Migdałki** – grudki limfatyczne ułożone pojedynczo lub w skupiskach tuż pod nabłonkiem w miejscu krzyżowania się górnego odcinka dróg oddechowych z przewodem pokarmowym. To miejsce strategiczne dla obrony organizmu przed zakażeniami.
- **Tkanka limfatyczna związana ze ścianą jelita** – stanowi rozproszone limfocyty i grudki limfatyczne.
- **Węzły limfatyczne (węzły chłonne)** – leżą na przebiegu naczyń limfatycznych, które uchodzą do węzła. Do zasadniczych czynności węzłów chłonnych należą filtracja limfy i zatrzymywanie zawartych w niej antygenów, a także drobnoustrojów i komórek nowotworowych.
- **Śledziona** – największy narząd limfatyczny; zachodzi tu aktywowanie limfocytów przez antygeny oraz ich różnicowanie w komórki efektorowe. Śledziona jest pobudzana zarówno przez antygeny, które dostały się bezpośrednio do krwi, jak i przez te, które uprzednio były obecne w limfie i nie zostały przefiltrowane w węzłach chłonnych.

Centralne narządy limfatyczne, do których należą grasica i szpik kostny, są głównymi miejscami limfopoezy. W narządach tych powstają i dojrzewają limfocyty T i B.

Komórki limfoidalne migrują drogą krążenia do narządów limfatycznych, a te, które zasiedlają grasicę, dają początek limfocytom T (tymocytom). Na powierzchni limfocytów T znajduje się wiele receptorów, w tym najważniejszy – receptor TCR (*T-cell receptor*). Receptory limfocytów T rozpoznają antygeny peptydowe, związane z autologicznymi cząsteczkami MHC klasy I lub II, znajdujące się na powierzchni komórek zdolnych do prezentacji antygenu, którymi najczęściej są komórki dendrytyczne, makrofagi oraz limfocyty B (komórki APC). Ekspresja receptora TCR jest zależna od sposobu wiązania receptora komórki T z koreceptorem CD3, który jest głównym markerem limfocytów T. Powstający w ten sposób kompleks TCR jest odpowiedzialny za przekazywanie sygnałów aktywujących do wnętrza limfocytu T. W skład koreceptora CD3 wchodzą cztery różne łańcuchy peptydowe (α, β, γ, δ).

W zależności od budowy receptora wyróżnia się dwa fenotypy komórek T: TCR1 – zbudowany z łańcuchów α, β, oraz TCR2 – zbudowany z łańcuchów γ, δ. Około 90–95% limfocytów krwi obwodowej posiada receptor TCRα/β, a tylko niewielka część (5–10%) posiada ekspresję TCRγ/δ.

W procesie ewolucji wykształciły się dwa rodzaje odporności: nieswoista (wrodzona), stanowiąca pierwszą linię obrony organizmu, oraz swoista (nabyta), gdzie odpowiednie limfocyty rozpoznają antygeny charakterystyczne dla określonych drobnoustrojów (tab. XI.1).

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela XI.1. Różnice pomiędzy odpornością nieswoistą i swoistą

Odporność	
nieswoista	**swoista**
bardzo szybka i nie wymaga wstępnej aktywacji	rozwija się powoli i wymaga kontaktu z antygenem
receptory rozpoznające antygen są niezmienne i dziedziczone z pokolenia na pokolenie	receptory rozpoznające antygen wykształcają się *de novo* w każdej pierwotnej reakcji immunologicznej i nie są dziedziczone
celem ataku nie są własne struktury organizmu	może dojść do autoagresji
nie pozostawia trwałej pamięci immunologicznej	pozostawia trwałą pamięć immunologiczną
rozwija się niezależnie od odporności swoistej	do rozwinięcia prawie zawsze wymaga odporności nieswoistej

Odporność wrodzona

Odporność wrodzona, zwana też nieswoistą lub naturalną, jest zawsze obecna u zdrowych osobników i jest uniwersalnym mechanizmem obrony organizmu przed infekcją. Cząsteczki drobnoustrojów rozpoznawane przez komórki odpowiedzi nieswoistej określane są jako wzorce molekularne związane z patogenami, zwane cząsteczkami PAMP. Cząsteczki te charakteryzują się kilkoma cechami:

- są niezbędne do przeżycia drobnoustrojów,
- są niezmienne ewolucyjnie,
- są typowe dla dużych grup drobnoustrojów,
- nie występują u człowieka.

Białka rozpoznające i wiążące cząsteczki PAMP określane są jako cząsteczki rozpoznające wzorce (*pattern recognition molecule* – PRM). Znajdują się one w błonie komórkowej leukocytów oraz ich wnętrzu zarówno w cytoplazmie, jak i błonie mitochondrialnej, lizosomalnej i błonie retikulum śródplazmatycznego; pełnią wtedy funkcje receptorów rozpoznających wzorce (*pattern recognition receptors* – PRR). Dzięki receptorom PRR organizm ludzki jest w stanie odróżnić antygeny własne od obcych. Jednym z przedstawicieli PRR są receptory Toll-podobne (TLR), które odgrywają podstawową rolę w rozpoznawaniu zagrożenia i inicjacji odpowiedzi immunologicznej. Stanowią również ogniwo łączące odporność nieswoistą z odpornością swoistą, umożliwiając sprawną walkę z czynnikami patogennymi (tab. XI.2). Cząsteczki rozpoznające wzorce, czyli PRM, można podzielić na trzy grupy:

- wydzielane,
- powierzchniowe,
- wewnątrzkomórkowe.

Wśród komórek rozpoznających patogeny za pomocą receptorów TLR wyróżnia się komórki układu immunologicznego (makrofagi, komórki śródbłonka, komórki dendrytyczne, komórki tuczne, eozynofile, neutrofile oraz limfocyty B) oraz komórki nabłonkowe, komórki śródbłonka, kardiomiocyty i adipocyty. Pobudzenie receptorów TLR przez produkty drobnoustrojów stanowi sygnał aktywujący mechanizmy odporności nieswoistej, powodując wzmożoną syntezę czynników przeciwbakteryjnych, cytokin prozapalnych oraz dojrzewanie komórek dendrytycznych, które uzyskują większą zdolność prezentacji antygenów.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela XI.2. Przykładowe receptory Toll-podobne (TLR) i ich ligandy

Receptor	Występowanie cząsteczek PAMP
TLR1/TLR6	mykobakterie
TLR2	bakterie Gram-dodatnie mykobakterie drożdżaki wirus odry
TLR3	niektóre wirusy
TLR4	bakterie Gram-ujemne drożdżaki *Trypanosoma* wirusy
TLR5	bakterie mające rzęski
TLR6/TLR2	*Mycoplasma* paciorkowce grupy B drożdżaki
TLR7	wirusy RNA
TLR8	wirusy DNA
TLR9	większość bakterii zarodźce malarii wirusy DNA

Odporność nieswoistą tworzą bariery anatomiczne, fizjologicznie przystosowane do rozpoznawania i eliminowania antygenów, a także obecność substancji o działaniu bakteriobójczym lub bakteriostatycznym, działających na powierzchni nabłonków, w tkankach i w płynach tkankowych lub występujących wewnątrzkomórkowo. Dzięki temu atak licznych mikroorganizmów może zostać powstrzymany, zanim zdążą wniknąć do wnętrza organizmu. Elementy odporności nieswoistej zapobiegające wtargnięciu patogenów do organizmu to m.in.:

- skóra – bariera mechaniczna, złuszczanie się komórek nabłonka, niskie pH;
- układ pokarmowy – usuwanie drobnoustrojów i ich toksyn (biegunka, wymioty), kwas solny w żołądku (uniemożliwia namnażanie się drobnoustrojów), perystaltyka jelit (utrudnianie kolonizacji), fizjologiczna flora bakteryjna (konkurencja z mikroorganizmami patogennymi);
- drogi oddechowe – kaszel, kichanie, ruch rzęsek (usuwanie drobnoustrojów i ich toksyn), wydzieliny śluzowo-surowicze (wypłukiwanie patogenów);
- drogi moczowo-płciowe – oddawany mocz przemywa drogi moczowo-płciowe oraz zapewnia niskie pH; pochwa – produkowana wydzielina działa bakteriobójczo, kwaśne środowisko dzięki obecności flory fizjologicznej rozkładającej glikogen do kwasu mlekowego (*Lactobacillus* sp.);
- krew – laktoferyna, transferyna (wiązanie żelaza niezbędnego do namnażania się patogenów), interferony, TNF-α (indukcja odpowiedzi immunologicznej), lizozym (rozkładanie ścian bakterii), układ dopełniacza (opsonizacja i fagocytoza), białko C-reaktywne (aktywacja układu dopełniacza).

Do elementów odporności nieswoistej komórkowej zaliczamy:

- granulocyty obojętnochłonne (neutrofile) – we krwi obwodowej występują jako pula krążąca i brzeżna; pod wpływem zakażenia, glikokortykosteroidów czy adrenaliny granulocyty przechodzą z puli brzeżnej do krążącej; podobnie dzieje się w pierwszej dobie po urodzeniu, czego odzwierciedleniem jest fizjologicznie zwiększona liczba krwinek białych; w przebiegu zakażenia następuje migracja neutrofilów z krwi do tkanek objętych procesem zapalnym i adhezja do zapalnie zmienionej powierzchni śródbłonka;
- komórki dendrytyczne, czyli komórki prezentujące antygen – posiadają długie, wąskie, drzewiasto rozgałęzione wypustki;

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

- limfocyty NK – komórki żerne; pełnią istotną rolę w odporności przeciwnowotworowej;
- komórki tuczne, bazofile – udział w odpowiedzi typu wczesnego, anafilaksji;
- eozynofile – zdolne do fagocytozy i zabicia niektórych pasożytów; wydzielają czynniki hamujące anafilaksję;
- monocyty, makrofagi – zdolne do fagocytozy i zabicia mikroorganizmów oraz innych obcych komórek, zawierają liczne lizosomy i wakuole.

Mechanizmy nieswoiste są filogenetycznie starsze niż swoiste. Są mało precyzyjne, ale za to reagują szybko, stanowiąc pierwszą linię obrony. Biorą w nich udział przede wszystkim bariery mechaniczne, komórki żerne (zarówno makrofagi, jak i granulocyty), komórki NK, układ dopełniacza, lizozym, interferon, transferyna, białko C-reaktywne i inne białka ostrej fazy, komórki zdolne do cytotoksyczności spontanicznej. Omawiając nieswoiste mechanizmy odporności, należy przypomnieć, że równolegle działające mechanizmy swoiste – zainicjowane przez połączenie się przeciwciał lub receptorów limfocytów T ze swoistym antygenem – ściśle kooperują z odpornością nieswoistą w walce z infekcjami.

Podstawowymi elementami odporności nieswoistej są zdolność do odczynu zapalnego, opsonizacja i fagocytoza, których działanie opiera się na wykształconych w organizmie układach komórek żernych, dopełniacza oraz komórek NK. Układy te stanowią pomost łączący je z odpowiedzią swoistą.

Fagocytoza jest jednym z najstarszych filogenetycznie mechanizmów obronnych organizmu, prowadzącym do zabicia pochłoniętego przez komórkę patogenu. Proces ten przebiega tak szybko i wydajnie, że w ciągu kilku minut komórka fagocytująca jest w stanie „pochłonąć" kilkanaście bakterii czy wirusów. W procesie fagocytozy wyróżnia się następujące etapy: chemotaksję, migrację, adherencję, pochłanianie, wewnątrzkomórkowe zabijanie i degradację pochłoniętego materiału. Niszczenie poprzez fagocytozę zachodzi w dwóch mechanizmach:

a) tlenowym,
b) pozatlenowym.

Układ dopełniacza również zalicza się do mechanizmów odporności nieswoistej. Stanowi on uzupełnienie (czyli dopełnienie) roli przeciwciał. Jest to jeden z przykładów ścisłych powiązań między swoistymi i nieswoistymi mechanizmami odporności. U człowieka składa się on z około 60 białek surowicy i płynów tkankowych oznaczonych najczęściej literą C (*complement*) i odpowiednimi cyframi. Do głównych składników układu dopełniacza należą:

- białka C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9 – nazywane w kolejności odkrywania, stąd cyfry arabskie przy literze „C" nie oddają kolejności udziału w reakcji układu dopełniacza,
- czynnik B, czynnik D, czynnik H, czynnik I – białka związane z alternatywną drogą aktywacji.

Przy odpowiednim pobudzeniu składniki te reagują ze sobą kaskadowo i wywierają odpowiedni efekt, głównie w stosunku do błony komórkowej. Dopełniacz może doprowadzić nie tylko do zniszczenia komórek bakteryjnych, pasożytniczych i nowotworowych przez uszkodzenie ich błony komórkowej, ale dzięki licznym receptorom na komórkach żernych może przyciągnąć te ostatnie do miejsca infekcji i ułatwić fagocytozę bakterii.

Dopełniacz może być aktywowany bezpośrednio przez przeciwciała związane z bakterią bądź jakimkolwiek antygenem (droga klasyczna) lub przez czynniki takie jak B, D, H, I oraz properdynę (droga alternatywna). Istnieje trzecia droga aktywacji dopełniacza, tzw. lektynowa, inicjowana przez białko wiążące mannozę, zwane również lektyną wiążącą mannozę – MBL (*mannose binding lecitin*).

Rola układu dopełniacza:

- opsonizacja (opłaszczenie), która ułatwia fagocytozę,
- chemotaksja i aktywacja komórek żernych,
- liza komórek bakteryjnych oraz zakażonych komórek gospodarza,

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

- usuwanie kompleksów immunologicznych,
- eliminacja komórek apoptotycznych.

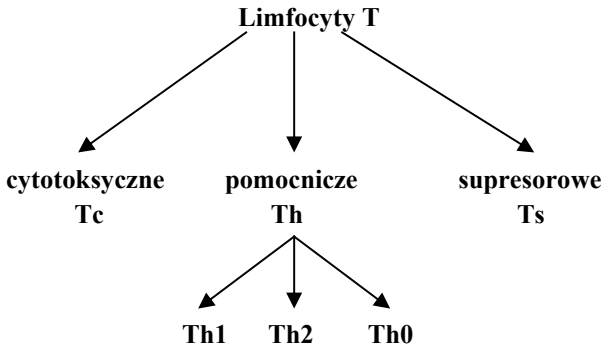
Ważnym elementem łączącym procesy odporności wrodzonej i nabytej, m.in. poprzez kontakt z komórkami dendrytycznymi, są naturalne komórki cytotoksyczne NK (*natural killer*). Komórki NK opisywane są jako duże ziarniste limfocyty, które pełnią funkcje cytotoksyczne i immunoregulatorowe. Mają zdolność zabijania komórek docelowych, m.in. komórek nowotworowych i zakażonych wirusem, taktyczną wobec neutrofilów.

Odporność swoista

Aby odpowiedź immunologiczna była efektywna, konieczna jest wzajemna współpraca między wrodzonymi a nabytymi mechanizmami odporności. Mechanizmy swoiste charakteryzują się dużą selektywnością, zwracają się precyzyjnie przeciwko określonym antygenom. Do osiągnięcia pełnej aktywności wymagają jednak odpowiedniego czasu. Komórkami efektorowymi mechanizmów swoistych są limfocyty z ich receptorami wiążącymi antygen oraz przeciwciała. Najważniejszą rolę we wszystkich nabytych odpowiedziach immunologicznych spośród elementów komórkowych odgrywają limfocyty T i B. Rozpoznają one zarówno wewnątrzkomórkowe, jak i zewnątrzkomórkowe patogeny krążące we krwi i płynach tkankowych. Czynnikami humoralnymi należącymi do odporności swoistej są przeciwciała (immunoglobuliny).

Limfocyty T i ich subpopulacje

Limfocyty T biorą udział w bezpośrednim niszczeniu komórek gospodarza zarażonych wirusami lub innymi pasożytami wewnątrzkomórkowymi, współdziałają z limfocytami B i fagocytami jednojądrzastymi wzmacniając lub osłabiając odpowiedź immunologiczną. Poszczególne etapy dojrzewania i aktywacji limfocytów T charakteryzują się ekspresją ściśle określonych cząsteczek CD (*cluster of differentiation*). Tradycyjny podział limfocytów T obejmuje limfocyty T CD4+, określane jako pomocnicze (Th) rozpoznające antygeny MHC klasy II oraz limfocyty T CD8+ nazywane limfocytami cytotoksyczno-supresorowymi (Ts/Tc) rozpoznające antygeny MHC klasy I.



Schemat różnicowania limfocytów T

Th1 – wytwarzają IL-2 (stymulacja cytotoksyczności limfocytów) oraz IFN-γ (aktywacja makrofagów), mają udział w odpowiedzi typu komórkowego.

Th2 – wytwarzają IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 (wzrost i różnicowanie limfocytów), wspomagają głównie odpowiedź humoralną; autokrynowym czynnikiem ich wzrostu i różnicowania jest IL-4.

Ts – hamują aktywność autoreaktywnych limfocytów T (zabezpieczają przed autoagresją).

Tc – odpowiadają za niszczenie komórek zakażonych przez wirusy i inne mikroorganizmy.

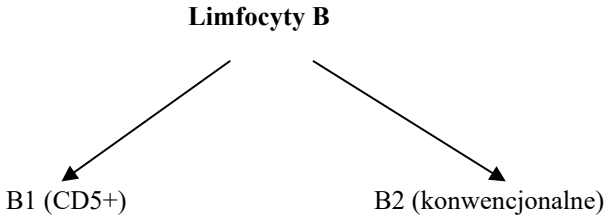
Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Limfocyty T można również podzielić w zależności od stopnia kompetencji immunologicznej i pełnionych czynności na dwie subpopulacje:

- komórki nazywane „naiwnymi" lub „dziewiczymi" są pozbawione zdolności pełnienia funkcji pomocniczych wobec limfocytów B, mogą natomiast pobudzać limfocyty CD8+ do hamowania syntezy IgG. Uważa się, że najważniejszymi limfokinami wydzielanymi przez limfocyty dziewicze są IL-2 i IFN-γ;
- komórki zwane „komórkami pamięci" reagują na antygen przypominający, ułatwiają syntezę IgG przez komórki B, ponadto charakteryzują się wysoką produkcją i wydzielaniem IL-4, IL-12, IL-18, IFN-γ, a także wzrostem ekspresji receptora dla IL-2; wraz z wiekiem zwiększa się liczba komórek T CD4+/CD45RO+ (komórek pamięci), co wiąże się także ze zwiększonym wytwarzaniem IL-4 i proliferacją limfocytów T.

Limfocyty B i ich subpopulacje

Limfocyty B stanowią 5–15% krążących limfocytów. Ich charakterystyczną cechą jest obecność antygenu CD19; dzielą się na subpopulacje zgodnie z klasą immunoglobulin, które produkują. W odróżnieniu od limfocytów T rozpoznają antygeny w formie natywnej, używając w tym celu immunoglobuliny związanej z błoną komórki, która tworzy receptor immunoglobulinowy BCR (*B-cell receptor*). Receptor limfocytów B jest zbudowany z cząsteczki immunoglobuliny zakotwiczonej w błonie limfocytu oraz dwóch heterodimerów: Ig-α i Ig-β.



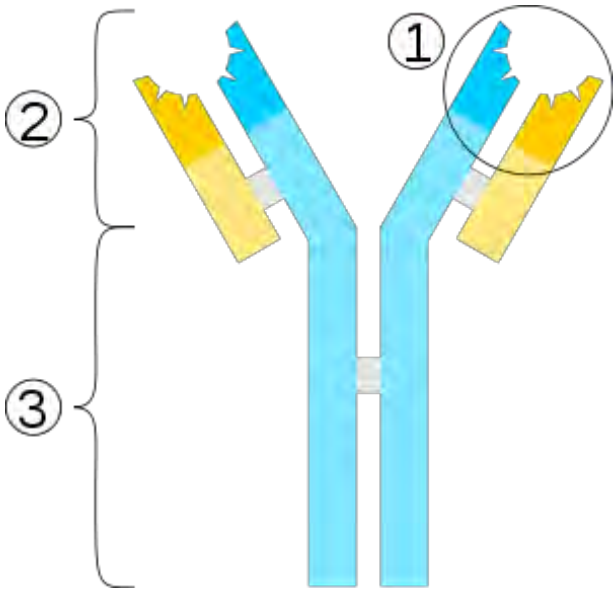
Schemat różnicowania limfocytów B

Po stymulacji antygenem limfocyty B przekształcają się w komórki plazmatyczne zaangażowane w odpowiedź pierwotną oraz produkcję przeciwciał klasy IgM, a w mniejszym stopniu IgG. Limfocyty B syntetyzują liczne cytokiny (IL-6, IL-10), które wpływają na ich aktywność i dojrzewanie. Oprócz konwencjonalnych limfocytów B2 istnieją również limfocyty B1 wykazujące ekspresję powierzchniowej cząsteczki CD5+. Istnieje przypuszczenie, że limfocyty B CD5+ są pozostałością prymitywnych komórek, które powstały w życiu płodowym (w wątrobie płodowej) i są pierwszą linią obrony przeciwbakteryjnej. U osób dorosłych stanowią one około 20% limfocytów B krwi obwodowej; we krwi pępowinowej i śledzionie jest ich 2–3-krotnie więcej. Po urodzeniu odsetek limfocytów B CD5+ obniża się. Produkują one głównie przeciwciała IgM o szerokim spektrum swoistości, reagujące krzyżowo z różnymi antygenami bakteryjnymi. Znaczny odsetek tych komórek wykrywany jest w jamie otrzewnej i w tkance właściwej błony śluzowej. Uczestniczą one w szybkiej, choć mało specyficznej obronie przeciw mikroorganizmom chorobotwórczym.

Immunoglobuliny

Immunoglobuliny (przeciwciała) to najważniejsze cząstki układu odpornościowego. Wytwarzane są przez pobudzone limfocyty B, zwane plazmocytami, w przebiegu odpowiedzi typu humoralnego, pod wpływem połączenia z antygenem. Immunoglobuliny występują w płynach ustrojowych wszystkich kręgowców. Cząsteczka immunoglobuliny zbudowana jest z czterech łańcuchów polipeptydowych: dwóch lekkich (L) oraz dwóch ciężkich (H) połączonych wiązaniem dwusiarczkowym.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska



Schemat budowy przeciwciała: 1 – fragment wiążący antygen; 2 – rejon Fab; 3 – rejon Fc; niebieskie – łańcuchy ciężkie; żółte – łańcuchy lekkie; szare – mostki dwusiarczkowe.
Źródło: Wikimedia Commons, https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Antibody_scheme.svg (schemat udostępniony na licencji Creative Commons Attribution-Share Alike 2.5 Generic license; schemat oryginalny).

Fragment Fab przeciwciała zawiera miejsce wiążące antygen, tzw. paratop, i jest on przestrzennie dopasowany do determinanty antygenowej – epitopu (fragment antygenu). Region zawiasowy umożliwia ustawienie się fragmentów Fab pod różnym kątem względem siebie i względem fragmentu Fc. Tu znajdują się wiązania dwusiarczkowe, które łączą obydwa łańcuchy ciężkie.
We fragmencie Fc znajdują się odcinki odpowiadające za aktywację dopełniacza, a także za wiązanie się z komórkowymi receptorami dla fragmentu Fc przeciwciała.
Podstawą do klasyfikacji przeciwciał są różnice w budowie ich łańcuchów:
1) ciężkich α, δ, ε, γ, μ
2) lekkich κ, λ
Drobne różnice w budowie łańcuchów ciężkich w obrębie tej samej klasy są podstawą różnicowania u człowieka podklas, np. IgG1, IgG2, IgG3, IgG4.
Swoistość przeciwciał wynika z konfiguracji przestrzennej w części zmiennej łańcuchów ciężkich i lekkich, tzn. zależy od kolejności aminokwasów w tych częściach. Części zmienne fragmentu Fab są różne dla przeciwciał wiążących różne epitopy, a części stałe są identyczne dla wszystkich przeciwciał danej klasy, ewentualnie podklasy.
Wśród przeciwciał, które wiążą ten sam epitop, mogą jeszcze występować różnice pod względem dopasowania, czyli tzw. powinowactwo przeciwciała do antygenu.

Krótka charakterystyka immunoglobulin różnych klas

1. Immunoglobuliny A
   - największa pula przeciwciał w organizmie,
   - większość IgA jest wytwarzana miejscowo w sąsiedztwie odpowiedniego nabłonka i wydalana wraz z wydzielinami śluzowo-surowiczymi,
   - wydzielnicza IgA stanowi główny element obrony błon surowiczych i śluzowych przed inwazją mikroorganizmów,
   - w osoczu człowieka 80–95% IgA występuje w formie monomerycznej, reszta to formy polimeryczne,

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

- w wydzielinach, tj. łzy, pot, wydzieliny gruczołów przewodu pokarmowego, dróg oddechowych i dróg moczowych, występują w formie dimerów i są związane z fragmentem wydzielniczym (sekrecyjnym; sIgA),
- istnieją dwie podklasy: IgA1 i IgA2.

2. Immunoglobuliny D
   - występują dość licznie wraz z IgM na powierzchni limfocytów B, które nie zetknęły się jeszcze z antygenem,
   - mają udział w indukowaniu dojrzewania powinowactwa przeciwciał.
3. Immunoglobuliny E
   - przeciwciała te, wiążąc się z odpowiednimi receptorami FcR na komórkach tucznych, wywołują po związaniu antygenu ich degranulację,
   - biorą udział w reakcjach alergicznych i odpowiedzi przeciwpasożytniczej.
4. Immunoglobuliny G
   - opłaszczając komórki, umożliwiają komórkom NK ich zabicie (cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciał), a komórkom żernym fagocytozę (immunofagocytoza),
   - w surowicy osiągają najwyższe stężenie
   - u człowieka występują w czterech podklasach: IgG1, IgG2, IgG3 i IgG4,
   - inicjują klasyczną drogę aktywacji dopełniacza,
   - przechodzą przez łożysko do organizmu płodu.
5. Immunoglobuliny M
   - są syntezowane w początkowej fazie odpowiedzi immunologicznej,
   - są pentamerami (kształt płatka śniegu),
   - efektywniej aktywują dopełniacz niż IgG.

Antygeny

Antygeny są to związki chemiczne, najczęściej wielkocząsteczkowe, rozpoznawane przez komórki układu immunologicznego jako składniki niewłasne. Prowadzi to do produkcji komplementarnych przeciwciał lub uczulonych komórek, które w sposób swoisty reagują z antygenami. Głównymi cechami antygenów są:

- immunogenność, czyli zdolność do wywołania swoistej odpowiedzi immunologicznej,
- antygenowość, czyli zdolność do swoistego łączenia się z immunoglobulinami i receptorami limfocytów T.

Antygen wykazujący tylko antygenowość nazywamy haptenem. Haptenami mogą być proste związki chemiczne, np. glukoza lub trinitrofenol. Immunogenność zyskują one dopiero po połączeniu z nośnikiem, którym może być np. cząsteczka białka.

W immunologii transplantacyjnej, przy przeszczepianiu narządów, różnice genetyczne między dawcą i biorcą sprawiają, że układ odpornościowy biorcy rozpoznaje antygeny przeszczepu jako obce i uruchamia reakcję dążącą do zniszczenia przeszczepu (reakcja odrzucenia przeszczepu).

Antygeny przeszczepu dzielimy na:

- autogeniczne – dawcą i biorcą jest ten sam osobnik,
- syngeniczne – między identycznymi osobnikami tego samego gatunku (identyczna struktura), np. bliźnięta jednojajowe,
- allogeniczne – najistotniejsze przy przeszczepach; dawca i biorca są różnymi genetycznie osobnikami tego samego gatunku,
- ksenogeniczne – między osobnikami odmiennych gatunków.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Cytokiny

Cytokiny to duża grupa białek i glikoprotein produkowanych i wydzielanych w niewielkich ilościach przez aktywowane komórki układu odpornościowego, po kontakcie z antygenem. Są one zatem nośnikami informacji o toczącej się reakcji obronnej. Receptory dla cytokin znajdują się nie tylko w komórkach odpornościowych, lecz także poza nimi, co sprawia, że informacja niesiona przez cytokiny może być odbierana w wielu miejscach organizmu. Cytokiny odgrywają ważną rolę w odpowiedzi immunologicznej:

1. Odpowiedź typu humoralnego

Cytokiny wydzielane są przez limfocyty Th2. Na każdym z etapów tej odpowiedzi na limfocyt B działają inne czynniki, choć żaden z nich nie ogranicza się do oddziaływania wyłącznie na limfocyty B i reguluje najczęściej więcej niż jeden etap. W trakcie tej odpowiedzi cytokiny:

- indukują aktywację limfocytów B: IL-4,
- stymulują proliferację: IL-4, IL-5, IL-2,
- pobudzają różnicowanie: IL-5, IL-6, IL-10, IL-2, IL-4.

Limfocyt B również jest zdolny do wytwarzania cytokin, jednak przede wszystkim może pełnić istotną rolę w odpowiedzi humoralnej na antygeny grasiczozależne.

2. Odpowiedź typu komórkowego

W tym rodzaju odpowiedzi większą rolę odgrywają limfocyty Th1 oraz wydzielane przez nie cytokiny, które bezpośrednio naciekają miejsce podania antygenu lub miejsce wtargnięcia mikroorganizmów. Wydzielane przez limfocyty Th1 cytokiny to np. IFN-γ, TNF, MIF (*macrophage migration inhibitory factor* – czynnik zahamowania migracji makrofagów). Aktywują one makrofagi, zwiększając ich właściwości fagocytarne. Makrofagi i limfocyty wytwarzają również czynniki indukujące uwolnienie histaminy przez komórki tuczne, m.in. chemokiny.

Choroby układu immunologicznego

Nadwrażliwość

Nadwrażliwością nazywamy stan spaczonej odpowiedzi immunologicznej, prowadzący do uszkodzenia tkanek i zapoczątkowania procesu zapalnego. Nadwrażliwość jest silną reakcją immunologiczną w stosunku do niezbyt szkodliwego czynnika, reakcją nadmiernie aktywującą układ immunologiczny. Wyróżniamy cztery typy nadwrażliwości (podział według Gella i Coombsa z 1963 r.). W przypadku typów I–III za nadwrażliwość odpowiedzialne są czynniki humoralne, za nadwrażliwość typu IV odpowiadają czynniki komórkowe.

1. Nadwrażliwość typu I (typ natychmiastowy lub anafilaktyczny)

U jej podłoża leżą reakcje antygenu z przeciwciałami klasy IgE, które łączą się z receptorami powierzchniowymi komórek tucznych (mastocytów) i bazofilów. Obejmuje tkanki, w których obecne są liczne mastocyty: skórę, spojówki, górne i dolne drogi oddechowe oraz przewód pokarmowy. Objawy, takie jak pokrzywka i obrzęk naczynioruchowy, nieżyt nosa, skurcz oskrzeli lub biegunka, rozszerzenie tętnic i obniżenie ciśnienia tętniczego, występują zwykle po upływie 15–20 minut od ekspozycji na antygen (alergen). Niekiedy czas wystąpienia reakcji jest opóźniony o 6–12 godzin; jest to tzw. późna faza reakcji alergicznej. Reakcja ta jest zapoczątkowana przez zależną od IgE degranulację mastocytów i/lub bazofilów. W fazie późnej reakcja jest wzmacniana przez eozynofile, a także płytki krwi i neutrofile. Efekt kliniczny związany jest głównie z wydzielaniem przez te komórki różnych mediatorów. Nazwa „nadwrażliwość typu I" jest często zamiennie stosowana z określeniem „alergia", choć nie oznacza tego samego.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Alergię definiujemy na podstawie obecności swoistych przeciwciał IgE w surowicy, dodatnich prób skórnych i objawów klinicznych.
Na wystąpienie alergii mogą mieć wpływ czynniki:

- genetyczne
- środowiskowe
- infekcyjne
- toksyczne
- ekspozycja na alergen.

Wyróżnia się dwie fazy zjawiska alergii: uczuleniową i alergizacji.

- Faza uczuleniowa – pierwszy kontakt z alergenem prowadzi do pobudzenia limfocytów B i powstania komórek plazmatycznych, które produkują przeciwciała IgE. Następnie przeciwciała łączą się z receptorami komórek tucznych.
- Faza alergizacji – następuje po ponownym kontakcie z czynnikiem alergennym. Immunoglobuliny E, związane z komórkami tucznymi, rozpoznają i wiążą alergen. Sąsiadujące cząsteczki IgE łączą się ze sobą krzyżowo, indukując uwalnianie mediatorów zapalenia (np. histaminy, leukotrienów). Proces ten spowodowany jest degranulacją ziarnistości występującej w komórkach, co prowadzi do powstania objawów alergii.

2. Nadwrażliwość typu II (typ cytotoksyczny)

Reakcja ta rozwija się w różnych tkankach i narządach, a antygen obecny na powierzchni uszkadzanych komórek jest wewnątrzpochodny albo powstaje w wyniku połączenia się zewnątrzpochodnego związku chemicznego (haptenu) z białkiem. Reakcja charakteryzuje się bardzo zróżnicowaną dynamiką – może się rozwijać w ciągu minut lub godzin. Jej mediatorami są immunoglobuliny klasy M (IgM) i klasy G (IgG) oraz białka układu dopełniacza. W jej przebiegu dochodzi do niszczenia opłaszczonych tymi białkami komórek. Przykładami chorób przebiegających z nadwrażliwością typu II są: nabyta niedokrwistość hemolityczna wywołana przez leki, niedokrwistość hemolityczna z dodatnim odczynem Coombsa, choroba hemolityczna noworodków.
Do reakcji cytotoksycznych zalicza się:

- reakcje potransfuzyjne – następują po przetoczeniu krwi niezgodnej w układzie AB0; dochodzi tu do wewnątrznaczyniowego niszczenia przetaczanych erytrocytów w wyniku działania dopełniacza;
- cytopenie polekowe – lek lub jego zanieczyszczenia mogą osadzać się na powierzchni krwinek lub łączyć się z białkami ich błony komórkowej; prowadzi to do wytwarzania swoistych przeciwciał, a przy długotrwałym stosowaniu leku do uszkodzenia komórek szpiku i krwi; do leków mogących wywoływać reakcje cytotoksyczne zaliczamy m.in. sulfonamidy, piramidon i fenacetynę; objawami tych reakcji są granulocytopenia, trombocytopenia i niedokrwistość hemolityczna;
- konflikt serologiczny – niezgodność w zakresie układu Rh zachodzi wówczas, gdy matka posiada krew grupy Rh-, a płód Rh+; erytrocyty płodu są wówczas niszczone przez matczyne przeciwciała klasy IgG, które przechodzą do płodu przez łożysko; indukcja pierwotnej odpowiedzi na antygen D wynika z przedostania się krwi Rh+ do krwiobiegu matki; jeśli w następnej ciąży grupa krwi płodu jest Rh+, jego erytrocyty będą niszczone; aby tego uniknąć, podaje się matce przeciwciała anty-D do 48 godzin po urodzeniu dziecka w celu neutralizacji erytrocytów płodu.

3. Nadwrażliwość typu III (typ kompleksów immunologicznych)

Jest związana z powstawaniem kompleksów immunologicznych, składających się z antygenów połączonych z przeciwciałami, do których mogą być również przyłączone składniki dopełniacza. Kompleksy te w pewnych warunkach mogą odkładać się w tkankach i inicjować miejscowo proces zapalny. Na odkładanie się kompleksów ma wpływ wiele czynników, m.in. ich wielkość; w związku z tym wyróżniamy kompleksy małe, średnie oraz duże. Małe kompleksy są usuwane w wątrobie i ner-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

kach, a duże – niszczone przez komórki żerne wątroby i śledziony. Z kolei średnie kompleksy wykazują silne działania patogenne, które mogą przebiegać pod postacią procesu uogólnionego (choroba posurowicza) lub mogą dotyczyć wybranych narządów (np. toczniowe kłębuszkowe zapalenie nerek, reumatoidalne zapalenie stawów, układowe zapalenia naczyń). Reakcja rozwija się 3–10 godzin po ekspozycji na antygen. Jej mediatorami są kompleksy przeciwciał, głównie klasy IgG, rzadziej IgM, z rozpuszczal-nym antygenem zewnątrz- lub wewnątrzpochodnym.

Do reakcji z udziałem kompleksów immunologicznych należą:

- odczyn Arthusa – antygen wprowadza się podskórnie, w czasie szczepienia; immunokompleksy, złożone z antygenu i immunoglobulin IgG wiążących dopełniacz, aktywują płytki krwi i komórki tuczne, co skutkuje wytwarzaniem histaminy, następuje zwiększenie przepuszczalności naczyń i rozwija się miejscowy proces zapalny złożony z neutrofilów i makrofagów; przyłączenie dopełniacza do kompleksu aktywuje wytwarzanie anafilotoksyn, które powodują degranulację bazofilów i działają przyciągająco na neutrofile, które fagocytują te kompleksy; odczyn Arthusa objawia się obrzękiem, zaczerwienieniem lub nawet martwicą skóry;
- zewnątrzpochodne alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych (płuco farmera, płuco hodowcy pieczarek, płuco hodowcy gołębi); w tym przypadku antygeny dostają się do organizmu drogą wziewną, a mechanizm reakcji jest analogiczny jak w odczynie skórnym Arthusa;
- sytuacja, w której kompleksy krążą po organizmie i odkładają się w różnych tkankach; przykładem jest choroba posurowicza po podaniu obcogatunkowego białka.

4. Nadwrażliwość typu IV (typ opóźniony lub komórkowy)

Nadwrażliwość typu IV bywa wywołana antygenami drobnoustrojowymi (gruźlica, toksoplazmoza), prowadząc do swoistych, narządowych zmian zapalnych, antygenami wewnątrzpochodnymi w chorobach autoimmunizacyjnych czy antygenami kontaktowymi (substancje chemiczne, leki, metale, rośliny). Reakcja osiąga maksymalne nasilenie około 48 godzin po ekspozycji i wynika z pierwotnego zaangażowania limfocytów T. Typowym przykładem tego rodzaju reakcji jest odczyn po śródskórnym podaniu tuberkuliny; do wyzwolenia reakcji dochodzi u osoby, która miała już wcześniej kontakt z prątkami, czyli została uczulona. Z kolei najczęstszą formą nadwrażliwości typu IV jest nadwrażliwość kontaktowa, np. kontaktowe zapalenie skóry.

Niedobory odporności

Niedobór odporności występuje wtedy, gdy układ odpornościowy zawodzi w obronie organizmu przed patogenami lub komórkami nowotworowymi. W ogólnej klasyfikacji wyróżniamy dwa typy niedoborów:

- pierwotne niedobory odporności – uwarunkowane genetycznie, chociaż efekt molekularny nie musi być dokładnie znany; mutacje pojawiają się *de novo* lub są dziedziczone;
- wtórne niedobory odporności – będące skutkiem działania czynnika zewnętrznego lub współistniejącej choroby (np. niedożywienie czy wirus HIV).

1. Pierwotne niedobory odporności (PNO)

Stanowią heterogenną grupę około 300 schorzeń układu odpornościowego, charakteryzującą się zaburzeniami jego funkcji, a w konsekwencji przewlekłymi i nawracającymi zakażeniami układu oddechowego i innych narządów oraz dużym ryzykiem rozwoju chorób nowotworowych, autoimmunizacyjnych i alergicznych. Mianem PNO określamy więc wszelkie stany chorobowe, w których nie występuje zdolność układu odpornościowego do zwalczania zakażeń lub jest ona upośledzona. Obecnie obowiązuje podział pierwotnych niedoborów odporności na osiem grup:

1 – niedobory z dominującymi zaburzeniami produkcji przeciwciał

2 – złożone niedobory dotyczące limfocytów T i B, niekiedy komórek NK

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

3 – inne dobrze zdefiniowane zespoły niedoboru odporności
4 – choroby związane z zaburzoną immunoregulacją
5 – wrodzone defekty liczby i/lub funkcji fagocytów
6 – defekty odporności wrodzonej (głównie dotyczące białek sygnałowych)
7 – zespoły „autozapalne"
8 – niedobory związane z układem dopełniacza.

Największy udział, około 50–60%, wśród wszystkich PNO stanowią niedobory z dominującymi zaburzeniami produkcji przeciwciał, około 30% stanowią zaburzenia odpowiedzi komórkowej, 10% – zaburzenia fagocytozy, najmniejszy zaś, około 2%, stanowią niedobory związane z układem dopełniacza. W PNO fenotypowo obserwuje się często nie tylko zwiększoną skłonność do zakażeń, lecz także inne współwystępujące problemy zdrowotne, takie jak: choroby alergiczne, autoimmunizacyjne, nowotwory, zaburzenia endokrynologiczne, naczynioruchowe, mikroangiopatie, limfadenopatie, hepatosplenomegalię, różne cytopenie, wady serca, problemy z płodnością, choroby płuc i przewodu pokarmowego. Szacuje się, że zaburzenia funkcjonowania układu immunologicznego mogą dotyczyć około 1–2% populacji ludzkiej, a typowe PNO pojawiają się w przybliżeniu z częstością 1:2000–1:3000 żywych urodzeń. W związku z rzadkim występowaniem tych schorzeń ich rozpoznanie bywa często opóźnione. Choroba jest częściej rozpoznawana u mężczyzn; jej rozpoznawalność w tej grupie wynosi 57%, u kobiet 43%. Natomiast grupą wiekową, w której PNO rozpoznaje się najczęściej, jest grupa w wieku 5–19 lat (38%). U pacjentów poniżej 1 roku życia wynosi zaledwie 5%, a najbardziej ciekawym zjawiskiem jest rozpoznawanie PNO u pacjentów powyżej 40 roku życia (22%), mimo że są to choroby wrodzone o podłożu genetycznym. W rozpoznawaniu PNO pomocne jest zestawienie dziesięciu alarmujących objawów sugerujących wystąpienie tego rodzaju choroby u dzieci, opracowanych przez ekspertów Europejskiego Towarzystwa Niedoborów Odporności (European Society for Immunodeficiencies – ESID) i Jeffrey Modell Foundation:

1 – cztery lub więcej nowych zakażeń ucha w ciągu roku
2 – dwa lub więcej poważnych zakażeń zatok w ciągu roku
3 – stosowanie antybiotyku przez dwa miesiące lub dłużej z niewielkim efektem
4 – dwa lub więcej zapaleń płuc w ciągu roku
5 – brak przyrostu/ubytek masy ciała lub zahamowanie prawidłowego rozwoju dziecka
6 – nawracające, głębokie ropnie skóry lub innych narządów
7 – uporczywe pleśniawki w jamie ustnej lub zakażenia grzybicze na skórze
8 – konieczność stosowania antybiotyków dożylnych do leczenia zakażeń
9 – dwa (lub więcej) zakażeń tkanek głębokich, w tym posocznica
10 – PNO w wywiadzie rodzinnym.

Wystąpienie 2 z 10 opisanych objawów powinno być niepokojącą przesłanką i jednocześnie wskazaniem do wdrożenia badań immunologicznych.

W przypadku dorosłych ESID proponuje kierować do immunologa osoby, u których występuje sześć sygnałów ostrzegawczych sugerujących PNO:

1 – cztery lub więcej zakażeń, takich jak: zapalenie uszu, oskrzeli, zatok lub płuc w ciągu roku, wymagające leczenia antybiotykami
2 – nawracające zakażenia lub zakażenia wymagające długotrwałej antybiotykoterapii
3 – dwa lub więcej ciężkie zakażenia bakteryjne, takie jak: zapalenie kości, mózgu, posocznica czy zakażenie skóry
4 – dwa lub więcej potwierdzone radiologicznie zapalenia płuc w ciągu trzech lat
5 – zakażenie o nietypowej lokalizacji lub wywołane nietypowym patogenem
6 – występowanie w rodzinie PNO.

W przypadku dotykających człowieka zakażeń niezmiernie istotna jest prawidłowa identyfikacja czynnika etiologicznego infekcji, co pozwala na podjęcie celowanej i skutecznej terapii. U pacjentów

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

z podejrzeniem PNO jest to szczególnie ważne, ponieważ może wskazywać na rodzaj istniejącego deficytu immunologicznego w organizmie pacjenta.
Pacjenci z PNO są podatni na nawracające, przewlekłe zakażenia:

- bakteryjne,
- wirusowe,
- grzybicze,
- pasożytnicze.

Dodatkowo na możliwość niedoboru odporności jako przyczyny problemów zdrowotnych pacjenta wskazują występujące u niego zakażenia oportunistyczne.

2. Wtórne (nabyte) niedobory odporności

Charakteryzują się występowaniem nawracających lub przedłużających się zakażeń bakteryjnych, grzybiczych, wirusowych i pasożytniczych. Stanowią grupę znacznie liczniejszą i występują zdecydowanie częściej niż niedobory pierwotne. Do ich rozwoju przyczyniają się inne choroby i stany patologiczne, z których na pierwszym miejscu jest niedożywienie.
Przyczyny wtórnych niedoborów odporności to:

- niedożywienie – niedostateczna podaż kalorii prowadzi do upośledzenia wytwarzania wszystkich składników układu odpornościowego; niedobór w diecie białka, witamin A, E i B oraz kwasu foliowego, a także żelaza i cynku może powodować zahamowanie czynności limfocytów T;
- nowotwory oraz towarzysząca im kacheksja nowotworowa i niedożywienie białkowo-kaloryczne;
- zakażenia wirusowe (np. wirusem odry, który ma długotrwały wpływ immunosupresyjny na wytwarzanie przeciwciał i IL-12), gruźlica, malaria, HIV;
- terapia immunosupresyjna – zastosowane w terapii glikokortykosteroidy, leki immunosupresyjne (np. cyklosporyna, 6-merkaptopuryna), leki cytotoksyczne, jak również promienie jonizujące czy splenektomia;
- alkoholizm i nadużywanie narkotyków;
- stany powodujące nasilony katabolizm i/lub utratę białek – zespół nerczycowy, enteropatia, oparzenia, rozległe urazy;
- przewlekła niewydolność nerek – wpływ toksyn mocznicowych;
- choroby autoimmunizacyjne;
- choroby metaboliczne – cukrzyca, nadczynność przytarczyc, choroba Cushinga;
- niedobory związane ze stanami fizjologicznymi – wiek niemowlęcy i podeszły, wcześniactwo, ciąża.

Istotną przyczyną wtórnego niedoboru odporności jest zakażenie wirusem HIV. HIV jest retrowirusem przenoszonym drogą płciową, przez krew i jej produkty, w trakcie zabiegów operacyjnych, kosmetycznych itp. oraz okołoporodowo. Następstwem zakażenia wirusem HIV jest AIDS – przewlekła choroba o zróżnicowanym przebiegu. AIDS rozwija się zwykle w ciągu 10 lat od zakażenia, jednak w tym zakresie obserwowana jest istotna zmienność osobnicza: u niektórych chorych pełnoobjawowy zespół może się rozwinąć w ciągu 2 lat od zakażenia, a niektórzy pacjenci pozostają bezobjawowi nawet kilkanaście lat. Do monitorowania stanu układu odpornościowego zakażonego pacjenta służy ilościowa ocena HIV RNA oraz ilościowa ocena subpopulacji limfocytów T CD4+. Spadek liczby tych komórek poniżej 200/µl uważa się za krytyczny, zwiastujący infekcje oportunistyczne i progresję do pełnoobjawowego AIDS.

Zjawiska autoimmunizacji

Zjawiska autoimmunizacji są podłożem tzw. chorób z autoagresji zwanych inaczej schorzeniami autoimmunologicznymi. Są to schorzenia przeważnie o przewlekłym przebiegu, charakteryzujące się okresami zaostrzeń i remisji. Często prowadzą do inwalidztwa, a niejednokrotnie mogą być przyczyną śmierci. Grupa chorób, w których wykazano istnienie podłoża autoimmunologicznego, obejmuje ponad

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

80 jednostek chorobowych. Dotknięte nimi jest ponad 5% światowej populacji, a liczba zachorowań systematycznie rośnie.

Choroby autoimmunologiczne związane są z nieprawidłową reakcją układu odpornościowego, której wynikiem jest wytwarzanie autoprzeciwciał skierowanych przeciwko własnym tkankom. Pojawienie się autoprzeciwciał w surowicy pacjenta stanowi podstawowy marker diagnostyczny autoimmunizacji.

Schorzenia z autoimmunizacji dzieli się zwyczajowo na:

1. Choroby swoiste narządowo, w których autoprzeciwciała są skierowane przeciw narządowo lub tkankowo swoistym antygenom i wywołują upośledzenie funkcji jednego narządu:
   - choroba Hashimoto
   - choroba Gravesa-Basedowa
   - niedokrwistość megaloblastyczna
   - choroba Addisona
   - cukrzyca typu I
   - zanikowe zapalenie błony śluzowej żołądka
   - pęcherzyca zwyczajna
   - miastenia
   - pierwotne zapalenie dróg żółciowych
   - nieswoiste choroby zapalne jelit (wrzodziejące zapalenie jelita grubego, choroba Leśniowskiego-Crohna).
2. Choroby uogólnione, w których autoprzeciwciała nieswoiste narządowo wywołują uogólnione objawy chorobowe upośledzające funkcję wielu narządów:
   - toczeń trzewny uogólniony (*systemic lupus erythematosus* – SLE)
   - twardzina uogólniona
   - zapalenia wielomięśniowe i zapalenie skórno-mięśniowe
   - mieszana choroba tkanki łącznej
   - reumatoidalne zapalenie stawów
   - zespół Sjögrena
   - ziarniniak Wegenera.

Badania laboratoryjne odgrywają ważną rolę w diagnostyce wymienionych chorób. Trzeba jednak pamiętać, że są one jedynie badaniami pomocniczymi. Podstawowe znaczenie mają wywiad i stan kliniczny pacjenta. W diagnostyce schorzeń autoimmunologicznych podstawowe znaczenie ma obecność i miano przeciwciał przeciwjądrowych (*antinuclear antibodies* – ANA).

Podstawowe badania stosowane w diagnostyce układu immunologicznego

- Morfologia krwi z wzorem odsetkowym krwinek białych
- Ocena składu głównych populacji limfocytów krwi obwodowej, oznaczenie stężenia gammaglobulin w surowicy
- Oznaczenie stężenia klas głównych immunoglobulin w surowicy
- Oznaczenie stężenia podklas IgG za pomocą nefelometrii lub metodą immunoenzymatyczną
- Ocena metabolizmu tlenowego neutrofilów w teście NBT (*nitroblue tetrazolium*) lub w chemiluminescencji
- Badanie serologiczne w kierunku zakażenia HIV
- Ocena swoistych przeciwciał poszczepiennych metodą immunoenzymatyczną

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Szczepionki

Szczepionka to preparat biologiczny zawierający antygeny w formie całych drobnoustrojów, fragmentów ich struktury lub ich metabolitów, które stymulują układ odpornościowy organizmu do wytworzenia nabytej odporności, zwanej uodpornieniem poszczepiennym. Zdolność do stymulowania układu odpornościowego określa się jako immunogenność. Szczepionki służą do uzyskiwania odporności porównywalnej z uodpornieniem nabywanym po naturalnym zakażeniu.

Szczepionki mogą zawierać:

- drobnoustroje, które zostały inaktywowane (zabite) chemicznie lub fizycznie bez zniszczenia ich właściwości antygenowych;
- żywe drobnoustroje pozbawione chorobotwórczości lub poddane działaniu zmniejszającemu ich chorobotwórczość (atenuowane) z zachowaniem wystarczających właściwości antygenowych;
- oczyszczone antygeny, uzyskane z drobnoustrojów za pomocą ekstrakcji, wydalane przez nie lub uzyskane z wykorzystaniem inżynierii genetycznej.

Ze względu na liczbę antygenów wyróżniamy:

- szczepionki monowaletne – zawierające jeden gatunek lub serotyp drobnoustroju,
- szczepionki poliwalentne – zawierające kilka serotypów tego samego gatunku drobnoustroju,
- szczepionki skojarzone (wieloważne) – stosowane przeciwko kilku chorobom jednocześnie; wyróżniamy tu szczepionki dwuskładnikowe, trójskładnikowe lub kilkuskładnikowe w zależności od liczby serotypów różnych drobnoustrojów zawartych w szczepionce.

Ze względu na rodzaj zawartych drobnoustrojów szczepionki dzielimy na bakteryjne i wirusowe.

Idealna szczepionka to taka, którą charakteryzują:

- pełna immunogenność i ochrona,
- stymulowanie mechanizmów odporności swoistej,
- długotrwała poszczepienna pamięć immunologiczna,
- długotrwała odporność uzyskiwana po zastosowaniu pojedynczej dawki,
- bezpieczeństwo – brak działań niepożądanych,
- stabilność – długotrwałe zachowanie właściwości biologicznych, a także trwałość przechowywania i transportu,
- łatwość stosowania – możliwość jednoczesnego podania z innymi szczepionkami podczas jednej wizyty lekarskiej,
- powszechna dostępność i przystępna cena.

Przeciwwskazania do szczepień

W świadomości społecznej funkcjonują opinie na temat licznych zaburzeń lub chorób, mających stanowić przeciwwskazania do szczepień ochronnych. Wbrew powszechnemu przekonaniu łagodne lub umiarkowane odczyny po podaniu poprzedniej dawki szczepionki, takie jak ból, zaczerwienienie czy obrzęk w miejscu podania, niewielka lub umiarkowana gorączka po poprzedniej dawce szczepionki, **nie stanowią przeciwwskazania** do szczepienia. Podobnie łagodnie przebiegająca ostra choroba zakaźna z niewielką gorączką (np. przeziębienie) lub przewlekła antybiotykoterapia (np. stosowana w profilaktyce gorączki reumatycznej czy w leczeniu boreliozy) nie są przeciwwskazaniami do wykonania szczepień ochronnych. Do przeciwwskazań nie należą również: okres rekonwalescencji po przebytej chorobie zakaźnej, wcześniactwo, kontakt z osobą z chorobą zakaźną lub zachorowanie w rodzinie.

Istnieją oczywiście **bezwzględne przeciwskazania** do szczepień ochronnych. Są to stany, w których ze względu na duże ryzyko wystąpienia ciężkich niepożądanych odczynów poszczepiennych (NOP) należy całkowicie zrezygnować ze szczepienia ochronnego (np. po przebytej reakcji anafilaktycznej po podaniu poprzedniej dawki oraz u pacjentów z ciężkimi zaburzeniami odporności) lub szczepienie

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

odroczyć (ciąża). Szczepionki żywe są bezwzględnie przeciwwskazane u kobiet w ciąży, u chorych zakażonych wirusem HIV (w odniesieniu do szczepienia BCG) oraz w okresie pierwszych dwóch lat po przeszczepieniu szpiku.

Z kolei **przeciwwskazanie względne** to sytuacje wymagające zachowania szczególnej ostrożności, ponieważ wiążą się z nieznacznie zwiększonym ryzykiem wystąpienia NOP (np. szczepienie przeciwko grypie osoby po przebytej reakcji uczuleniowej po spożyciu białka jaja kurzego) lub zwiększonym ryzykiem braku skuteczności szczepienia (np. podanie szczepionki przeciwko odrze, śwince i różyczce krótko po podaniu immunoglobuliny lub przetoczeniu krwi). Ryzyko wystąpienia NOP jest w takich sytuacjach istotnie mniejsze niż w stanach będących bezwzględnymi przeciwskazaniami do szczepienia. W efekcie korzyści wynikające ze szczepienia przewyższają ryzyko wystąpienia i konsekwencje NOP.

W praktyce najczęstszymi przeciwwskazaniami do szczepień są przemijające stany wymagające zachowania szczególnej ostrożności, czyli **przeciwwskazania czasowe względne**. Należą do nich ostra choroba o umiarkowanym lub ciężkim przebiegu, niezależnie od tego, czy przebiega z gorączką czy bez, jak również zaostrzenie przewlekłego procesu chorobowego (astma, nieswoiste zapalenia jelit). W tych przypadkach szczepienia ochronne powinny być odroczone do chwili ustąpienia ostrych objawów chorobowych, a w chorobach przewlekłych do uzyskania remisji.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

XII. Serologia grup krwi i podstawy leczenia krwią

Bogdan Mazur, Mariusz Skiba

Serologia grup krwi

Początki stosowania krwi w leczeniu różnych chorób można odnaleźć już w czasach starożytnych. Zachowane informacje mówią o kąpielach i piciu krwi zwierzęcej i ludzkiej (zwłaszcza wrogów), co miało działać leczniczo, odmładzająco, przedłużać życie czy zapewniać zwycięstwa. Krew uważano również za płyn, w którym mogą gromadzić się substancje odpowiadające za różne choroby. Odkryć przełomowych dla dalszego rozwoju współczesnej transfuzjologii dokonano dopiero na początku XX w., kiedy dwa odkrycia całkowicie zrewolucjonizowały transfuzjologię. Pierwsze to odkrycie w 1901 r. przez wiedeńskiego badacza Karola Landsteinera grup krwi. Uczony określił trzy cechy grupowe krwi oraz zasady jej bezpiecznego przetaczania (za co dostał Nagrodę Nobla w 1930 r.). Czwartą cechę w układzie grupowym, nazywanym później układem AB0 w 1902 r. określili Alfred Decastello i Adrian Sturli. Z kolei podczas II wojny światowej w 1940 r. Karol Landsteiner oraz Aleksander Wiener odkryli czynnik Rh, co ma istotne znaczenie zwłaszcza przy dobieraniu krwi dla pacjenta. W 1916 r. w armii brytyjskiej powstaje pierwszy bank krwi, w którym krew pobraną na cytrynian przechowywano 14 dni, a w październiku 1921 r. w Londynie został założony pierwszy cywilny rejestr dawców płatnych. Miarą znaczenia krwiolecznictwa w świecie było powołanie w Paryżu w 1937 r. Międzynarodowego Towarzystwa Przetaczania Krwi. Rozwój krwiolecznictwa został znacznie przyspieszony w czasie II wojny światowej. Do dziś udało się odkryć ponad 30 układów grupowych krwi. W tabeli XII.1 podano przykładowe układy grupowe krwi.

Tabela XII.1. Przykładowe układy grupowe krwi

Układ	Symbol	Antygen	Liczba antygenów	Chromosom
001 AB0	AB0	węglowodan	4	9
002 MNS	MNS	glikoforyny A, B, E	46	4
003 P1PK	P1PK	glikosfingolipid	3	22
004 Rh	RH	białko RhD, RhCcEe	54	1
005 Lutheran	LU	IgSF	19	19
006 Kell	KEL	endopeptydaza	35	7
007 Lewis	LE	węglowodan	6	19
008 Duffy	FY	białko, receptor chemokin	5	1
009 Kidd	JK	białko, transporter mocznika	3	18
010 Diego	DI	białko 3, transporter anionów	22	17

Aby ujednolicić nazewnictwo odkrywanych grup krwi, w 1980 r. powstała grupa robocza do ustalenia nazewnictwa antygenów grupowych. Obecna jej nazwa to grupa robocza ds. immunogenetyki krwinki czerwonej i terminologii grup krwi. Zgodnie z przyjętymi zasadami każdy układ i antygen ma ozna-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

czenie grupowe. Symbole antygenów i układów mają różne językowe uwarunkowania. Część z nich ma kolejne oznaczenia literowe, część pochodzi od nazwisk, np. antygen kell z układu Kell pochodzi od nazwiska Kelleher – nazwiska kobiety, która wytworzyła przeciwciała anty-K. W tabelach XII.2 i XII.3 zestawiono częstość występowania grup krwi z układu AB0 i Rh w poszczególnych populacjach.

Tabela XII.2. Częstość występowania (%) grup krwi (*wg Fabijańska-Mitek J., Bochenek-Jantczak D., Grajewska A., Wieczorek K. Badania immunohematologiczne i organizacja krwiolecznictwa – kompendium. Fundacja Pro Pharmacia Futura. Warszawa 2017*)

Populacja	**Grupa krwi**			
	0	**A**	**B**	**AB**
Polska	33	40	19	8
Rasa kaukaska	44	43	9	4
Azjaci	43	27	25	4
Rasa czarna	49	27	20	4
Meksykanie	55	28	13	4
Indianie Ameryki Południowej	100	0	0	0
Aborygeni	44	56	0	0
Lapończycy	18	55	15	12

Tabela XII.3. Częstość występowania (%) antygenu D w różnych populacjach (*wg Fabijańska-Mitek J., Bochenek-Jantczak D., Grajewska A., Wieczorek K. Badania immunohematologiczne i organizacja krwiolecznictwa – kompendium. Fundacja Pro Pharmacia Futura. Warszawa 2017*)

Populacja	**Rh dodatni**	**Rh ujemny**
Polska	82,66	17,34
Japonia i Azja wsch.	99,5	0,5
Rasa czarna	95	5

Początki transfuzjologii w Polsce datuje się na 1935 r., kiedy w Warszawie powstał Instytut Pobierania i Konserwacji Krwi, a rok później – Ośrodek Przetaczania Krwi w Łodzi. Po zakończeniu II wojny światowej Polski Czerwony Krzyż zorganizował stacje krwiodawstwa w siedmiu dużych miastach Polski. W 1951 r. utworzony został Instytut Transfuzjologii, sprawujący nadzór merytoryczny i nad stacjami krwiodawstwa, a także prowadzący działalność naukową. Pod koniec lat 90. ubiegłego wieku w Polsce funkcjonowało 21 wojewódzkich stacji krwiodawstwa i 450 punktów krwiodawstwa w szpitalach, które ostatecznie zostały przekształcone w Regionalne Centra Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK), zajmujące się przygotowywaniem i wydawaniem krwi oraz jej składników.

W 1999 r. na mocy *Ustawy o publicznej służbie krwi* nadzór nad krwiodawstwem przejęło Krajowe Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa. Zostały stworzone przepisy regulujące funkcjonowanie służby krwi w Polsce, a RCKiK przejęły od szpitali punkty krwiodawstwa – dzisiejsze oddziały terenowe (OT). Po nowelizacji *Ustawy o publicznej służbie krwi* od 2003 r. nadzór merytoryczny nad krwiodawstwem i krwiolecznictwem w Polsce sprawuje Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, a krajowe centrum uległo likwidacji. Od 2006 r. koordynacją działalności krwiodawstwa i krwiolecznictwa zajmuje się utworzone w tym celu Narodowe Centrum Krwi. W Polsce do pobierania krwi i jej składników uprawnione są wyłącznie: RCKiK, Wojskowe Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa oraz Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa MSWiA.

Obecnie, na początku XXI w., składniki krwi i produkty krwiopochodne należą do najczęściej stosowanych środków leczniczych. W Polsce wykonuje się rocznie około 1,5 miliona przetoczeń składników krwi. Jej pobieraniem, oddzielaniem składników i wydawaniem zajmują się RCKiK. Na świe-

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cie dokonuje się co roku około 80 milionów pobrań krwi. Do burzliwego rozwoju współczesnej transfuzjologii, który nastąpił w drugiej połowie XX w., przyczyniły się następujące osiągnięcia:

- opracowanie techniki izolacji poszczególnych składników komórkowych krwi, co umożliwiło ich stosowanie w zależności od indywidualnego zapotrzebowania chorego;
- opracowanie metod frakcjonowania osocza, dzięki którym otrzymuje się m.in. albuminę, immunoglobuliny i koncentraty czynników krzepnięcia;
- wprowadzenie do użytku jednorazowych zestawów z tworzyw sztucznych do pobierania, preparowania, przechowywania oraz przetaczania krwi i jej składników;
- wynalezienie tzw. separatorów komórkowych, umożliwiających pobieranie bezpośrednio od dawcy wybranych składników krwi, np. płytek lub osocza;
- zastosowanie metod inżynierii genetycznej, m.in. do produkcji koncentratów czynników krzepnięcia;
- wdrożenie nowoczesnych metod badania i preparatyki krwi w celu eliminacji części zagrożeń związanych z przetoczeniem.

Do lat 70. ubiegłego wieku najczęściej przetaczano tzw. krew pełną. Obecnie przetacza się tylko te składniki, które są pacjentowi niezbędne. Krew pełna pobrana od dawców podlega preparatyce, czyli rozdzieleniu na poszczególne składniki: krwinki czerwone, krwinki białe, płytki krwi i osocze. W tabelach XII.4–XII.6 przedstawiono rodzaje poszczególnych składników krwi.

Tabela XII.4. Charakterystyka koncentratów krwinek czerwonych (*wg Fabijańska-Mitek J., Bochenek-Jantczak D., Grajewska A., Wieczorek K. Badania immunohematologiczne i organizacja krwiolecznictwa – kompendium. Fundacja Pro Pharmacia Futura. Warszawa 2017*)

Składnik krwi	**Termin ważności**	**Wskazania do stosowania**
1	2	3
KKCz – koncentrat krwinek czerwonych w roztworze wzbogaconym, pozbawionym kożuszka leukocytarno-płytkowego	z roztworem wzbogaconym: SAGM, ADSOL – do 42 dni CPDA 1 – do 35 dni	w celu uzupełnienia utraconej krwi krążącej w leczeniu niedokrwistości
UKKCz – ubogoleukocytarny koncentrat krwinek czerwonych	zgodnie z terminem ważności macierzystej jednostki KKCz	leczenie niedokrwistości u chorych, u których stwierdzono przeciwciała anty-HLA do transfuzji dopłodowych i u noworodków do zabezpieczenia przed przeniesieniem zakażenia CMV, jeśli nie jest dostępny KKCz od dawcy CMV-ujemnego profilaktycznie u wielokrotnego biorcy
NKKCz – napromieniowany koncentrat krwinek czerwonych	zgodnie z terminem ważności macierzystej jednostki KKCz	u chorych z wrodzoną lub nabytą niewydolnością układu immunologicznego u płodów i noworodków u chorych leczonych supresyjnie u chorych leczonych transfuzjami od dawców rodzinnych

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cd. tab. XII.4

1	2	3
PKKCz – przemywany koncentrat krwinek czerwonych	otrzymywany w systemie: zamkniętym – do 24 godzin otwartym – do 8 godzin	u chorych z przeciwciałami przeciwko białkom osocza, szczególnie anty-IgA u chorych z objawami ostrych reakcji alergicznych na białka osocza u płodów i noworodków z ChHPN (choroba hemolityczna płodu i noworodka) do transfuzji KKCz pobranej od matki
MKKCz – mrożony koncentrat krwinek czerwonych	w zamrożeniu – 10 lat po rozmrożeniu w systemie: zamkniętym – 24 godziny otwartym – 8 godzin	dla biorców z przeciwciałami do antygenów powszechnych dla biorców z przeciwciałami wieloswoistymi w niektórych przypadkach do autotransfuzji

Tabela XII.5. Charakterystyka koncentratów krwinek płytkowych (*wg Fabijańska-Mitek J., Bochenek-Jantczak D., Grajewska A., Wieczorek K. Badania immunohematologiczne i organizacja krwiolecznictwa – kompendium. Fundacja Pro Pharmacia Futura. Warszawa 2017*)

Składnik krwi	**Termin ważności**	**Wskazania do stosowania**
1	2	3
Zl.KKP – zlewany koncentrat krwinek płytkowych	przygotowywany w systemie: zamkniętym – 5 dni, w pojemniku tzw. oddychającym o pojemności 1000 ml otwartym – 6 godzin od zakończenia preparatyki	u chorych z małopłytkowością i towarzyszącymi jej objawami skazy krwotocznej we wrodzonych i nabytych zaburzeniach funkcji płytek z objawami skazy krwotocznej
KKP-Af – koncentrat krwinek płytkowych z aferezy (otrzymany metodą automatyczną)	przygotowywany w systemie: zamkniętym – 5 dni, w pojemniku tzw. oddychającym o pojemności 1000 ml otwartym – 6 godzin od zakończenia aferezy	u chorych z małopłytkowością i towarzyszącymi jej objawami skazy krwotocznej u chorych z przeciwciałami anty-HPA i/lub anty-HLA (możliwość przetoczenia KKP od dobranych dawców)
UKKP – ubogoleukocytarny koncentrat krwinek płytkowych	przygotowywany w systemie: zamkniętym – 5 dni, w pojemniku tzw. oddychającym o pojemności 1000 ml otwartym – 6 godzin od zakończenia preparatyki	u biorców przeszczepów krwinek krwiotwórczych lub narządów (zapobieganie immunizacji antygenami HLA) do transfuzji dopłodowych i u noworodków u wielokrotnych biorców, u których wystąpiły co najmniej dwie niehemolityczne reakcje gorączkowe u chorych z upośledzeniem układu immunologicznego
NKKP – napromieniowany koncentrat krwinek płytkowych	przygotowywany w systemie: zamkniętym – 5 dni, w pojemniku tzw. oddychającym o pojemności 1000 ml otwartym – 6 godzin od zakończenia preparatyki	u chorych z małopłytkowością w celu zapobiegania potransfuzyjnej GvHD (choroba przeszczep przeciw gospodarzowi) u płodów i noworodków u pacjentów otrzymujących leki immunosupresyjne przy przetaczaniu KKP od dawców spokrewnionych z biorcą

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

cd. tab. XII.5

1	2	3
PKKP – przemywany koncentrat krwinek płytkowych	składnik powinien być przetoczony nie później niż w ciągu 2 godzin od zakończenia preparatyki	u chorych z przeciwciałami skierowanymi przeciwko białkom osocza, szczególnie anty-IgA u chorych z objawami ostrych reakcji alergicznych na białka osocza w alloimmunologicznej małopłytkowości noworodków do transfuzji KKP pobranych od matki
RKKP – rekonstytuowany koncentrat krwinek płytkowych (płytki krwi zawieszone w osoczu jednoimiennym lub w osoczu grupy AB)	przygotowywany w systemie: zamkniętym – 5 dni, w pojemniku tzw. oddychającym o pojemności 1000 ml otwartym – 6 godzin od zakończenia preparatyki	jeśli niedostępny jest KKP grupy jednoimiennej
MKKP – mrożony koncentrat krwinek płytkowych	w zamrożeniu: 1 rok w -80°C 2 lata w -140°C po rozmrożeniu: 2 godziny	gdy niedostępne są świeże KKP jeśli konieczne jest zastosowanie składników od dobranych dawców przeznaczonych do konkretnych biorców, np. uodpornionych antygenami HPA lub HLA

Tabela XII.6. Charakterystyka osocza świeżo mrożonego, krioprecypitatu i koncentratu granulocytów (*wg Fabijańska-Mitek J., Bochenek-Jantczak D., Grajewska A., Wieczorek K. Badania immunohematologiczne i organizacja krwiolecznictwa – kompendium. Fundacja Pro Pharmacia Futura. Warszawa 2017*)

Składnik krwi	**Termin ważności**	**Główne zastosowania**
FFP – osocze świeżo mrożone	w zamrożeniu: 36 miesięcy w temperaturze poniżej -25°C 3 miesiące w temperaturze pomiędzy -18°C a -25°C po rozmrożeniu: 6 godzin	leczenie zaburzeń układu krzepnięcia, szczególnie u chorych z równoczesnym niedoborem kilku czynników lecznicza plazmafereza odwrócenie skutków doustnych antykoagulantów leczenie koagulopatii, np. związanej z masywnym przetoczeniem dalsze przemysłowe frakcjonowanie
Krioprecypitat	w zamrożeniu: 36 miesięcy w temperaturze poniżej -25°C 3 miesiące w temperaturze pomiędzy -18°C a -25°C po rozmrożeniu: 6 godzin	u chorych z hipo- i dysfibrynogenemią wrodzoną lub nabytą (choroby wątroby) w rozsianym wykrzepianiu śródnaczyniowym (DIC) u chorych na hemofilię i chorobę von Willebranda, gdy niedostępne są preparaty czynników krzepnięcia
KG – koncentrat granulocytarny	składnik powinien być przetoczony natychmiast po jego uzyskaniu, w razie konieczności może być przechowywany do 24 godzin od zakończenia pobierania w temperaturze pokojowej	u chorych z ciężką neutropenią, w leczeniu zagrażających życiu zakażeń bakteryjnych i grzybiczych

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Immunologia krwinek

W krwinkach czerwonych człowieka zawarte są antygeny grupowe (aglutynogeny), a w surowicy krwi obecne są przeciwciała (aglutyniny). Antygeny pod względem budowy biochemicznej są białkami, lipidami lub węglowodanami. Składają się z kilku lub kilkudziesięciu determinant (epitopów). Określony antygen może występować oddzielnie, względnie w zespole z innymi antygenami. Antygeny grupowe są w zasadzie niezmienne w ciągu życia osobniczego. Większość znaczących układów grupowych (np. Rh, Kell, Duffy) rozwija się już we wczesnym okresie życia płodowego i ich ekspresja na krwinkach czerwonych jest tak samo silnie wyrażona jak u osób dorosłych. Niektóre antygeny (np. A, B, H) rozwijają się później i w chwili urodzenia mogą być trudne do wykrycia. Poza krwinkami czerwonymi antygeny układów grupowych są również obecne na komórkach różnych tkanek. Zmianę antygenów krwinek czerwonych obserwuje się u osób, którym przeszczepiono szpik kostny, bowiem w tym przypadku nie dobiera się dawcy i biorcy w zakresie tych antygenów. Po przyjęciu przeszczepu chory ma grupę krwi i fenotyp dawcy szpiku. Znaczenie kliniczne antygenów grupowych podczas procedury przetaczania krwi zależy głównie od immunogenności danego antygenu i częstości jego występowania w danej populacji. Najgroźniejsze są różnice antygenowe w układzie AB0, ponieważ przeciwciała występują naturalnie. Następnym układem jest układ Rh, a szczególnie antygen D, będący bardzo silnym immunogenem. W tym przypadku przeciwciała powstają u osób Rh-ujemnych poprzez kontakt z krwinkami Rh-dodatnimi. Silnymi immunogenami są też inne antygeny układu Rh, szczególnie c oraz E, a także antygeny innych układów grupowych, np. Kell, Duffy, Kidd. Należy pamiętać, że każdy antygen dawcy może wywołać reakcje u biorcy w postaci wytworzenia odpowiednich przeciwciał. Przeciwciała pod względem budowy biochemicznej są białkami. Są przeciwciałami fizjologicznymi i należą do frakcji globulin, dlatego noszą nazwę immunoglobulin. Mają charakterystyczną swoistość, czyli reagują tylko z pojedynczymi antygenami. Wspólną cechą wszystkich immunoglobulin jest ich struktura, na którą składają się dwa łańcuchy ciężkie i dwa łańcuchy lekkie połączone mostkiem dwusiarczkowym. Odpowiedź pierwotna na antygen krwinek czerwonych rozwija się długo – od 3 do 6 miesiąca. Dzięki temu uodpornienie kobiety w pierwszej ciąży zazwyczaj nie jest groźne dla rozwijającego się płodu, a dopiero następne ciąże powodują konflikt serologiczny.

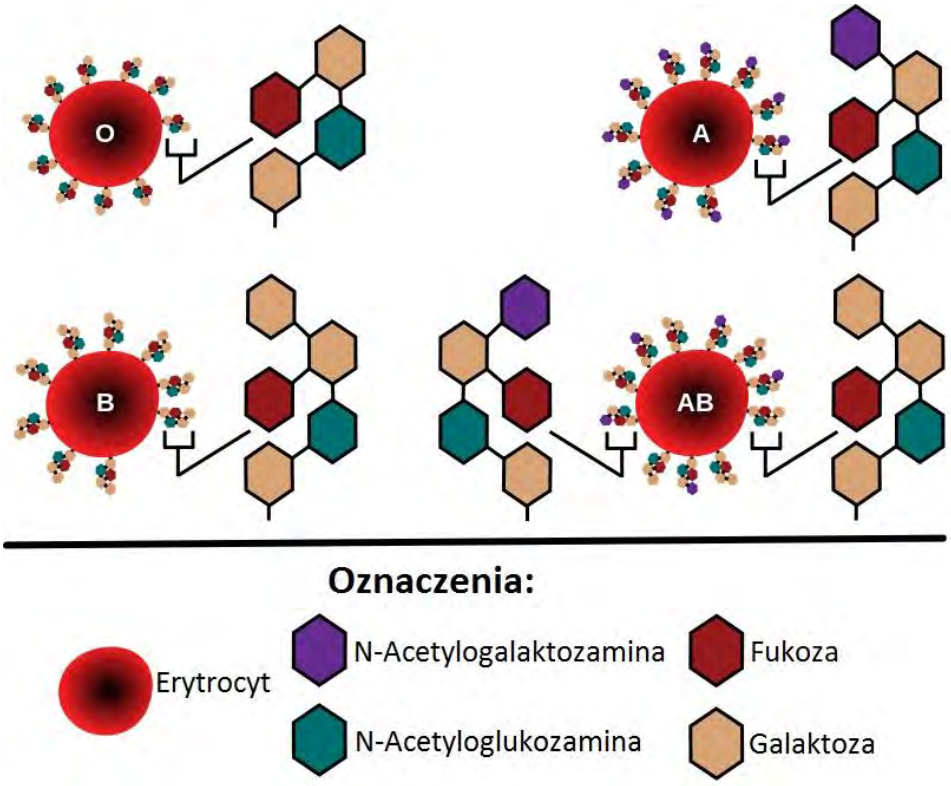
Grupy krwi są antygenowymi determinantami na powierzchni krwinki czerwonej, które po dostaniu się do układu krążenia osoby, która jej nie posiada, stymulują układ odpornościowy do wytwarzania swoistych przeciwciał. Antygeny układu AB0 występują na powierzchni krwinek czerwonych oraz na innych komórkach ciała, z wyjątkiem tkanki nerwowej i hepatocytów. Mogą również występować w postaci rozpuszczonej w płynach ustrojowych i wydzielinach osób, które nazywamy wydzielaczami (stanowią około 80% populacji). Cząsteczki te mają przeważnie budowę białkową, a niektóre z nich są silnymi antygenami, tzn. wprowadzone do krwi osoby, która ich nie ma, powodują powstanie skierowanych przeciwko nim przeciwciał. Antygeny AB0 można wykryć w okresie życia płodowego, choć receptory krwinkowe nie są jeszcze w pełni rozwinięte. Przeciwciała skierowane do krwinek czerwonych posiadające odpowiednią swoistość antygenową dzielą się na przeciwciała naturalne, czyli niezależne od uodpornienia antygenami krwinek czerwonych, i przeciwciała odpornościowe, powstające w odpowiedzi na antygeny krwinek czerwonych. Przeciwciała naturalne mogą być regularne, które obecne są zawsze, oraz nieregularne, występujące okresowo. Przeciwciała odpornościowe zawsze są przeciwciałami nieregularnymi, których stężenie może spadać bez stymulacji antygenowej, natomiast każdy kolejny kontakt z antygenem wyzwala produkcję tych przeciwciał, np. po przetoczeniu krwi od dawcy, a także u kobiet ciężarnych na skutek immunizacji krwinkami płodu w kolejnych ciążach. Proces ten wiąże się z obecnością komórek pamięci, czyli limfocytów T i B. Podział przeciwciał grupowych przedstawiono w tabeli XII.7.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela XII.7. Podział przeciwciał grupowych

Przeciwciała	
naturalne IgM	**odpornościowe IgG**
regularne: -A, -B nieregularne: -M-, N, -S, -P1,- Lea, -Leb	-D, -C, -c, -e, -K, -k, -Fya, -Fyb, -Jka, -Jkb, -s

Stężenie regularnych przeciwciał anty-A i anty-B klasy IgM zmienia się w ciągu życia, nie występują one u noworodków. Pojawiają się w okresie niemowlęcym, najwcześniej po trzech miesiącach życia, a ich miano osiąga poziom charakterystyczny dla ludzi dorosłych pomiędzy 5 i 10 rokiem życia. U osób w podeszłym wieku przeciwciała mogą być słabsze, ale występują przez całe życie. Układ AB0 odkryty jako pierwszy dalej pozostaje najważniejszym układem w transfuzjologii i transplantologii. Należą do niego trzy podstawowe antygeny leżące na ramieniu długim chromosomu 9. Synteza tego antygenu odbywa się w szpiku podczas dojrzewania erytrocytu, a budowa wszystkich antygenów podlega ścisłej kontroli genetycznej. Dungern i Hirszfeld po raz pierwszy zwrócili uwagę, że antygeny układu grupowego dziedziczy się zgodnie z pierwszym prawem Mendla. Produktem genu AB0 są enzymy glikozylotransferazy, które przyłączają cukry – 1,2-N-acetylo-D-galaktozaminę w przypadku antygenu A lub D-galaktozę jak w przypadku antygenu B – do łańcucha oligosacharydowego znajdującego się na glikoproteinach lub glikolipidach krwinki czerwonej. Warunkiem powstania odpowiednich antygenów A i B jest uprzednia synteza łańcucha prekursorowego L-fukozy, który warunkuje ekspresję antygenu H. W przypadku grupy 0 brak każdego z tych cukrów. Schemat biochemicznych różnic w układzie AB0 ilustruje rycina XII.1.



Ryc. XII.1. Biochemiczny schemat układu AB0.
Źródło: Wikimedia Commons, https://commons.wikimedia.org/wi-ki/File:ABO_blood_group_diagram.svg (schemat udostępniony na licencji CC0 1.0 Deed; schemat oryginalny, z polskim tłumaczeniem).

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

W obrębie antygenu A wyodrębnia się dwie podstawowe odmiany: mocny antygen (A1), występujący u 80% osób z grupą krwi A i AB, oraz słaby antygen (A2). Inne odmiany antygenu A, takie jak A3, Ax, Am, występują rzadko. Do serologicznego rozróżnienia podgrup A1 i A2 stosuje się produkowaną z nasion *Dolichos biflorus* lektynę anty-A1.
Antygeny A i B dziedziczy się współdominująco przy udziale dwóch alleli (A i B); trzeci allel (0) nie daje produktu i jest recesywny w stosunku do A i B. W rezultacie mamy cztery fenotypy: A, B, AB i 0, kodowane przez genotypy A/A, A/0, B/B, B/0, A/B, 0/0. Podstawowe cechy układu AB0 przestawiono w tabeli XII.8.

Tabela XII.8. Podstawowe cechy układu AB0

Grupa AB0	**Antygeny na krwinkach czerwonych**	**Przeciwciała obecne w osoczu**	**Genotyp**
0	brak	anty-AB	0/0
A	A	anty-B	A/A lub A/0
B	B	anty-A	B/B lub B/0
AB	AB	brak	AB

Drugim bardzo ważnym układem grupowym jest układ RhD. Antygeny tego układu występują tylko na krwince czerwonej; nie występują na innych komórkach czy płynach ustrojowych. Rozwijają się w życiu płodowym, pełną immunogenność osiągając około 5–6 tygodnia życia płodowego. Układ ten składa się z 54 antygenów, a najważniejsze to: D, C, c, E, e. Antygeny kodowane są przez geny na chromosomie 1 – ramię krótsze (gen *RHD* koduje antygen D, gen *RHCE* koduje antygeny C, c, E, e). Leżące blisko siebie geny *RHD* i *RHCE* są ze sobą sprzężone i dziedziczą się łącznie. Układ ten po raz pierwszy został opisany w 1939 r. przez Levine'a i Stetsona, a rok później Landsteiner i Wiener, immunizując świnki morskie i króliki krwią małp *Macacus rhesus*, otrzymali przeciwciała, które reagowały z krwią małp i aglutynowały krwinki czerwone badanych osób. Wykryty u ludzi za pomocą surowicy zwierzęcej czynnik nazwano Rh od nazwy *Rhesus*. Po wielu latach okazało się, że przeciwciała wykryte w surowicach ludzkich i zwierzęcych zachowywały się podobnie, choć nie wykrywały tego samego antygenu. Przeciwciała uodpornionych zwierząt, które reagowały z antygenem występującym zarówno u małp, jak i u ludzi od pierwszych liter nazwisk badaczy (Landsteinera i Wienera) antygen nazwano LW. Natomiast nazwa Rh związana jest z antygenem D, obecnym tylko u ludzi, i nazwą tą objęto cały układ grupowy. Antygen D z układu Rh ma duże znaczenie kliniczne ze względu na wysoką immunogenność. Odpowiedzialny jest za konflikt matczyno-płodowy i chorobę hemolityczną noworodków, dlatego oznaczany jest rutynowo z antygenami układu AB0. Osoby posiadające antygen D klasyfikowane są do grupy osób RhD-dodatnich i stanowią 82% osób w Polsce. Osoby nie posiadające antygenu D klasyfikowane są do grupy osób RhD-ujemnych. Ocena obecności lub braku antygenu D na krwinkach czerwonych oparta jest wyłącznie na badaniach metodami serologicznymi i nie zawsze daje jednoznaczne wyniki. Trudność w ustaleniu statusu fenotypu RhD-dodatni lub RhD-ujemny związana jest z obecnością odmian/wariantów antygenu D, określanych jako antygeny D częściowe, antygeny D słabe oraz antygeny DEL. Mogą one stymulować produkcję alloprzeciwciał anty-D u RhD-ujemnych pacjentów po przetoczeniu krwi lub w czasie ciąży.
Zakres badań pracowni immunologii transfuzjologicznej obejmuje oznaczenie antygenów z układu AB0, antygenu D z układu Rh, badanie przeglądowe przeciwciał do antygenów krwinek czerwonych oraz wykonanie próby krzyżowej.
W celu określenia grupy krwi z układu AB0 należy oznaczyć antygeny na krwinkach czerwonych oraz alloprzeciwciała w surowicy z zastosowaniem technik: manualnej – szkiełkowej lub probówkowej,

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

oraz kolumnowej – manualnej lub automatycznej. Obecność antygenów A i B na krwinkach stwierdza się na podstawie obecności lub braku aglutynacji krwinek badanych z odczynnikami monoklonalnymi anty-A i anty-B oraz określenie obecności regularnych przeciwciał anty-A i anty-B za pomocą krwinek wzorcowych 0, A_1, B. Zarówno u dawców, jak i biorców oznaczanie antygenów wykonywane jest 2-krotnie za pomocą dwóch różnych zestawów odczynników diagnostycznych z monoklonalnymi przeciwciałami anty-A i anty-B dwóch różnych klonów lub jednego klonu, ale różniących się numerem seryjnym. Natomiast do określenia obecności regularnych przeciwciał anty-A, anty-B stosuje się krwinki wzorcowe grupy 0, A_1, B. W przypadku trudności w oznaczeniu antygenów układu AB0 i regularnych przeciwciał anty-A i anty-B oraz w przypadku innych nieoczekiwanych reakcji, np. obecności allohemolizyn, rulonizacji krwinek lub auto- i alloaglutynacji, dwóch populacji krwinek w badaniu antygenów, obecności nieoczekiwanych alloprzeciwciał anty-A1 i innych, należy wykonać badania w pracowni konsultacyjnej właściwego centrum. Oznaczanie antygenu D odbywa się z użyciem odczynników monoklonalnych anty-D pochodzących z dwóch różnych klonów: z klasy IgM i IgG+IgM. Odczynniki monoklonalne powinny być tak dobrane, aby przynajmniej jeden z nich wykrywał antygen D kategorii VI.

Badanie przeglądowe przeciwciał do antygenów krwinek czerwonych ma na celu określenie obecności przeciwciał o znaczeniu klinicznym. Badanie wykonuje się w teście PTA (pośrednim teście antyglobulinowym) z użyciem zestawu krwinek wzorcowych metodą manualną lub automatyczną techniką mikrokolumnową. Jeśli wynik badania przeglądowego jest dodatni, konieczne są dalsze badania prowadzące do ustalenia, czy dodatnie reakcje wskazują na obecność auto- czy alloprzeciwciała. Jeżeli u pacjenta stwierdzono obecność alloprzeciwciała o znaczeniu klinicznym, konieczne jest określenie fenotypu krwinek czerwonych w układzie Rh, antygenu K oraz antygenu lub antygenów, do których skierowane są przeciwciała.

Reakcje niepożądane przy leczeniu krwią i jej składnikami

Krew i składniki krwi są najczęściej stosowanymi środkami leczniczymi. Przetoczenie krwi ratuje życie i wyrównuje niedobory hematologiczne w przypadkach wielu chorób. Jednak z transfuzją wiąże się potencjalne ryzyko w postaci powikłań poprzetoczeniowych mimo zastosowania wielu metod zapobiegających zagrożeniom. Powikłanie poprzetoczeniowe określa się zazwyczaj jako niepożądane zdarzenie występujące u biorcy podczas lub po zakończeniu transfuzji krwi lub jej składników.

Powikłania poprzetoczeniowe mogą się zdarzyć nawet u 10% biorców krwi i jej składników. Określa się również, że 0,5–3%, a nawet do 6% wszystkich transfuzji krwi i jej składników daje objawy reakcji poprzetoczeniowych z mniejszymi lub większymi konsekwencjami. Reakcje niepożądane związane z przetoczeniem składników krwi można podzielić, ze względu na wywołujący je czynnik, na zakaźne – infekcyjne, i niezakaźne – nieinfekcyjne, a także o podłożu immunologicznym i nieimmunologicznym. Transfuzje składników krwi mogą być wiązane z różnymi niekorzystnymi reakcjami poprzetoczeniowymi o charakterze wczesnym lub opóźnionym, co przedstawiono w tabelach XII.9 i XII.10.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Tabela XII.9. Klasyfikacja nieinfekcyjnych przyczyn i reakcji po przetoczeniu krwi i jej składników

Czas zdarzenia	Mechanizm	Reakcje nie związane z zakażeniem
Wczesne	immunologiczny czynnik pośredniczący	ostre hemolityczne powikłanie poprzetoczeniowe TRALI (*transfusion related acute lung injury*) niehemolityczne reakcje gorączkowe reakcje alergiczne reakcje anafilaktyczne
	nieimmunologiczny czynnik pośredniczący	hemoliza nieimmunologiczna (np. hemoglobinuria) przeciążenie krążenia metaboliczne (np. hiperkaliemia) zator powietrzny
Opóźnione	immunologiczny czynnik pośredniczący	opóźnione hemolityczne powikłanie poprzetoczeniowe GvHD (choroba przeszczep przeciw gospodarzowi) poprzetoczeniowa małopłytkowość
	nieimmunologiczny czynnik pośredniczący	przeciążenie żelazem

Tabela XII.10. Klasyfikacja infekcyjnych przyczyn i reakcji po przetoczeniu krwi i jej składników

Czas zdarzenia	Mechanizm	Reakcje związane z zakażeniem
Wczesne	nieimmunologiczny czynnik pośredniczący	zakażenia bakteryjne
Opóźnione	nieimmunologiczny czynnik pośredniczący	zakażenia przenoszone przez krew i jej składniki (wirusy, TRALI – *transfusion related acute lung injury*, bakterie, pasożyty, priony)

Wczesne reakcje poprzetoczeniowe definiowane są jako niepożądane zdarzenia występujące u biorców w czasie transfuzji krwi i jej składników lub po jej zakończeniuw ciągu 24 godzin. Natomiast opóźnione reakcje poprzetoczeniowe określane są jako niepożądane zdarzenia występujące u biorców powyżej 24 godzin, a nawet do trzech miesięcy po zakończeniu transfuzji.

Poważne zagrażające życiu reakcje poprzetoczeniowe i ich objawy obserwuje się dość wcześnie, już w trakcie transfuzji, dlatego wszyscy pacjenci powinni być monitorowani podczas przetaczania składników krwi, a jakakolwiek nieprawidłowa reakcja pacjenta na przetaczany składnik krwi powinna być przeanalizowana i zgłoszona do RCKiK. Decyzja o zgłoszeniu powikłania poprzetoczeniowego jest kwestią oceny klinicznej pacjenta, polityki szpitala oraz stosowania przepisów. Jeżeli powikłanie będzie zgłoszone do RCKiK, muszą być przysłane: protokół zgłoszenia, próbki krwi pacjenta pobrane przed transfuzją i po transfuzji, a także pojemnik zawierający resztki przetoczonego składnika krwi. Obowiązuje również wykonanie posiewu z krwi pacjenta.

Na wystąpienie powikłań poprzetoczeniowych mają wpływ m.in:

- nieprawidłowo oklejona lub oznakowana próbka krwi pacjenta, przeznaczona do badań,
- immumohematologicznych,
- niewłaściwy składnik krwi dla pacjenta,
- błąd laboratoryjny,
- składnik krwi zastosowany niewłaściwemu pacjentowi,
- nieprawidłowe wyposażenie użyte do transfuzji,
- przeterminowany składnik krwi.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Wymienione przyczyny występowania powikłania poprzetoczeniowego mogą wynikać z trzech zidentyfikowanych błędów: technicznego, organizacyjnego oraz ludzkiego.
Dla ograniczenia niepożądanych reakcji i zapewnienia bezpieczeństwa chorego NIE WOLNO:

- przetaczać jednostki KKCz dłużej niż 4 godziny, a jednostki KKP lub FFP dłużej niż 30 minut,
- przetaczać przez jeden zestaw więcej niż jedną jednostkę krwi,
- po zakończeniu przetaczania używać zestawu do podawania płynów infuzyjnych,
- po odłączeniu zestawu do przetoczenia lub pojemnika ze składnikiem krwi ponownie podłączyć go pacjentowi.

Profilaktyka konfliktu serologicznego

Do konfliktu serologicznego dochodzi w przypadku niezgodności w grupie krwi, szczególnie w układzie Rh, pomiędzy matką i dzieckiem. Istotą konfliktu serologicznego jest wytworzenie w organizmie matki przeciwciał przeciwko krwinkom dziecka, gdy ciężarna ma grupę krwi Rh (-), a płód – odziedziczony po ojcu czynnik Rh (+). Warunkiem powstania przeciwciał anty-D w organizmie matki jest kontakt z krwinkami Rh (+) dziecka. Do takiej sytuacji dochodzi zazwyczaj w trakcie pierwszego porodu, gdy zachodzi prawdopodobieństwo przedostania się krwinek dziecka do organizmu matki. Podczas ciąży krwiobieg matki i płodu oddziela bariera łożyskowa, która powoduje, że podczas pierwszej ciąży zazwyczaj nie dochodzi do konfliktu serologicznego; bywa tak jedynie w przypadku krwawienia z łożyska. Wytworzone w czasie pierwszej ciąży przeciwciała anty-D matki opłaszczają krwinki dziecka, co prowadzi do ich rozpadu i rozwija się choroba hemolityczna noworodka. Zapobieganie konfliktowi serologicznemu polega na profilaktycznym podaniu matce immunoglobuliny anty-D, co przeciwdziała tworzeniu się przeciwciała.
Konflikt serologiczny może zachodzić wtedy, gdy niezgodność dotyczy głównych grup krwi, szczególnie w sytuacji, gdy ciężarna ma grupę 0, a dziecko grupę A lub B. Jest to jednak sytuacja zdecydowanie rzadsza niż w przypadku niezgodności w zakresie Rh.
Konflikt serologiczny jest stanem, któremu można zapobiegać. Jednym z elementów profilaktyki jest podanie kobiecie immunoglobuliny anty-D, która zapobiega tworzeniu się przeciwciał. Ma to miejsce zaraz po porodzie, a w niektórych przypadkach jeszcze w trakcie ciąży. Zasady dotyczące stosowania immunoglobuliny anty-RhD są następujące:

podanie immunoglobuliny anty-RhD kobiecie RhD-ujemnej domięśniowo, w czasie nie przekraczającym 72 godzin po urodzeniu dziecka RhD-dodatniego w ilości:

150 μg, jeśli poród był fizjologiczny

300 μg, jeśli poród był patologiczny (np. cesarskie cięcie).

Natomiast po poronieniu samoistnym lub przerwaniu ciąży, a także inwazyjnej diagnostyce prenatalnej należy zastosować następujące dawki:

50 μg do 20 tygodnia ciąży

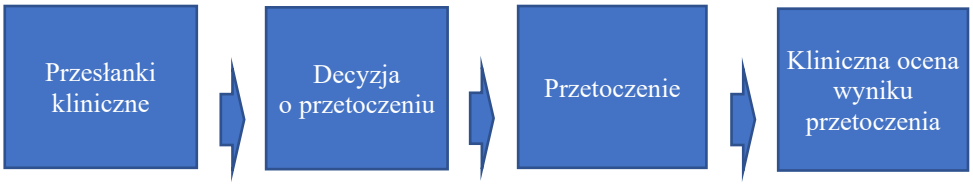
150 μg po 20 tygodniu ciąży.

Nie zaleca się podawania immunoglobuliny anty-RhD w przypadku poronienia samoistnego do 12 tygodnia ciąży.

Zasady optymalnego stosowania krwi i preparatów krwiopochodnych w lecznictwie

Podstawą optymalnego zastosowania krwi lub jej składników jest przetoczenie kwalifikującemu się do przetoczenia choremu odpowiedniej ilości odpowiednio dobranego składnika krwi w ściśle określonym czasie, jak również przy spełnieniu określonych warunków i zaleceń.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska



Celem procedury, którą opisuje powyższy diagram, jest osiągnięcie optymalnego stosowania krwi preparatów krwiopochodnych.

Krew i jej składniki są lekami naturalnymi pochodzenia ludzkiego. Nadzór nad procedurami przetoczeń krwi i jej składników wynika z ryzyka związanego z ich stosowania oraz ograniczonych zasobów. Optymalne stosowanie krwi i preparatów krwiopochodnych musi być:

- bezpieczne – czyli w związku z przetoczeniem nie wywołuje niepożądanych reakcji, głównie immunologicznych;
- skuteczne – zastosowanie preparatu krwi lub jej składników przynosi korzyść kliniczną dla chorego;
- produktywne – zastosowane procedury przetoczenia eliminują zbędne i nieuzasadnione przetoczenie.

Wspomniane przesłanki optymalnego przetoczenia wymagają sprawnej i prawidłowej organizacji leczenia krwią w szpitalu. Niezbędnymi ogniwami szpitalnego krwiolecznictwa są:

a) komitet transfuzjologiczny i lekarz odpowiedzialny za gospodarkę krwią,
b) bank krwi,
c) pracownia transfuzjologiczna,
d) lekarze podejmujący decyzje terapeutyczne,
e) średni personel medyczny realizujący przetoczenie: pielęgniarki, położne, ratownicy medyczni,
f) właściwe udokumentowanie przetoczenia i ewentualnych powikłań.

Komitet transfuzjologiczny ma za zadanie oceniać wskazania do przetoczenia, dokonywać oceny wyboru składnika krwi do przetoczenia, przeprowadzać okresową analizę zużycia krwi, pełnić nadzór nad dokumentacją całej procedury, a przede wszystkim dokonywać analizy występujących w wyniku przetoczenia reakcji niepożądanych.

Współpracujący z komitetem transfuzjologicznym lekarz nadzoruje gospodarkę krwią, zaopatrzenie szpitala w preparaty krwi, odpowiada też za przestrzeganie procedur i szkolenia personelu wszystkich szczebli w celu zapewnienia właściwych standardów.

Lekarz, który zleca przetoczenie krwi lub jej składnika, ponosi odpowiedzialność za całość zabiegu przetoczenia. Podjęcie decyzji o przetoczeniu uwarunkowane jest wskazaniami do przetoczenia krwi. Podjęcie decyzji o przetoczeniu wiąże się z koniecznością sporządzenia zamówienia na krew i jej składniki, uzyskania świadomej zgody chorego na przetoczenie, właściwego prowadzenia dokumentacji prowadzonego przetoczenia, właściwej identyfikacji biorcy przed transfuzją. Zabieg przetoczenia wymaga także makroskopowej oceny opakowania i składnika krwi przed przetoczeniem (wykluczenie uszkodzeń, skrzepów, nieprawidłowej konsystencji itp.).

Pielęgniarka lub ratownik medyczny najczęściej osobiście wykonuje przetoczenie krwi, jednak warunkiem koniecznym jest posiadanie uprawnienia do przetoczeń (uzyskiwanego po stosownym szkoleniu).

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Podstawowymi obowiązkami pielęgniarki i ratownika medycznego związanych z przeprowadzaną transfuzją krwi i preparatów krwiopochodnych są:

Pobranie krwi na badanie: – grupy krwi, – próby zgodności	Przekazanie próbek krwi wraz z zapotrzebowaniem na krew do banku krwi	Identyfikacja biorcy, potwierdzenie zgodności krwi z biorcą	Przetoczenie krwi pod nadzorem lekarza	Monitorowanie chorego w trakcie przetoczenia

Zabieg przetoczenia kończy sporządzenie prawidłowej dokumentacji.
W razie wystąpienia jakichkolwiek nieprawidłowości w trakcie transfuzji personel nadzorujący powinien natychmiast powiadomić lekarza i sporządzić odpowiednią notatkę w dokumentacji przetoczenia.
Dla składnika krwi, dla którego została wykonana próba zgodności, wystawiany jest dokument zgodności krwi. Dokument ten zawiera wiele krytycznie istotnych danych. Są to przede wszystkim dane identyfikujące biorcę wraz z jego grupą krwi, nazwa składnika krwi, numery donacji, termin ważności składnika oraz grupa krwi składnika do przetoczenia.

Zamówienie krwi

Po podjęciu decyzji o przetoczeniu lekarz pisemnie zamawia składnik krwi grupy zgodnej z grupą krwi chorego. Przetoczenia może dokonać tylko na podstawie potwierdzonego w wyniku badania grupy krwi i po uzyskaniu świadomej zgody. Tylko dwa niezależne badania oznaczenia grupy krwi stanowią potwierdzony wynik grupy krwi (wyjątkiem jest wpis w legitymacji służbowej żołnierzy zawodowych). W sytuacji bezpośredniego zagrożenia życia lekarz może podjąć decyzję o przetoczeniu koncentratu krwinek czerwonych zgodnych w układzie A, B, 0 i RhD przed wykonaniem próby zgodności na podstawie potwierdzonego wyniku grupy krwi.

Właściwe pobranie próbek krwi na próbę krzyżową i oznaczenie grupy

Aby oznaczyć grupę krwi oraz wykonać próbę krzyżową, należy pobierać krew żylną (około 10 ml). Próbki bezwzględnie zaraz po pobraniu w celu właściwej identyfikacji muszą być we właściwy sposób opisane. Dane powinny zawierać pełne imię i nazwisko chorego, numer PESEL, datę i godzinę pobrania; próbki powinny zawierać czytelny podpis osoby pobierającej krew.

Identyfikacja pacjenta przed transfuzją

Przed przetoczeniem krwi należy ponownie dokonać kontroli zgodności biorcy z każdą jednostką krwi; dodatkowo należy tego dokonać w obecności chorego. Kontrola ta polega na sprawdzeniu zgodności numerów donacji z danymi zawartymi w karcie zgodności przetoczenia, zgodności grupy donacji z biorcą, identyfikacji danych personalnych chorego z numerem PESEL lub datą urodzenia włącznie. Po przeprowadzeniu tych czynności lekarz, uprawniona do tego pielęgniarka lub ratownik medyczny, którzy dokonali oceny zgodności krwi, składają podpis na formularzu zawierającym wynik próby zgodności lub na karcie zgodności. W dokumentacji należy wpisać dokładną godzinę rozpoczęcia przetoczenia.

Zasady przetaczania składników krwi

Do przetoczenia można przystąpić dopiero wówczas, gdy uzyska się świadomą pisemną zgodę chorego. Możliwe jest przetoczenie krwi w celu ratowania życia u chorego nieprzytomnego – wtedy taką decyzję podejmuje lekarz, odpowiednio ją uzasadniając w dokumentacji. Nieuzyskanie zgody na przetoczenie wyklucza przetoczenie i wymaga uzyskania pisemnej odmowy. Po pobraniu krwi z banku powinniśmy rozpocząć przetaczanie najpóźniej w ciągu 30 minut, natomiast przetoczenie koncentratu krwinek

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

płytkowych czy rozmrożonego osocza należy rozpocząć niezwłocznie. Krew przetacza się za pomocą specjalnych aparatów do przetoczeń z odpowiednimi filtrami. Szybkość przetaczania i objętość przetaczanych składników zależą od wielu czynników klinicznych.
Należy pamiętać, że w żadnym wypadku do przetaczanej krwi nie wolno dodawać leków.

Obserwacja w trakcie transfuzji

Personel wykonujący przetoczenie powinien monitorować chorego w trakcie przetoczenia. Monitorowanie polega na wielokrotnej kontroli ciśnienia tętniczego, tętna, temperatury i ewentualnego wystąpienia jakichkolwiek objawów ogólnych. Chory powinien być poinstruowany, że wszelkie objawy powinny być natychmiast zgłaszane.

Wystąpienie reakcji niepożądanej

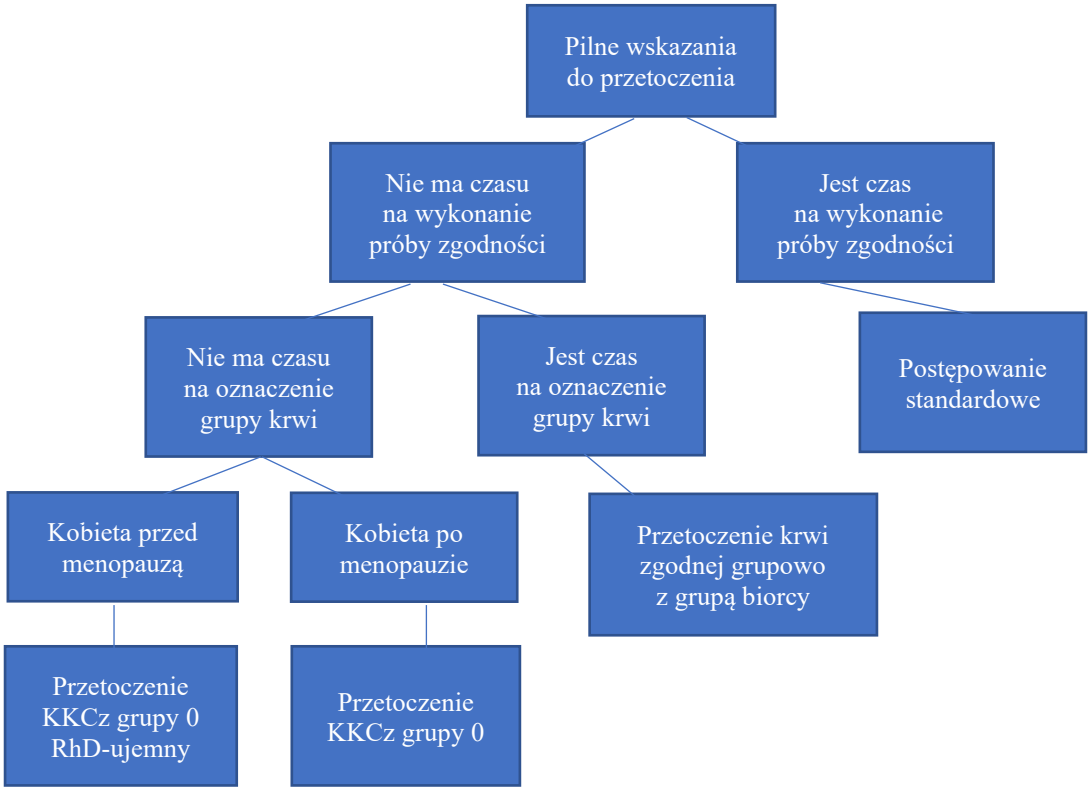
W każdym przypadku wystąpienia objawów ogólnych, spadku ciśnienia, wystąpienia gorączki należy natychmiast przerwać przetoczenie, poinformować lekarza nadzorującego transfuzję i wdrożyć odpowiednie postępowanie.

Po przetoczeniu

Pojemnik z resztkami krwi oraz cały zestaw do przetoczenia należy spakować i wysłać do banku krwi. Każdy taki pojemnik przechowywany jest jeszcze trzy doby w odpowiedniej temperaturze na wypadek, gdyby wystąpiły późne reakcje poprzetoczeniowe. Chorego należy obserwować jeszcze przez 24 godziny.

W razie konieczności podjęcia decyzji o pilnym przetoczeniu

Zasady postępowania w takim wypadku opisuje zamieszczony poniżej algorytm postępowania (ryc. XII.2).



Ryc. XII.2. Ścieżka decyzyjna w przypadku tzw. pilnego przetoczenia.
Źródło: opracowanie własne wg Wytyczne w zakresie leczenia krwią i jej składnikami oraz produktami krwiopochodnymi w podmiotach leczniczych. Praca zbiorowa na zlecenie Ministerstwa Zdrowia i Narodowego Centrum Krwi. Wyd. 3. Warszawa 2020.

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Spis tabel

Tabela I.1. Ważniejsze odkrycia stanowiące podwaliny współczesnej mikrobiologii klinicznej 11
Tabela I.2. Różnice pomiędzy bakteriami, wirusami i grzybami 12
Tabela I.3. Porównanie struktur ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych 15
Tabela I.4. Podział bakterii ze względu na zapotrzebowanie na tlen 18
Tabela I.5. Podział bakterii ze względu na wymagania temperaturowe 19
Tabela I.6. Rodzaje podłoży mikrobiologicznych 26
Tabela I.7. Wybrane wirusy DNA 31
Tabela I.8. Wybrane wirusy RNA 32
Tabela II.1. Podział antybiotyków oraz spektrum ich działania 39
Tabela IV.1. Różnicowanie plwociny i śliny 68
Tabela IV.2. Kryteria różnicujące typowe i atypowe zapalenia płuc z wyjątkiem legionellozy 74
Tabela IV.3. Początkowe leczenie pozaszpitalnego zapalenia płuc 74
Tabela IV.4. Antybiotykoterapia w zależności od czynnika etiologicznego 75
Tabela VI.1. Podłoża i metody badawcze wykorzystywane w posiewie kału przy podejrzeniu obecności najczęstszych bakteryjnych czynników etiologicznych zakażeń układu pokarmowego 85
Tabela VI.2. Czynniki zjadliwości patogennych szczepów *Escherichia coli* (*E. coli*) 89
Tabela VII.1. Zasadnicze przyczyny wzrostu zachorowań na zakażenia układu moczowego (ZUM) 99
Tabela VII.2. Główne czynniki ryzyka związanego z wystąpieniem zakażeń układu moczowego (ZUM) ... 99
Tabela VII.3. Najważniejsze bakteryjne czynniki etiologiczne zakażeń układu moczowego (ZUM) 100
Tabela VII.4. Rekomendacje dotyczące rozpoznawania znamiennego bakteriomoczu 104
Tabela VII.5. Najważniejsze czynniki etiologiczne chorób wenerycznych 108
Tabela VII.6. Praktyczne zastosowanie testów serologicznych w diagnostyce kiły 112
Tabela IX.1. Profilaktyka poekspozycyjna tężca 135
Tabela X.1. Charakterystyka postaci klinicznych wywołanych zakażeniem ludzkim parwowirusem B19 147
Tabela X.2. Najważniejsze różnice pomiędzy typami 1 i 2 wirusa HSV 148
Tabela X.3. Najczęstsze postacie kliniczne zakażenia ludzkim wirusem opryszczki 149
Tabela X.4. Podstawowe manifestacje kliniczne związane z zakażeniem wirusami Coxsackie 150
Tabela X.5. Przebieg kliniczny zakażenia wirusem ospy wietrznej i półpaśca 151
Tabela X.6. Przebieg kliniczny zakażenia wirusem odry 154
Tabela X.7. Przebieg kliniczny zakażenia wirusem różyczki 155
Tabela X.8. Przebieg kliniczny i możliwe powikłania zakażenia wirusem świnki 156
Tabela X.9. Przebieg i postacie kliniczne zakażenia wirusem Epsteina-Barr 157
Tabela X.10. Postacie kliniczne cytomegalii (*cytomegalovirus* – CMV) 158
Tabela X.11. Klasyfikacja stadiów zakażenia HIV 164
Tabela XI.1. Różnice pomiędzy odpornością nieswoistą i swoistą 167
Tabela XI.2. Przykładowe receptory Toll-podobne (TLR) i ich ligandy 168
Tabela XII.1. Przykładowe układy grupowe krwi 182
Tabela XII.2. Częstość występowania (%) grup krwi 183
Tabela XII.3. Częstość występowania (%) antygenu D w różnych populacjach 183
Tabela XII.4. Charakterystyka koncentratów krwinek czerwonych 184
Tabela XII.5. Charakterystyka koncentratów krwinek płytkowych 185
Tabela XII.6. Charakterystyka osocza świeżo mrożonego, krioprecypitatu i koncentratu granulocytów 186
Tabela XII.7. Podział przeciwciał grupowych 188
Tabela XII.8. Podstawowe cechy układu AB0 189
Tabela XII.9. Klasyfikacja nieinfekcyjnych przyczyn i reakcji po przetoczeniu krwi i jej składników 191
Tabela XII.10. Klasyfikacja infekcyjnych przyczyn i reakcji po przetoczeniu krwi i jej składników 191

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Spis rycin

Ryc. I.1a. Struktura peptydoglikanu bakterii 13
Ryc. I.1b. Przekroje osłon komórkowych bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych 14
Ryc. I.2. Podłoże półpłynne (probówka ze znakiem „+" oznacza ruch bakterii, ze znakiem „-" brak ruchu) 16
Ryc. I.3. Schemat tworzenia przetrwalników w komórce bakteryjnej 17
Ryc. I.4. Fazy wzrostu bakterii: A – faza spoczynkowa, B – faza wzrostu logarytmicznego, C – faza równowagi, D – faza wymierania 20
Ryc. I.5. Rodzaje wymazówek 21
Ryc. I.6. Etapy badania mikrobiologicznego 23
Ryc. I.7. Metody barwienia bakterii 24
Ryc. I.8. Cykl replikacyjny wirusów 33
Ryc. I.9. Możliwe efekty cytopatyczne 34
Ryc. II.1. Mechanizm działania antybiotyków i chemioterapeutyków na drobnoustroje 39
Ryc. II.2. Szczep *Escherichia coli* na podłożu Muellera-Hinton 45
Ryc. II.3. Schemat mechanizmów oporności na substancje przeciwbakteryjne 46
Ryc. II.4. Szczep *Staphylococcus aureus*: a) MSSA – wrażliwy na metycylinę, b) MRSA – oporny na metycylinę na podłożu Muellera-Hinton 47
Ryc. II.5. Szczep *Staphylococcus aureus*: a) wrażliwy, b) oporny na wankomycynę (VRSA) na podłożu Muellera-Hinton 47
Ryc. II.6. Szczep *Enterococcus faecalis*: a) wrażliwy, b) oporny na wankomycynę (VRE) na podłożu Muellera-Hinton 48
Ryc. II.7. Szczep *Enterococcus faecalis*: a) wrażliwy, b) oporny na wysokie stężenie gentamycyny i streptomycyny (HLAR) na podłożu Muellera-Hinton 48
Ryc. II.8. Szczep *Streptococcus pneumoniae*: a) wrażliwy, b) oporny na penicylinę na podłożu Muellera-Hinton z 5-proc. krwią końską + 20 mg/L β-NAD 49
Ryc. II.9. Od lewej: szczep *Klebsiella pneumoniae* KPC (+) dodatni, *Pseudomonas aeruginosa* MBL (+) dodatni i *Acinetobacter baumannii* OXA-48 (+) dodatni na podłożu Muellera-Hinton 49
Ryc. II.10. Antybiogram *Serratia marcescens* (a), *Pseudomonas aeruginosa* (b), *Acinetobacter baumannii* (c) na podłożu Muellera-Hinton 50
Ryc. II.11. Antybiogram *Escherichia coli* (a), *Enterococcus faecalis* (b), *Staphylococcus aureus* (c) na podłożu Muellera-Hinton oraz *Streptococcus agalactiae* (d) na podłożu Muellera-Hinton z 5-proc. krwią końską + 20 mg/L β-NAD 51
Ryc. II.12. E-test penicyliny (MIC = 0,25 µg/ml – szczep wrażliwy na penicylinę) i gentamycyny (MIC = 256 µg/ml – szczep oporny na gentamycynę) dla *Streptococcus pneumoniae* na podłożu Muellera-Hinton z 5-proc. krwią końską + 20 mg/L β-NAD oraz E-test gentamycyny (MIC = 1,0 µg/ml – szczep wrażliwy na gentamycynę) i klindamycyny (MIC = 0,125 µg/ml – szczep wrażliwy na klindamycynę) dla *Staphylococcus aureus* na podłożu Muellera-Hinton 52
Ryc. II.13. Metoda seryjnych rozcieńczeń antybiotyków na podłożu płynnym na płytce titracyjnej odczytywanej spektrometrycznie (a); MIC kolistyny oznaczony metodą seryjnych mikrorozcieńczeń: 1 – szczep kontrolny *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 – MIC = 0,5 mg/l, 2 – szczep kontrolny *Escherichia coli* ATCC 25922 – MIC = 2 mg/l, 3 – szczep badany – MIC = 4 mg/l (b) .. 53
Ryc. IV.1. Podział zapaleń płuc z uwzględnieniem czynnika etiologicznego 66
Ryc. IV.2. Obraz radiologiczny zapalenia płuc wywołanego przez *Streptococcus pneumoniae* 70
Ryc. V.1. Budowa ściany komórkowej prątka. 1 – zewnętrzna błona lipidowa; 2 – kwas mikolowy; 3 – polisacharydy (arabinogalaktan); 4 – peptydoglikan; 5 – błona plazmatyczna; 6 – lipoarabinomannan (LAM); 7 – fosfatydyloinozytol; 8 – szkielet ściany komórkowej 76
Ryc. V.2. Znaczenie lipidów ściany komórkowej prątków 77
Ryc. V.3. Diagnostyka mikrobiologiczna *Mycobacterium tuberculosis* 80
Ryc. V.4. Prątki w barwieniu na kwasooporność 80
Ryc. V.5. Wzrost *Mycobacterium tuberculosis* na podłożu Loewensteina-Jensena 80

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Ryc. V.6. Zasady leczenia zakażenia prątkiem gruźlicy 81
Ryc. X.1. Ewolucja zmian w półpaścu 153
Ryc. XII.1. Biochemiczny schemat układu AB0 188
Ryc. XII.2. Ścieżka decyzyjna w przypadku tzw. pilnego przetoczenia 195

Egzemplarz obowiązkowy - Biblioteka Jagiellońska

Bibliografia (tylko pozycje książkowe)

1. Choroby zakaźne i pasożytnicze. Red.: A. Boroń-Kaczmarska, A. Wiercińska-Drapało. Wyd. Lekarskie PZWL. Warszawa 2017.
2. Immunologia. Red.: K. Bryniarski. Edra Urban & Partner. Wrocław 2017.
3. Choroby zakaźne i pasożytnicze. Red.: R. Flisiak. T. 1–4. Wyd. Czelej. Lublin 2020.
4. Gołąb J., Jakóbisiak M., Lasek W., Stokłosa T. Immunologia. Wyd. Naukowe PWN. Warszawa 2017.
5. Interna Szczeklika 2022. Red.: A. Szczeklik, P. Gajewski. Medycyna Praktyczna. Kraków 2022.
6. Mykologia medyczna. Red.: A. Kurnatowska, P. Kurnatowski. Edra Urban & Partner. Wrocław 2018.
7. Mikrobiologia ogólna dla studentów studiów licencjackich kierunków medycznych. Red.: W. Król, B. Mazur. Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach. Katowice 2014.
8. Murray P.R., Rosenthal K.S. Mikrobiologia: pytania testowe. Elsevier Urban & Partner. Wrocław 2011.
9. Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A. Mikrobiologia. Edra Urban & Partner. Wrocław 2018.
10. Diagnostyka bakteriologiczna. Red.: E. Szewczyk. Wyd. Naukowe PWN. Warszawa 2013.
11. Dąbrowska-Szponar M., Garbacz K., Piechowicz L. Praktyczny atlas mikrobiologii dla studentów kierunków medycznych. Gdański Uniwersytet Medyczny. Gdańsk 2012.
12. Vollmar A., Zundorf I., Dingerman T. Immunologia i immunoterapia. MedPharm Polska. Wrocław 2015.