

# Lékařská mikrobiologie pro ZDRL

Týden 16:

Přehled gramnegativních bakterií

Ondřej Zahradníček 777 031 969

[zahradnicek@fnusa.cz](mailto:zahradnicek@fnusa.cz) ICQ 242-234-100

# Co nás dnes čeká

- Není možné se během této přednášky naučit vše o gramnegativních bakteriích
- Musíte se je tedy naučit z učebnic
- Tato přednáška může jen pomoci udělat si v nich trochu přehled a pochopit základní charakteristiku jednotlivých skupin

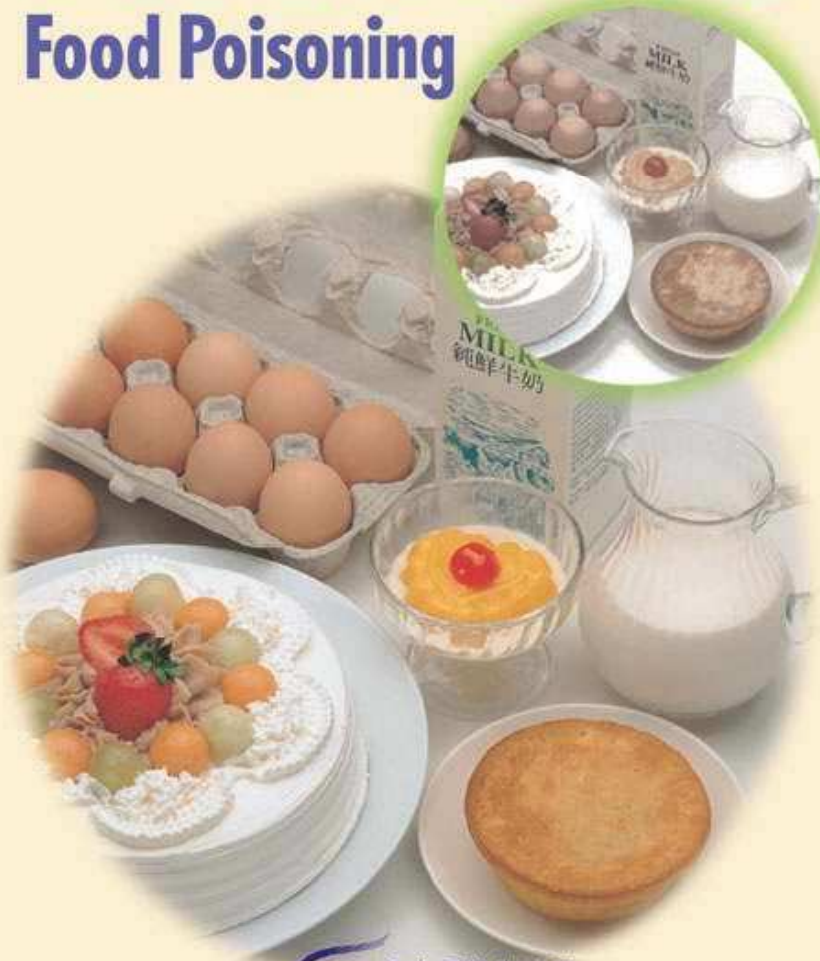
# Gramnegativní bakterie

- Ty které rostou na Endově půdě
  - *Enterobacteriaceae* (enterobakterie) – tyčinky
  - *Vibrionaceae* – zahnuté tyčinky
  - Gramnegativní nefermentující bakterie – tyčinky i koky
- Ty které nerostou na Endově půdě
  - *Kampylobakter* a *helikobakter* – zahnuté či spirálovité tyčinky
  - *Pasteurellaceae* (hemofily a pasteurelly) – tyčinky
  - Skupina „le-br-bo-fr“ – tyčinky
  - *Neisserie* a *moraxelly* – převážně koky
  - *Gardnerella* – tyčinka a ostatní gramnegativní bakterie

# 1. Enterobakterie

<http://www.fehd.gov.hk>

## Salmonella Food Poisoning

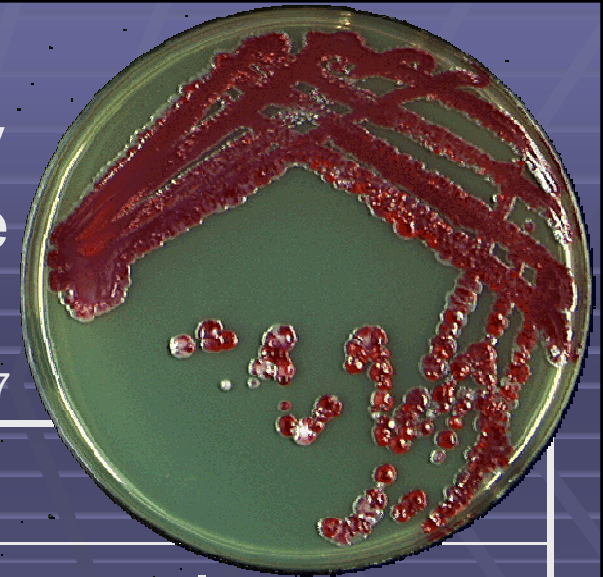


## Salmonella Food Poisoning



# Přehled enterobaktérií

Červeně pigmentovaný kmen serracie



[my.opera.com/MCOB/albums/show.dml?id=46597](http://my.opera.com/MCOB/albums/show.dml?id=46597)

	Patogenita	Příklady
	Systemová	<i>Y. pestis</i> , AP** salmonely
	Střevní	ZP* salmonely, shigely, yersinie
	Potenciální	Klebsiely, enterobaktery, protey, providencie, morganely, citrobaktery, serracie a jiné
	Téměř nulová	Mnoho druhů, například <i>Pragia fontium</i> a <i>Budvicia aquatica</i>

\*zoopatogenení \*\*antropopatogenní

# Na začátek báseň...



<http://www.uwec.edu>

Salmonella na MAL agaru

Nemůžem vždy slepici  
kontrolovat stolici.

Jednou projdem drůbežárnou  
a stolici najdem zdárnou.

Přiletí však holub bělý  
zanese tam salmonely.

Odnesou pak vejce  
pro cukráře – strejce

Cukrář – strýček nevinný  
nadělá z ní zmrzliny

Mládež sní ji s důvěrou  
a všichni se...

# Příběh první

- Slečna Tereza je mlsná. Dnes si po obědě dala krémový zákusek. Odpoledne ji začalo bolet břicho, a pochopila, že vzdálit se na delší dobu z domu nelze. Navštívila lékaře, ten jí odebral výtěr z řitního kanálu. Za několik dní volali Tereze z územního pracoviště krajské hygienické stanice. Tereza si byla jistá, že za všechno může krémový zákusek. Ukázalo se však, že její podezření bylo falešné...

# Kdo je tedy skutečný viník?

- Bakteriálním viníkem je *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, zkráceně *Salmonella* Enteritidis
- Viník – jídlo nemůže být krémový zákusek! Neodpovídá totiž inkubační doba, které je u salmonelóz zpravidla dva dny, někdy ale i týden
- Viníkem – jídlem se nakonec ukázal být žloutkový věneček, který Tereza zbaštila o dva dny dřív
- Lidským viníkem bude pravděpodobně někdo v cukrárně „U hysterické cukrářky“, kde někdo něco nejspíš zanedbal. Právě teď po tom pátrá oddělení hygieny výživy KHS. Může jít o primární či sekundární kontaminaci jídla.





# Salmonella

[www2.mf.uni-lj.si](http://www2.mf.uni-lj.si)

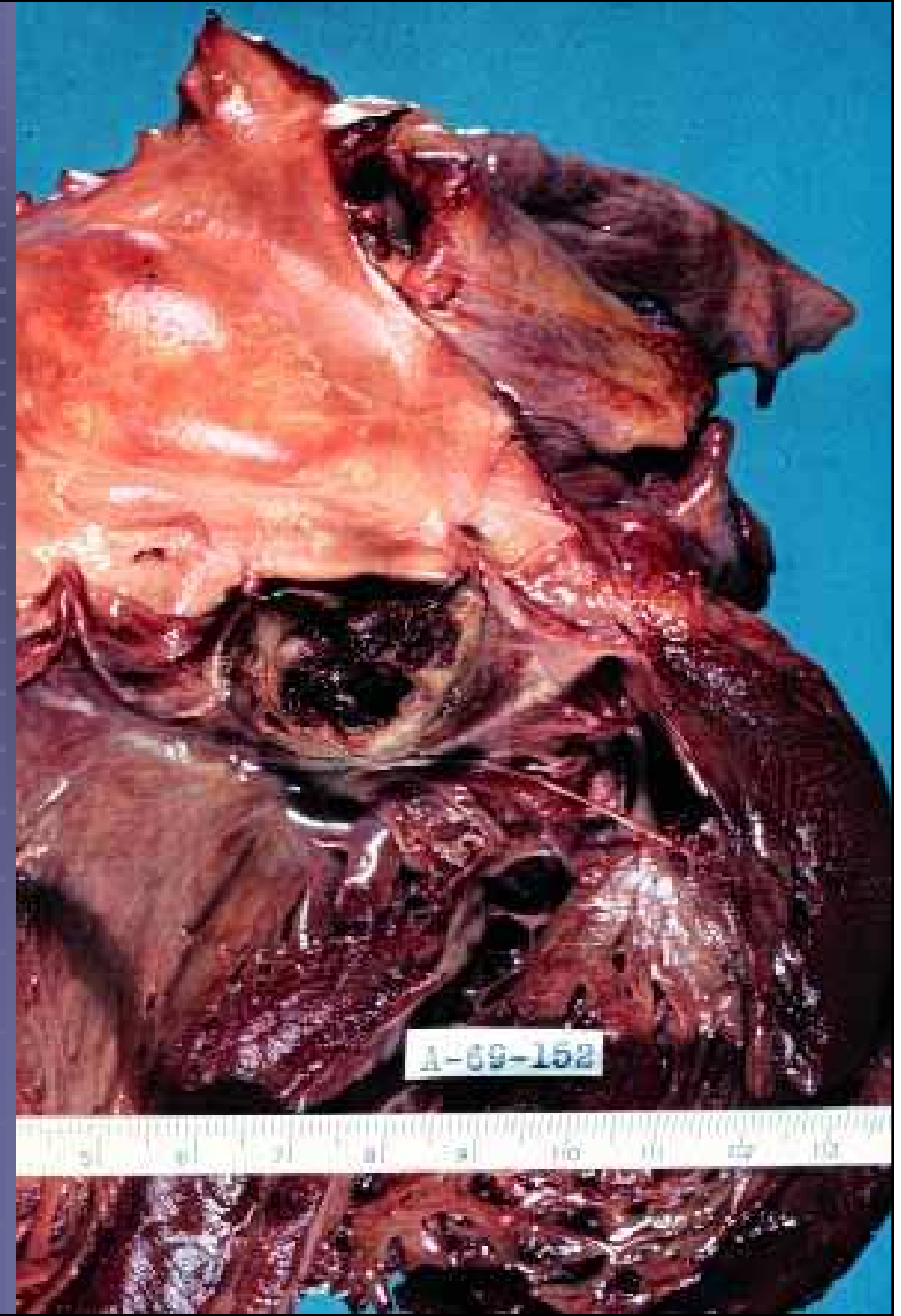
<http://www.uwec.edu>



<http://www.microbiology.org.uk>



# Salmonelová endokarditis



# Primární patogeny z řad enterobakterií

- *Enterobacteriaceae* je klinicky nejdůležitější čeleď gramnegativních tyčinek (ale důležitá je i pro ne-klinická odvětví mikrobiologie)
- Nejhorší patogeny způsobují celkové infekce: je to *Yersinia pestis* a tzv. antropopatogenní serovary salmonel (serovary Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B a Paratyphi C)
- Závažné jsou ale i obligátní patogeny působící zpravidla „jen“ střevní infekce. I u nich je však riziko sepse, hlavně u oslabených osob
- Týká se to rodů *Salmonella*, *Shigella* a *Yersinia*

# Mor (*Yersinia pestis*)



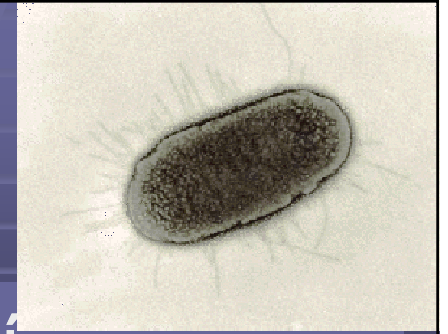
# Příběh druhý



- Paní Mokrá je v péči urologické kliniky pro přetrvávající potíže při močení
- Paní Mokrá má podobné potíže opakovaně. Po třech porodech má narušenou svalovinu pánevního dna, léčila se i pro inkontinenci moče. Lékaři ji upozornili, že riziko močové infekce je u ní zvýšené, protože má narušené mechanismy normální obrany proti infekci. Je to trochu bludný kruh, protože opakované infekce stav sliznic dále zhoršují

# Kdo za to tentokrát může?

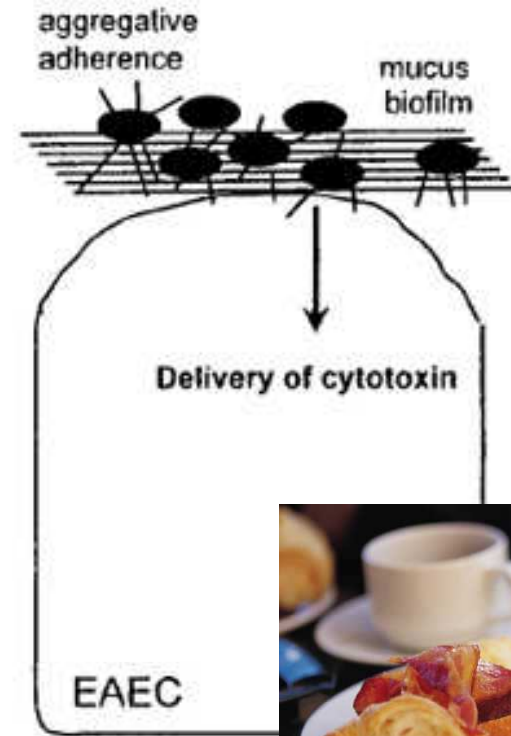
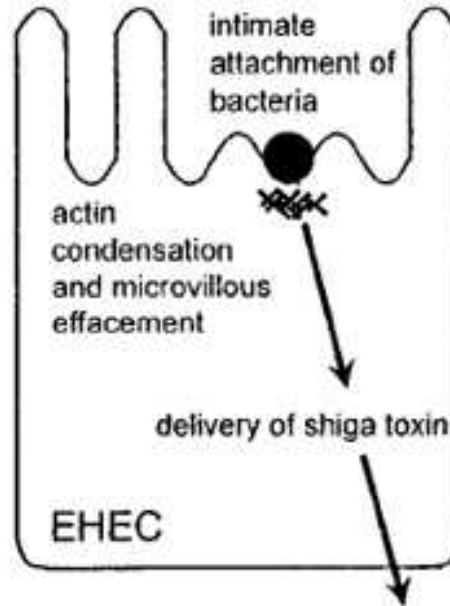
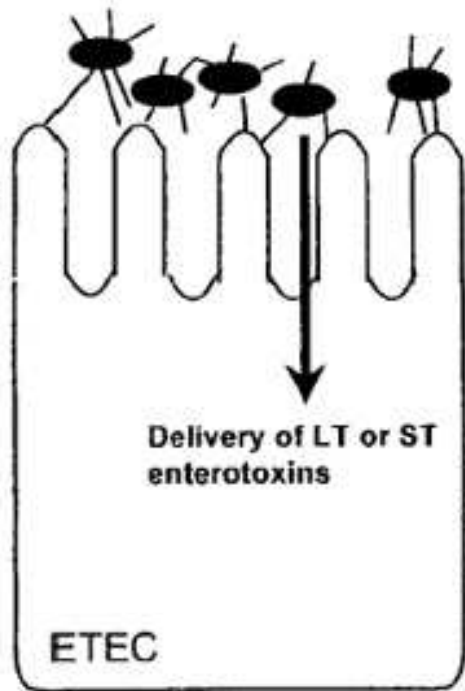
[www.steve.gb.com](http://www.steve.gb.com)



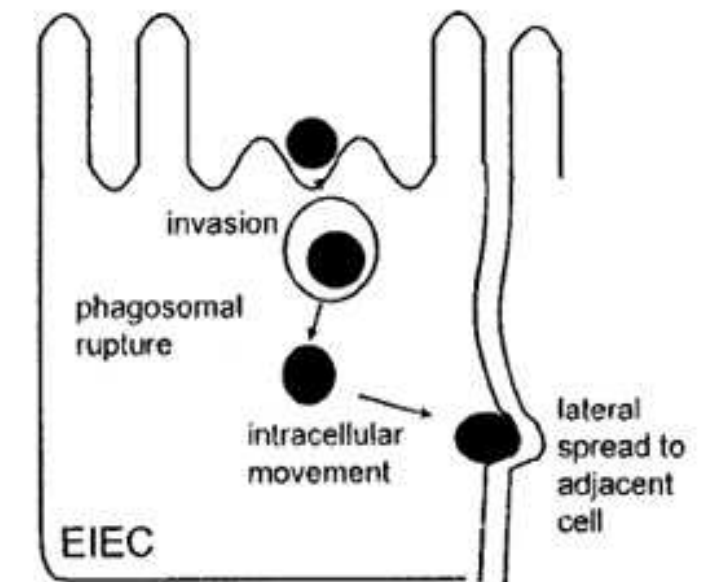
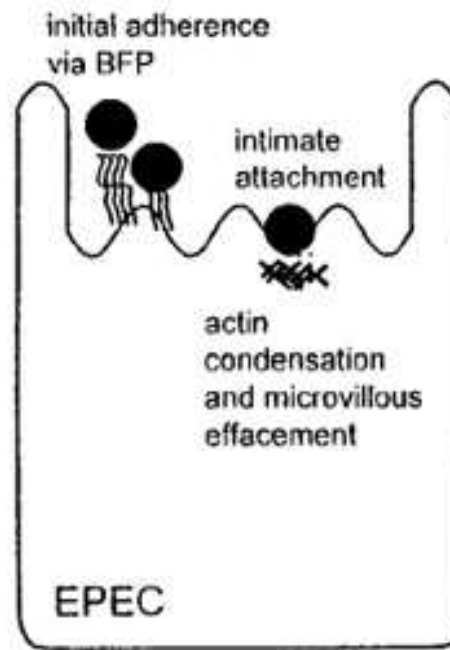
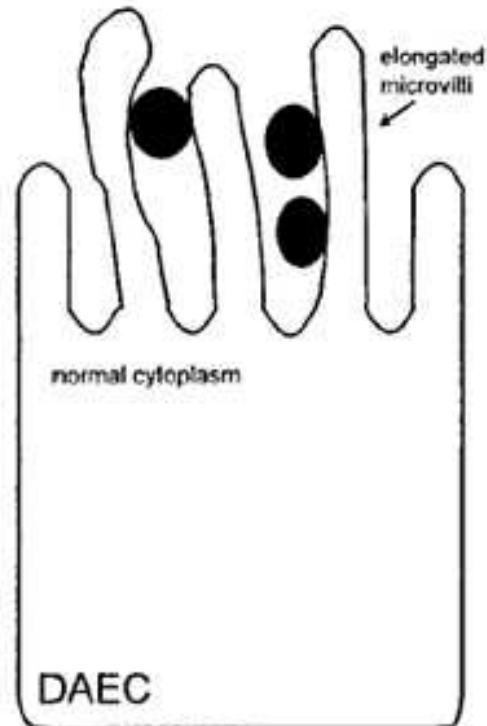
- Viníkem je *Escherichia coli*, respektive její uropatogenní kmen (uropatogenní *E. coli* – UPEC)
- Viníkem by mohla být i kterákoli jiná z podmíněně patogenních enterobakterií (ale i obligátně patogenní kmeny, např. salmonely, se uplatňují)
- *Escherichia coli* je jednou z nejdůležitějších součástí střevní mikroflóry, kde je zdraví prospěšná. Může však i škodit, a týká se to hlavně specifických kmenů: ve střevě EPEC (enteropatogenní EC), ETEC (enterotoxické EC), EIEC (enteroinvazivní EC), STEC (shiga-like toxigenní EC), mimo střevo hlavně zmíněné UPEC.

# Stěna močového měchýře s adherovanými escherichiiemi





<http://www.frankpasternak.com>







**- Miláčku, proč jsi nervózní? Dělá ti starosti OTEC?**

**- Ne, ETEC...**

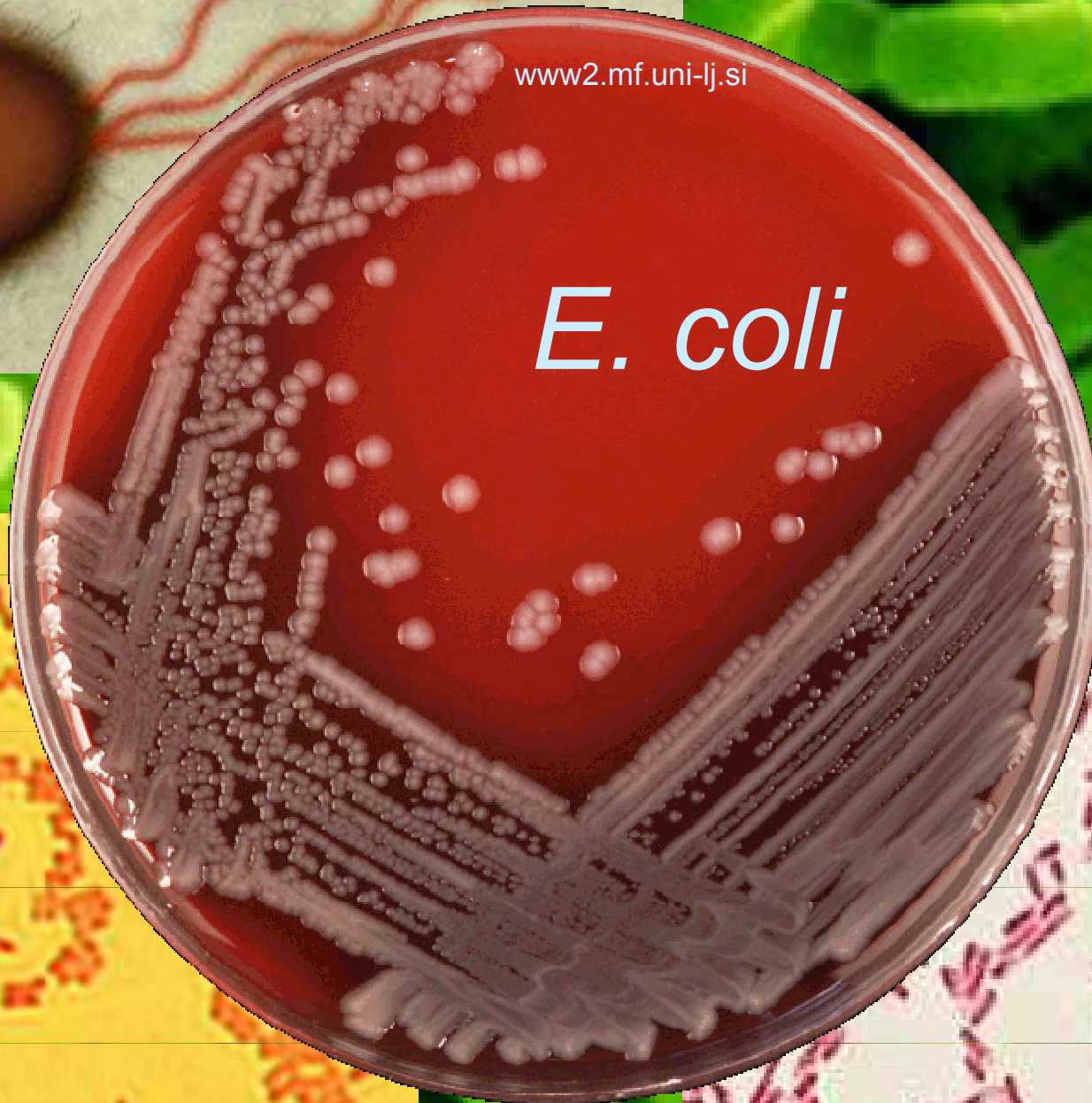
# I korneální vřed může způsobit *Escherichia coli*

[www2.mf.uni-lj.si](http://www2.mf.uni-lj.si)



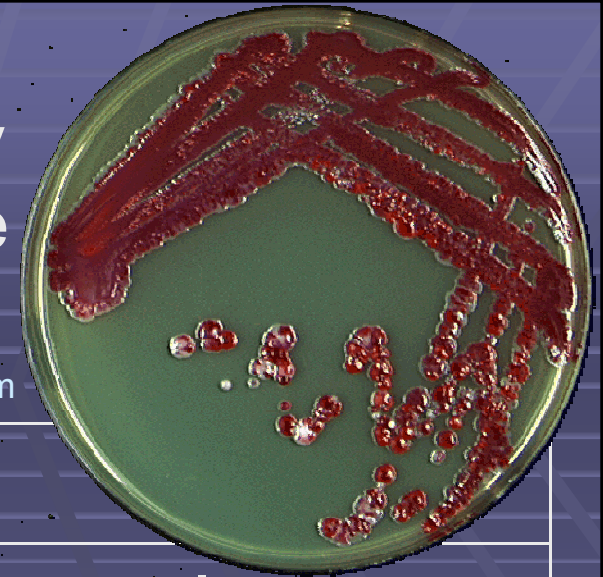
[www2.mf.uni-lj.si](http://www2.mf.uni-lj.si)

# *E. coli*



# Přehled enterobaktérií

Červeně pigmentovaný kmen serracie



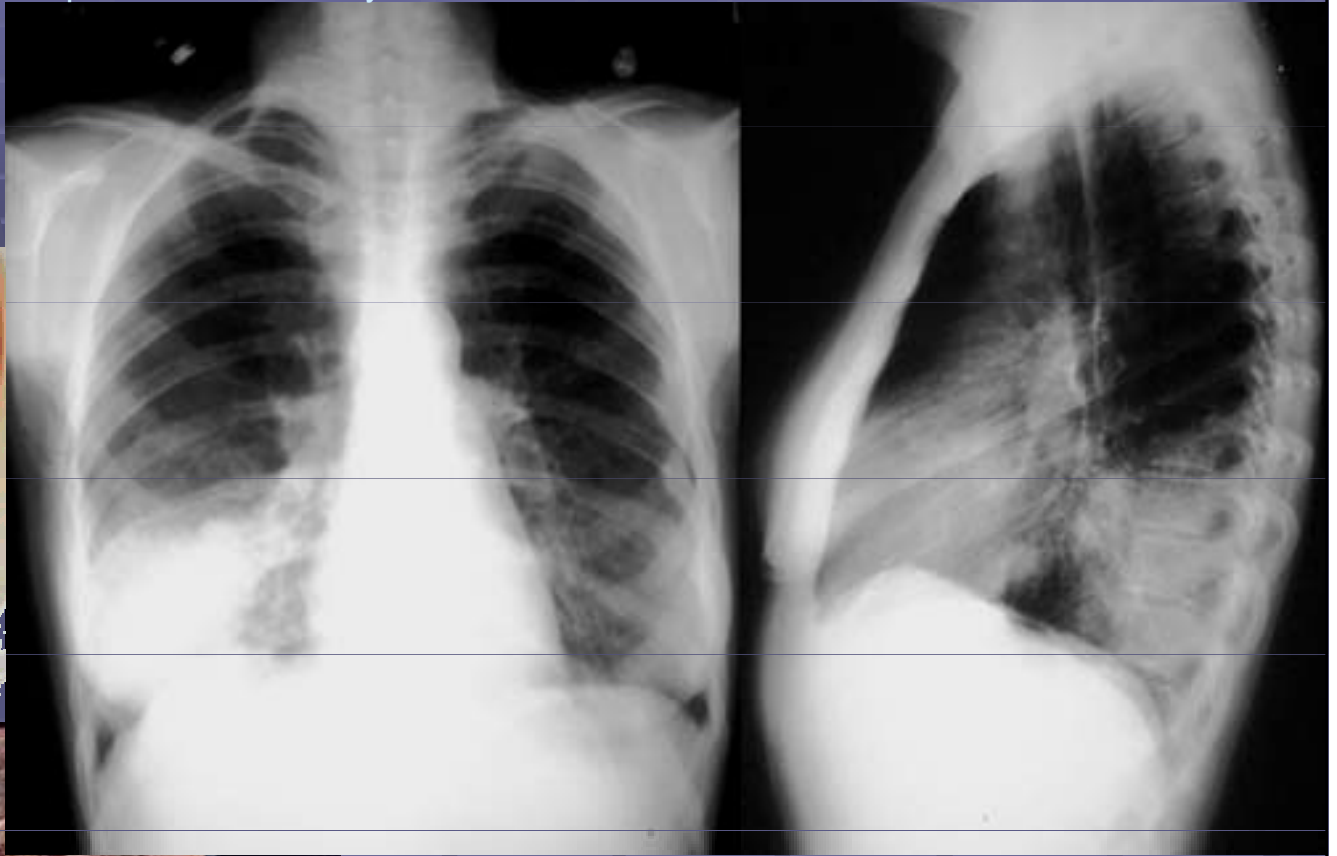
my.opera.com

Příběh	Patogenita	Příklady
–	Systémová	<i>Y. pestis</i> , AP** salmonely
1.	Střevní	ZP* salmonely, shigely, yersinie
2.	Potenciální	Klebsiely, enterobaktery, protey, providencie, morganely, citrobaktery, serracie a jiné
–	Téměř nulová	Mnoho druhů, například <i>Pragia fontium</i> a <i>Budvicia aquatica</i>

\*zoopatogenení \*\*antropopatogenní

# Co tropí klebsielly...

<http://microbewiki.kenyon.edu>



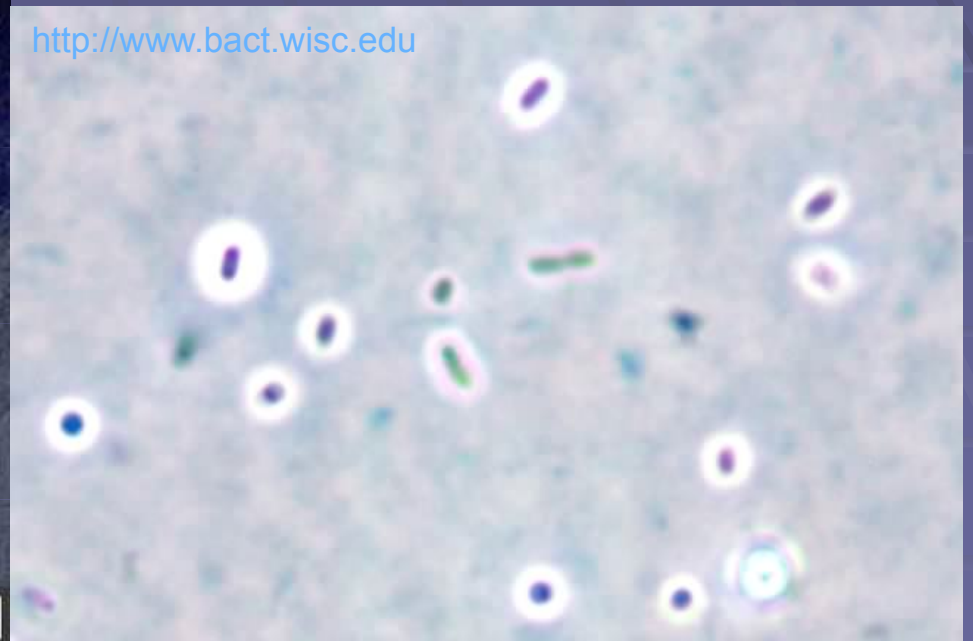
<http://zdsys.chgb.org.cn>



[www.brown.edu](http://www.brown.edu)

**BrownMed**  
Brown Medical School

<http://www.bact.wisc.edu>



# Nepatogenní enterobakterie

- Kromě obligátně patogenních enterobakterií, jako jsou salmonely, a potenciálně patogenních, jako jsou escherichie, existují také nepatogenní enterobakterie.
- Některé z nich byly objeveny na území Česka, například *Pragia fontium* či *Budvicia aquatica*.

# Enterobakterie – metody

## ■ Přímé metody

- Mikroskopie – v praxi má malý význam, protože je jich mnoho a v mikroskopu jsou všechny stejné.
- Kultivace – používá se mnoho různých půd
- Biochemická identifikace – velmi důležitá
- Antigenní analýza – salmonely, shigely, EPEC

## ■ Nepřímé metody (protilátky)

- Widalova reakce u tyfu, protilátky proti yersiniím

# Štěpení laktózy

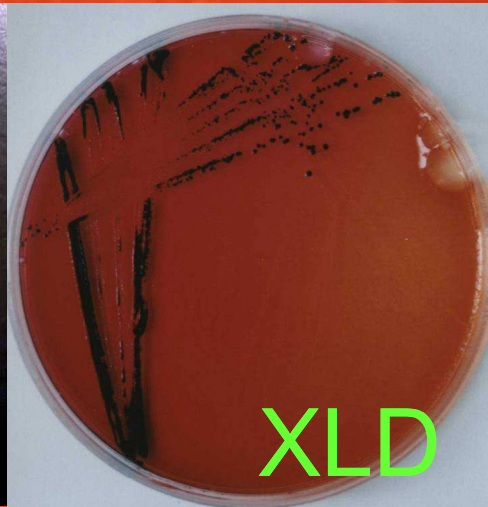
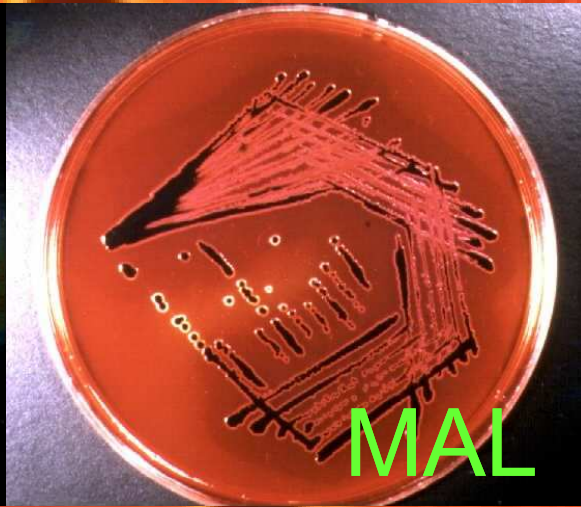
Endova půda rozliší bakterie fermentující a nefermentující laktózu. Obligátní patogeny zpravidla laktózu nefermentují, je to tedy i předběžný test, jestli „to vypadá, že by to mohl být patogen“.

Foto O. Z.





# Salmonella



A petri dish containing a red agar medium. The surface shows several dark, irregular streaks and clusters of colonies, characteristic of Salmonella growth on MAL agar. The colonies are dark and have a somewhat fuzzy, spreading appearance.

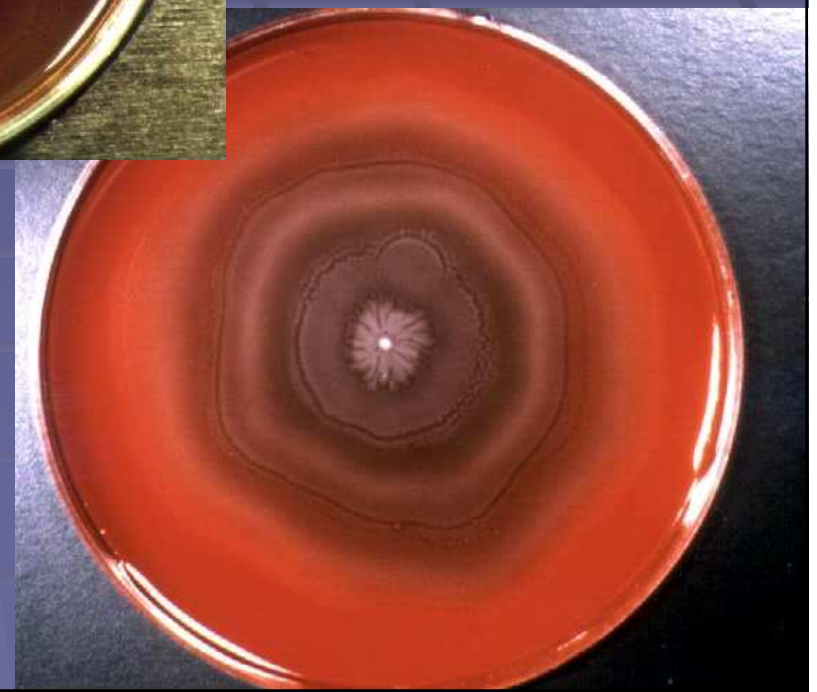
# Salmonela na MAL agaru

# *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris* (dole)



[www.medmicro.info](http://www.medmicro.info)

Pro protey je typické, že nerostou jen v.místě inokulace, ale šíří se po povrchu agaru do stran (plazivý růst, Raussův fenomén, také fenomén příbojové vlny)



# *Proteus* dle as. Petra Ondrovčíka

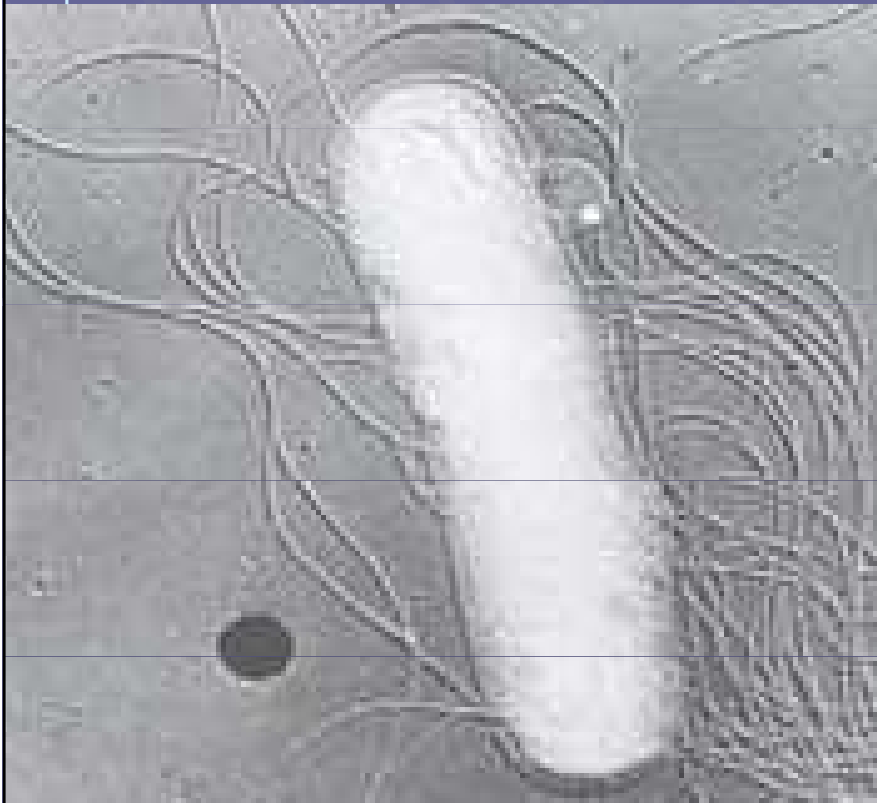
*Proteus mirabilis*



*Proteus vulgaris*



„Je sice pěkné, kolego, že dovedete dekarboxylovat ornitin; mnohem smutnější ovšem je, že se ve většině případů neumíte pořádně plazit!“



# *Proteus*

# Klebsiely a escherichie

[www.medmicro.info](http://www.medmicro.info)



Kolonie klebsiel na KA jsou hlenovitější a bělejší než kolonie *E. coli*...



... i když zrovna tohle *E. coli* je taky poměrně bílé a hlenovité 😊

# Escherichie



Pokud escherichie na KA hemolyzují (a to je dost často), uvede se to případně do výsledku, ale nehodnotí se to jako zvláštní diagnostický znak

# Odlišení od ostatních podezřelých (diferenciální diagnostika)

- Gramovo barvení odliší gramnegativní tyčinky od ostatních bakterií
- Endova půda poprvé: rostou na ní z klinicky významných jen enterobaktérie, příslušníci čeledi *Vibrionaceae* a gramnegativní nefermentující tyčinky
- Nefermentující odliší to, že nefermentují glukózu (např. Hajnova půda zůstává po kultivaci celá červená, nezmění vůbec barvu)  
*Vibrionaceae* odliší pozitivní oxidáza



# Shrnutí – jak rozlišíme bakterie, které rostou na Endově půdě

- Enterobakterie jsou oxidáza negativní (s výjimkou rodu *Plesiomonas*, který k nim byl nedávno přiřazen) a vždy fermentují glukózu
- *Vibria* a aeromonády také fermentují glukózu, ale jsou vždy oxidáza pozitivní
- Gramnegativní nefermentující bakterie (mohou to být tyčinky, ale i kokotyčinky či koky) nikdy nefermentují glukózu. Oxidázu mohou mít pozitivní i negativní

# Rozlišení enterobakterií navzájem

- Endova půda podruhé: orientační rozlišení obligátních patogenů (většinou L-) a potenciálních patogenů (zpravidla L+)
- Spousta dalších půd: XLD, MAL, DC, WB a další na salmonely, CIN na yersinie aj.
- Biochemické testy: Hajnova půda, test MIU, Švejcarova plotna, ENTEROtesty aj.
- Antigenní analýza zpravidla sklíčkovou aglutinací

# Příklad ENTEROtestu16

(530 063 = E. coli, 99,89 %,  $T_{in}=1,00$ )

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Zkum	H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C	B	A	
	První řádek panelu								Druhý řádek panelu								
+																	
-																	
?																	
?	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	1	<del>2</del>	4	1	2	<del>4</del>	<del>1</del>	<del>2</del>	<del>4</del>	<del>1</del>	<del>2</del>	<del>4</del>	<del>1</del>	2	4	1	2
	5		3			0		0			6		3				

# Příklad ENTEROtestu16

(265 003 = *Prot. mirabilis*, 100,0 %,  $T_{in}=0,59$ )

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
	Zkum	H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C	B	A	
	Zkum	První řádek panelu								Druhý řádek panelu								
+																		
-																		
?																		
?	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	
	<del>1</del>	2	<del>4</del>	<del>1</del>	2	4	1	<del>2</del>	4	<del>1</del>	<del>2</del>	<del>4</del>	<del>1</del>	<del>2</del>	<del>4</del>	1	2	
		2			6			5			0			0			3	

# Příklad ENTEROtestu16

(546 773 = *Kl. pneumoniae*, 98,83 %,  $T_{in}=1,00$ )

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
Zkum	H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C	B	A		
	První řádek panelu								Druhý řádek panelu									
+																		
-																		
?																		
?	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1	<del>2</del>	4	<del>1</del>	<del>2</del>	4	<del>1</del>	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	
	5		4			6			7				7		3			

# Použití antigenní analýzy

- Antigenní analýza se nepoužívá zdaleka vždycky
- Použití je v zásadě dvojí:
  - U obligátních patogenů (salmonely, shigely, yersinie) pro potvrzení diagnózy a pro epidemiologické účely
  - U střevních izolátů *E. coli* v případě, že je podezření na EPEC nebo STEC (ostatní skupiny se zpravidla takto neurčují)

# Aglutinace salmonel

- Při aglutinaci kterékoli pohyblivé enterobakterie hodnotíme dva typy antigenů: tělové, tzv. O antigeny, a bičíkové, tzv. H antigeny (výjimečně i kapsulární K antigeny).
- Tak i každá salmonela má svou specifickou antigenní strukturu. Například salmonela serovaru Enteritidis disponuje tělovými antigeny 9, 12 a bičíkovým H m.
- **Je-li tedy naše salmonela *Salmonella* Enteritidis, musí být pozitivní (aglutinace přítomna) jak při aglutinaci tělových, tak i bičíkových antigenů.**

# Testy antibiotické citlivosti

- Antibiotická citlivost se zásadně neurčuje u kmenů ze stolice. Až na výjimky je tu totiž podání antibiotik kontraindikováno, neboť prodlužuje dobu, po kterou trvá dysmikrobie a paradoxně prodlužuje dobu vylučování patogena ze střeva
- Určuje se tedy zpravidla u kmenů z moče, proto i antibiotika zahrnují léky používané k léčbě močových infekcí (např. furantoin)



# Některá používaná antibiotika (u močových infekcí)

Antibiotikum	Zkratka	Referenční zóna
Ampicilin (rozšír. penic.)	AMP	17 mm
Cefalotin (CS 1 gen)	KF	18 mm
Ko-trimoxazol (směs)	SXT	16 mm
Nitrofurantoin (nirofuran)	F	17 mm
Ciprofloxacin (chinol 3G)	CIP	21 mm
Kyselina oxolinová*(ch1G)	OA	19 mm
Doxycyklin (tetracyklin)	DO	16 mm

*\*alternativně norfloxacin (NOR)*

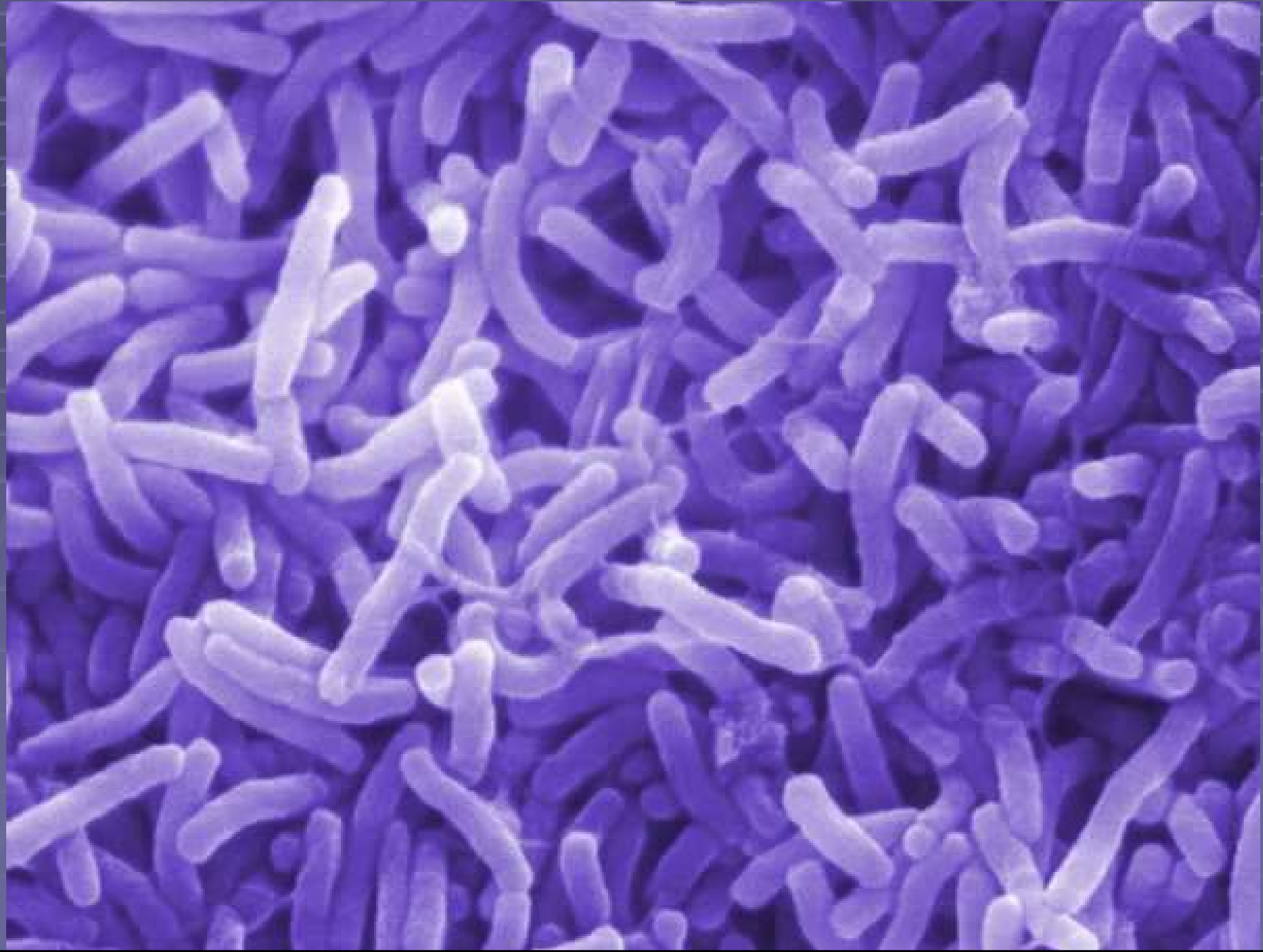
# Některá rezervní antibiotika (při rezistenci na základní řadu)

Antibiotikum	Zkratka	Referenč. zóna
Cefuroxim (CS 2 gen)	CXM	23 mm
Cefotaxim (CS 3 gen)	CTX	23 mm
Ceftazidim (CS 3 gen)	CAZ	18 mm
Ko-amoxicilin (aminopnc*)	AMC	18 mm
Aztreonam (monobaktam)	ATM	22 mm
Chloramfenikol	C	18 mm
Kolistin	CT	10 mm

amoxicilin + kyselina klavulanová coby inhibitor betalaktamázy

# 2. Vibrionaceae

<http://bepast.org>



# Příběh

- Leo byl cestovatel. Vypravil se do Jemenu. Pobýval tu s místními obyvateli, jedl, co jedli oni, pil, co pili oni. Náhle ho přepadl těžký průjem – v podstatě z něj vycházela jen voda. Pochopil, že to nebude jen tak obyčejný cestovatelský průjem.
- Jeden místní felčar mu radil bylinky, druhý antibiotika. Leo si však poradil – proléval se litry a litry pitné vody. A věděl, že kdyby nestačilo vodu pít, musel by ji dostávat v infuzích.
- Leo tušil, že má cholera, nemoc způsobenou bakterií *Vibrio cholerae*.

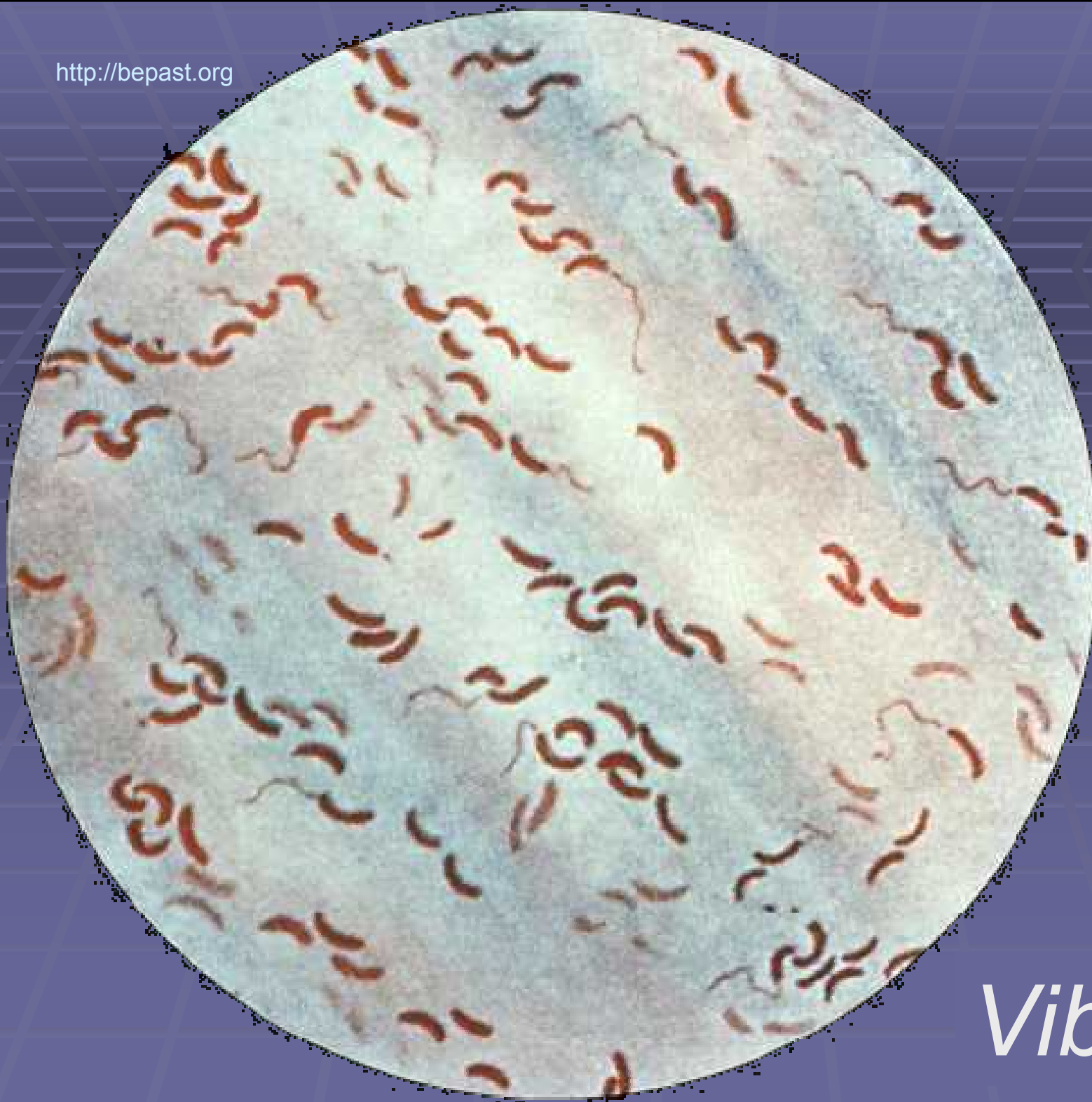
# Čeľad' *Vibrionaceae*

- Jsou to gramnegativní tyčinky podobné enterobakteriím. Liší se od nich tím, že jsou oxidáza pozitivní. Morfologicky jsou často zahnuté a výrazně pohyblivé
- *Vibrio cholerae* způsobuje cholera. Nejdůležitější jsou serotypy O139 a zejména O1. Ten se ještě dělí na biotypy; biotyp El Tor je nakažlivější, infekce biotypem Classic mají zase závažnější průběh
- Halofilní vibria a příslušníci rodu *Aeromonas* způsobují občasné infekce ran např. při kuchání ryb nebo při koupání v poloslaných lagunách

# Diagnostika čeledi *Vibrionaceae*

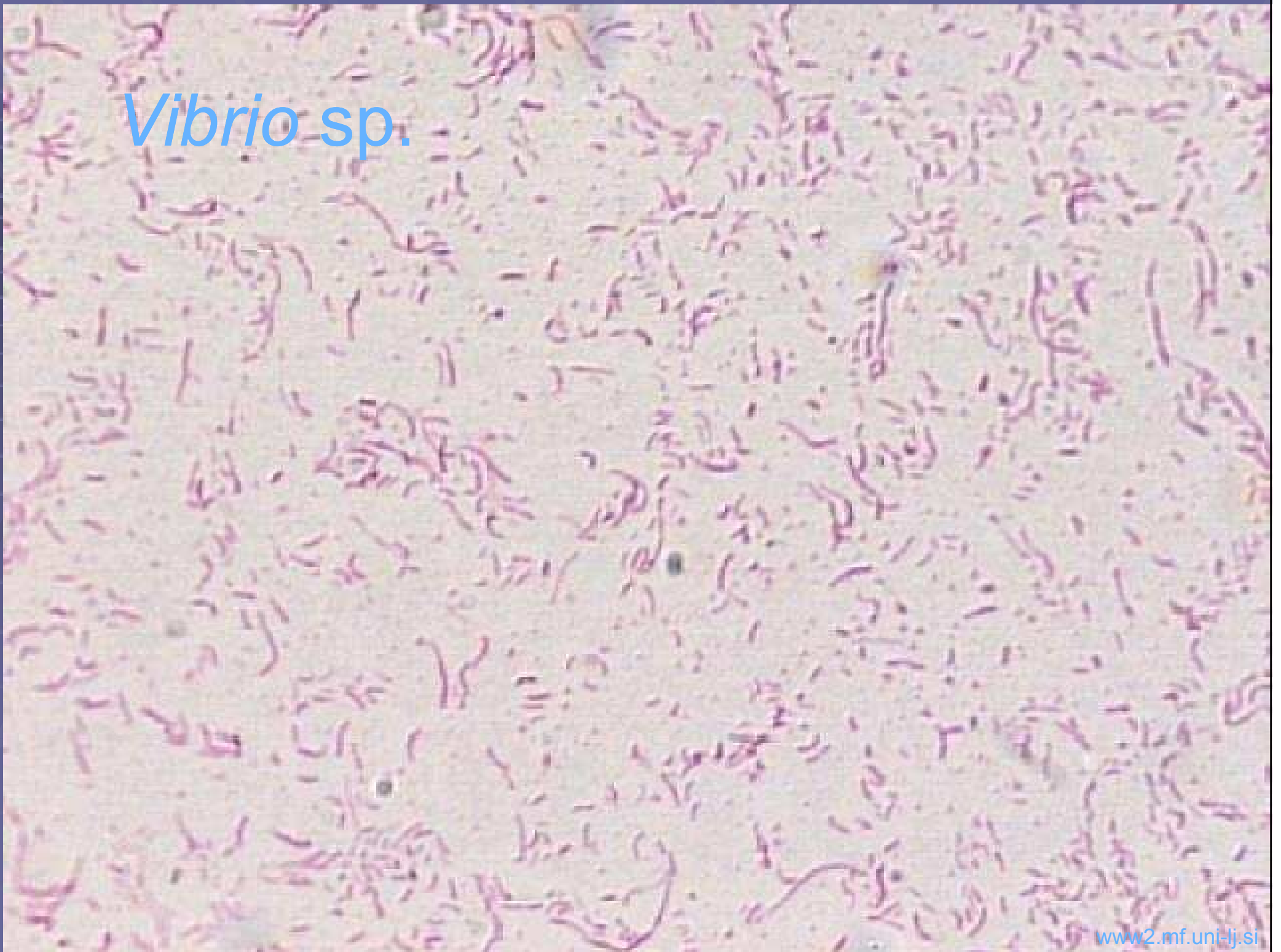
- Provádí se podobně jako u enterobakterií, ale jsou oxidáza pozitivní.
- Mikroskopicky jsou vibria pohyblivé, zahnuté tyčinky
- Používá se také speciálních půd, například alkalická peptonová voda a TCŽS (Thioglykolát, cystein, žlučové soli)
- Používá se obdobných biochemických testů, jako u enterobaktérií (včetně Enterotestu 16)
- Musí se ovšem vybrat správná matice

<http://bepast.org>



*Vibrio* sp.

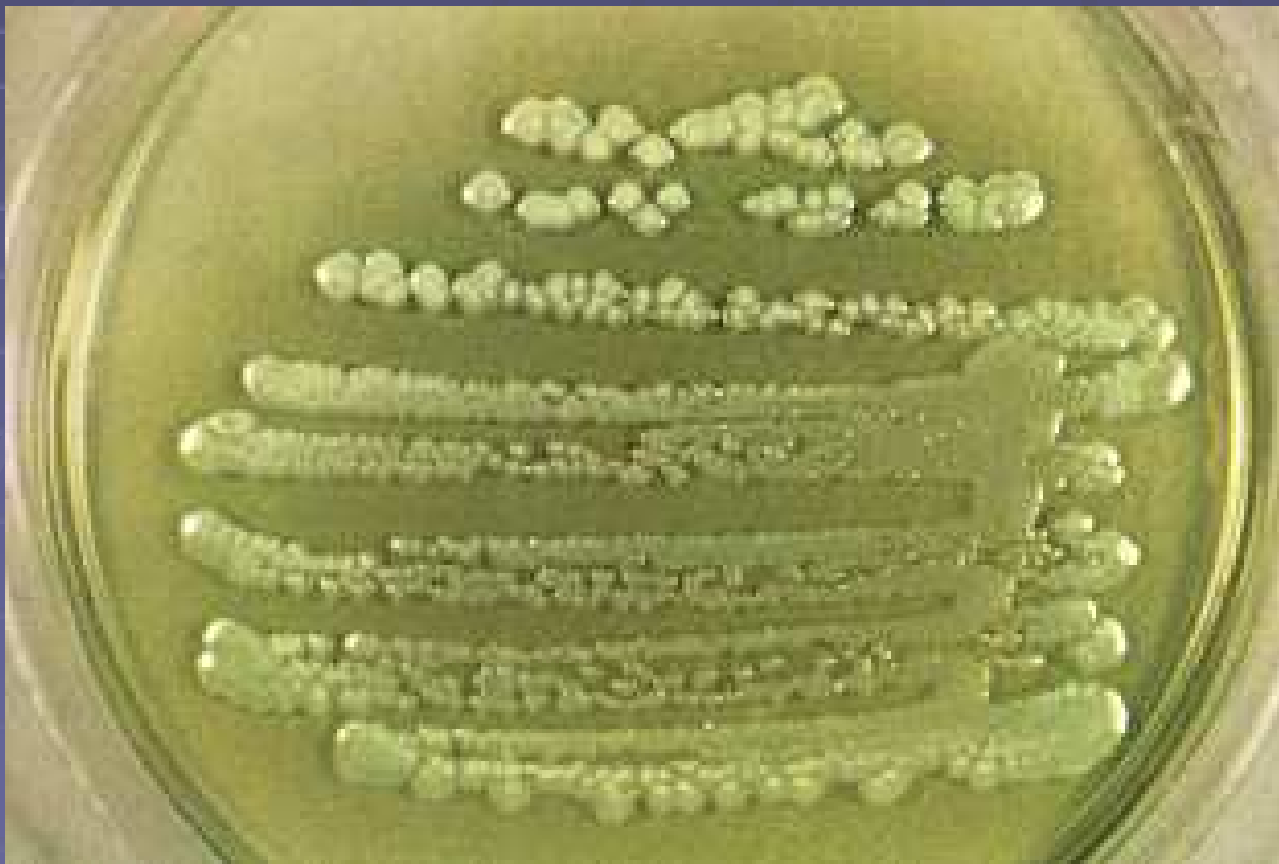
*Vibrio* sp.





# 3. Gramnegativní nefermentující bakterie

- Většina z nich jsou tyčinky, ale rod *Acinetobacter* jsou kokotyčinky až koky!



Bylo nevlídno, že by PSAE ven nevyhnal...

(PSAE – zkratka pro *Pseudomonas aeruginosa*)

# Příběh



- Pan Zápalka je pyroman. Nedávno na svou vášeň doplatil a nehezky se popálil. Nyní se mu popálenina zanítla. Leží na popáleninovém centru a je na tom velice špatně. Lékaři naštěstí pochopili, že běžná antibiotika jsou mu platná jako mrtvému zimník a provedli stěr. Díky tomu se podařilo najít cílenou terapii a pana Zápalku vyléčit – do doby, než zase něco zapálí a způsobí si další popáleniny.

# Kdo za to tentokrát může?

- Viníkem je *Pseudomonas aeruginosa*, nejběžnější bakterie ze skupiny gramnegativních nefermentujících baktérií
- Viníkem by stejně dobře mohla být i kterákoli jiná bakterie z této skupiny, např. *Acinetobacter*, *Burkholderia cepacia* nebo *Stenotrophomonas maltophilia*
- Obecně: Jsou to bakterie z vnějšího prostředí, často rostlinné patogeny, „bakterie-zbabělci“, které si netroufnou na zdravého člověka. Jejich terčem jsou pacienti s popáleninami, klienti ARK, JIP, transplantačních center a podobně.

U oslabených  
osob mohou  
způsobovat  
např. i zánět  
nehtového  
lůžka.



# Autokasuistika as. Zahradníčka

Pseudomonády napadají i jinak zdravé lidi při porušení anatomické kožní bariéry. Infekce však bývá jen lokální.

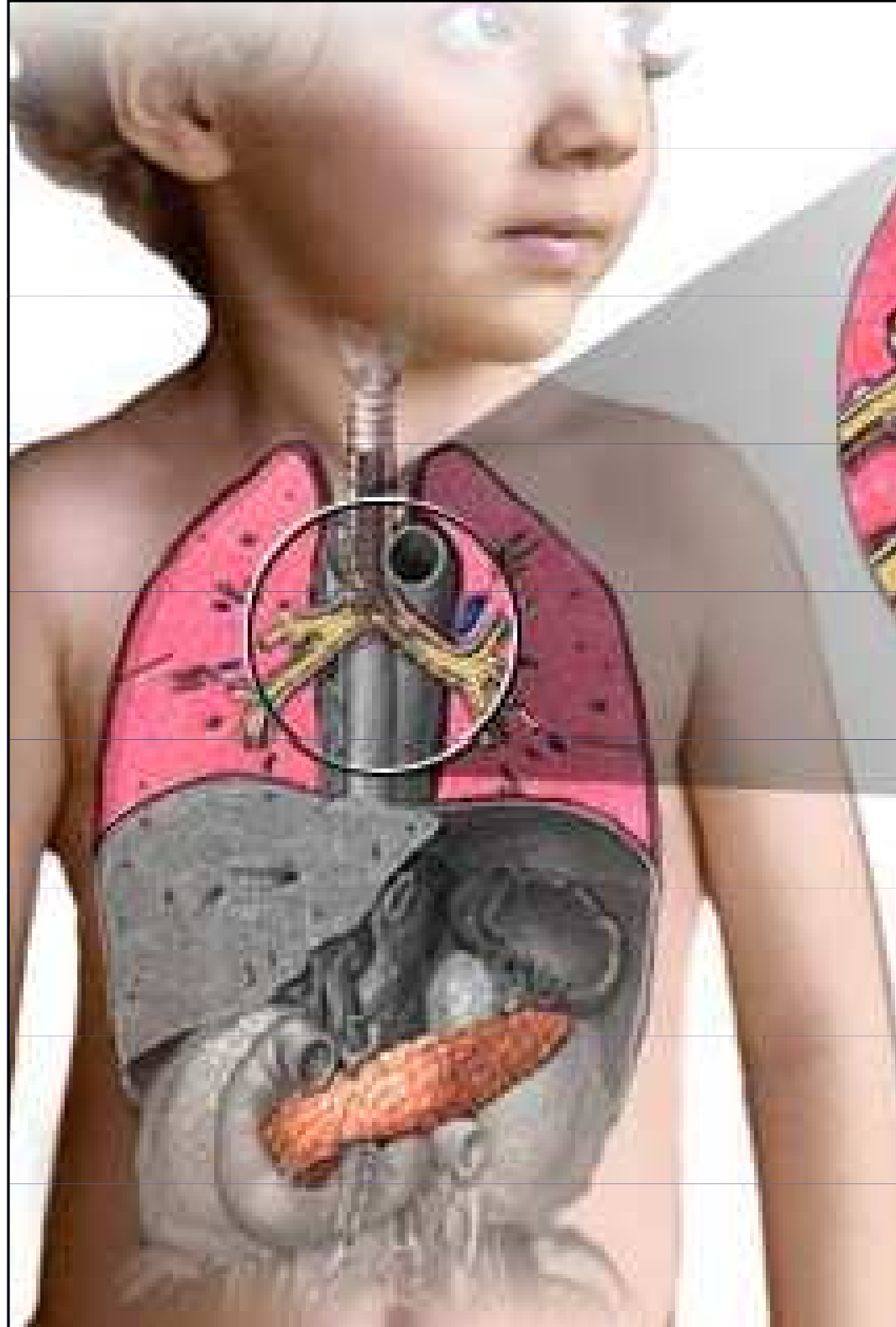
- 13. 1. 2006, pátek, Padang, Západní Sumatra, Indonésie: as. Zahradníček padá do nezakryté dešťové kanalizace s následkem poměrně velké rány sahající na tibiální okostici
- O několik týdnů později: rána je intenzivně cítit pseudomonádou, která je následně z rány i vykultivována. Naštěstí je dobře citlivá
- Terapie: lokální – ušní kapky otosporin (gentamicin + polymyxin B, obě složky účinné)
- Terapie úspěšná

# Padang



# Nefermentující a cystická fibróza

- Cystická fibróza je těžké, **vrozené onemocnění plic** s poruchou produkce normálního plicního surfaktantu. To vede ke změněným charakteristikám plic, včetně mnohonásobně zvýšeného rizika infekce
- **Nejčastějšími původci** jsou *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* a *Staphylococcus aureus*. Kmeny zpravidla získají **polyresistenci** a mnohé děti umírají velmi mladé.

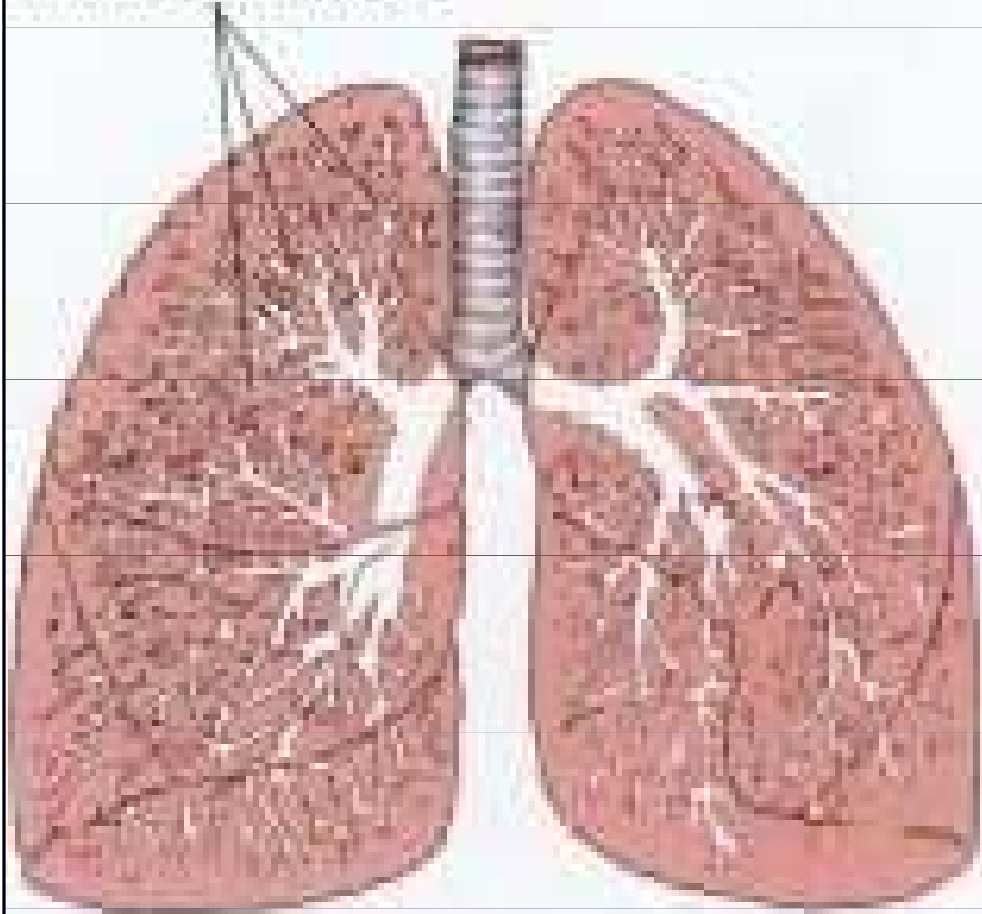


Cystic fibrosis is a hereditary disorder characterized by lung congestion and infection and malabsorption of nutrients by the pancreas



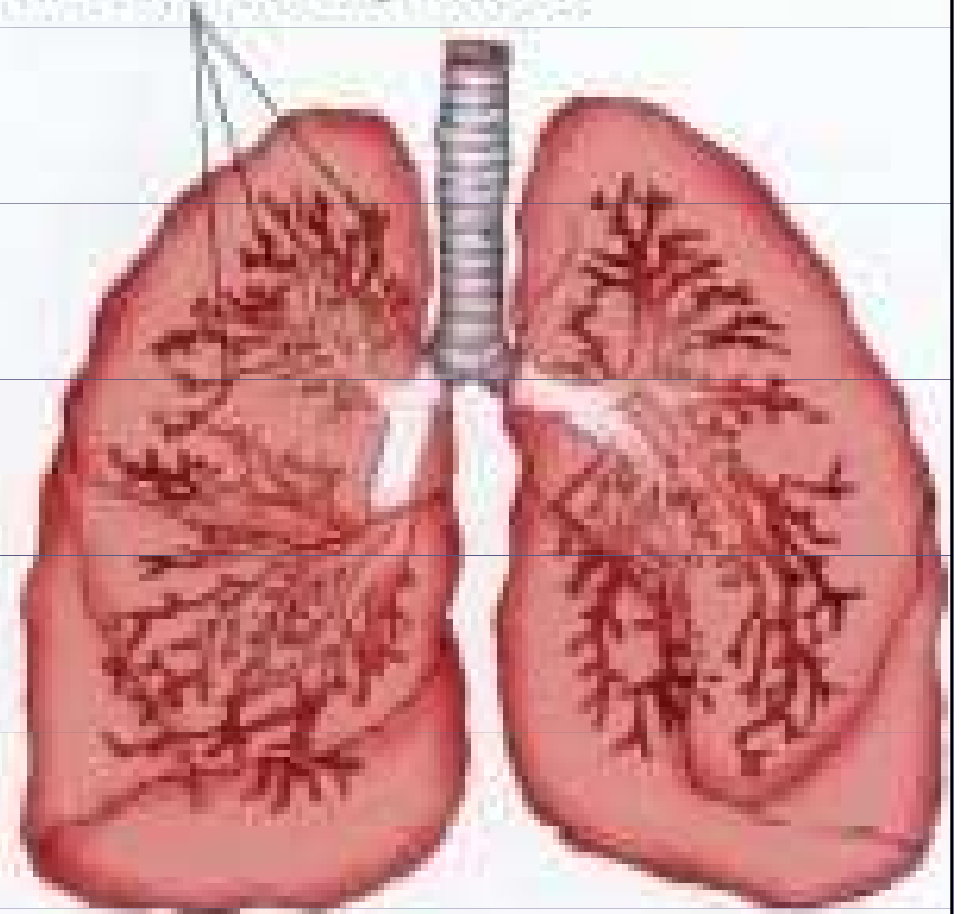


Unobstructed  
bronchial tubes



Healthy lungs

Bronchial tubes  
are blocked by mucus



Lungs with cystic fibrosis



# Pár slov o metabolismu

- Jak víte, klinicky významné bakterie používají zpravidla jeden ze dvou typů metabolismu: fermentaci a aerobní respiraci.
- *Escherichia coli*, která má dost živin, ale málo kyslíku (i když jiných plynů si užije dost 😊) preferuje fermentaci glukózy i jiných cukrů. **Je fakultativně anaerobní**
- Naopak pseudomonády mají kyslíku habaděj, ale živin málo. Volí tedy aerobní respiraci, která jim umožní to málo dostupných živin využít úplně. **Bývají často striktně aerobní**
- Adaptace na vnější prostředí se projevuje i pigmenty – viz následující obrazovka.

# *Pseudomonas aeruginosa* na MH

[www.medmicro.info](http://www.medmicro.info)  
(stránky ústavu),  
foto prof. Skalka



# Přehled metod použitelných k dopadení dnes probíraných zločinců

- **Přímé metody**
  - Mikroskopie – pokud ji potřebujeme pro odlišení od bakterií jiné morfologie
  - Kultivace – nefermentující rostou na většině půd
  - Biochemická identifikace – je založena na reakcích aerobní respirace, vyžaduje ↓ teplotu a 2 dny kultivace

*Nepřímé metody se téměř nepoužívají*

# Diferenciální diagnostika

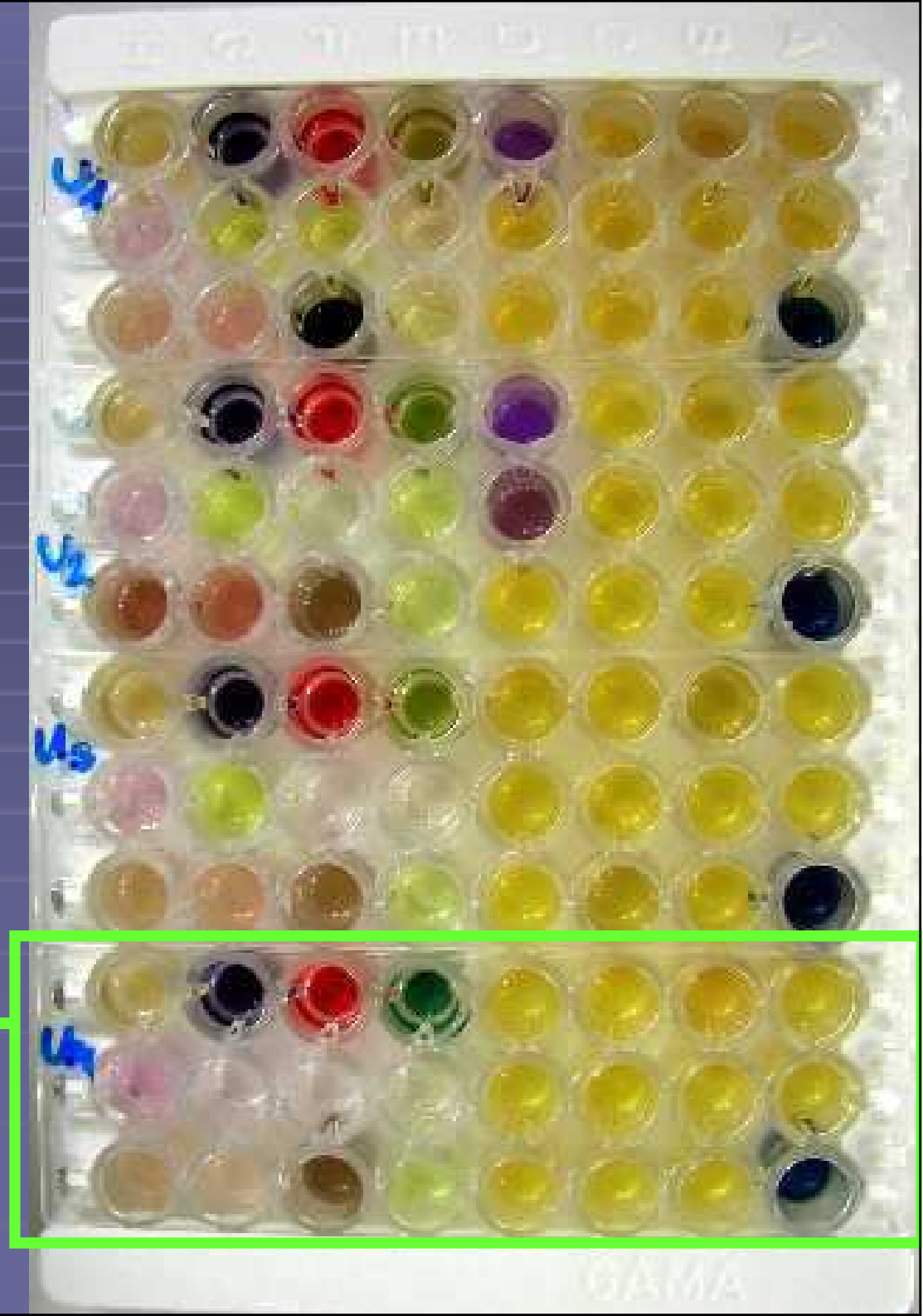
- Gramovo barvení odliší gramnegativní tyčinky od ostatních bakterií
- Endova půda: jak již víme, rostou na ní z klinicky významných jen enterobaktérie, příslušníci čeledi *Vibrionaceae* a gramnegativní nefermentující tyčinky
- Nefermentující odliší to, že nefermentují glukózu (např. Hajnova půda zůstává po kultivaci celá červená, nezmění vůbec barvu)

# K diagnostice nefermentujících

- Pseudomonády se zpravidla poznají:
  - Mají typickou vůni (mladé kultury)
  - Tvoří pigmenty, nejčastěji **zelené**, někdy modré či rezavé. Nejlépe jsou viditelné na MH, ale trochu i na KA či Endově agaru
  - Mají pozitivní oxidázu
- Ostatní nefermentující, případně sporné pseudomonády, musíme rozlišit biochemicky, například NEFERMtestem 24

# NEFERMtest 24

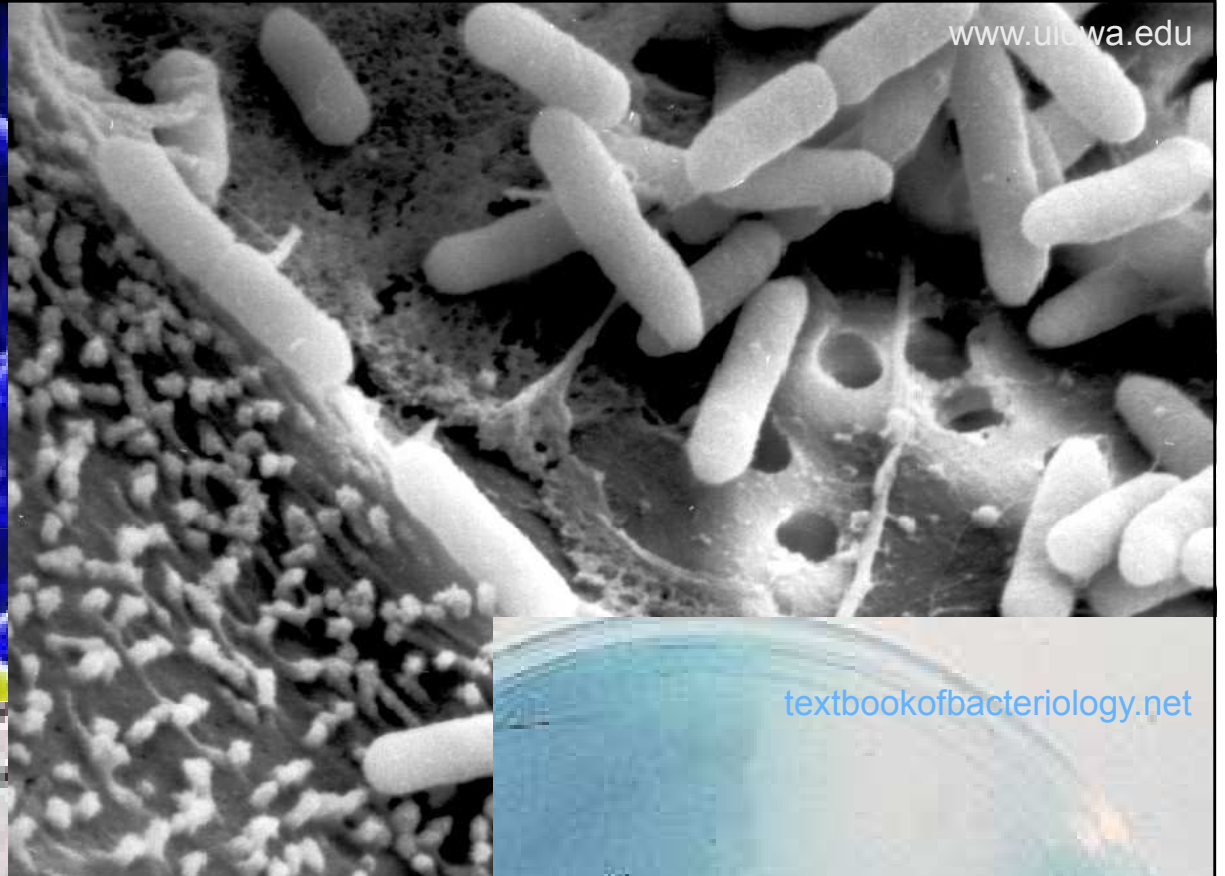
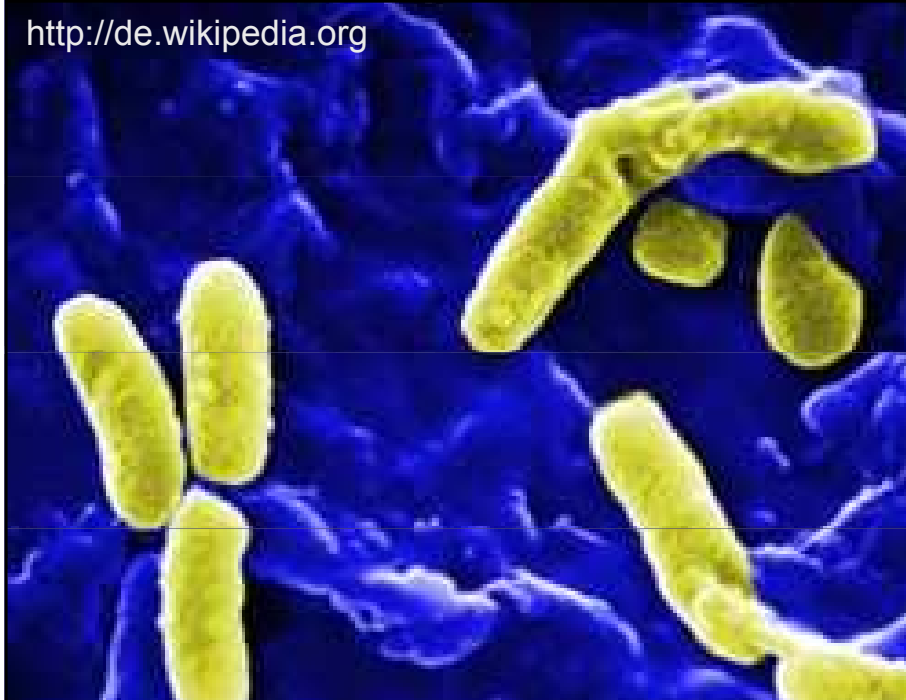
- Do jednoho rámečku lze vložit čtyři trojřádky pro čtyři kmeny, každý se identifikuje pomocí 24 reakcí





# *Pseudomonas aeruginosa*

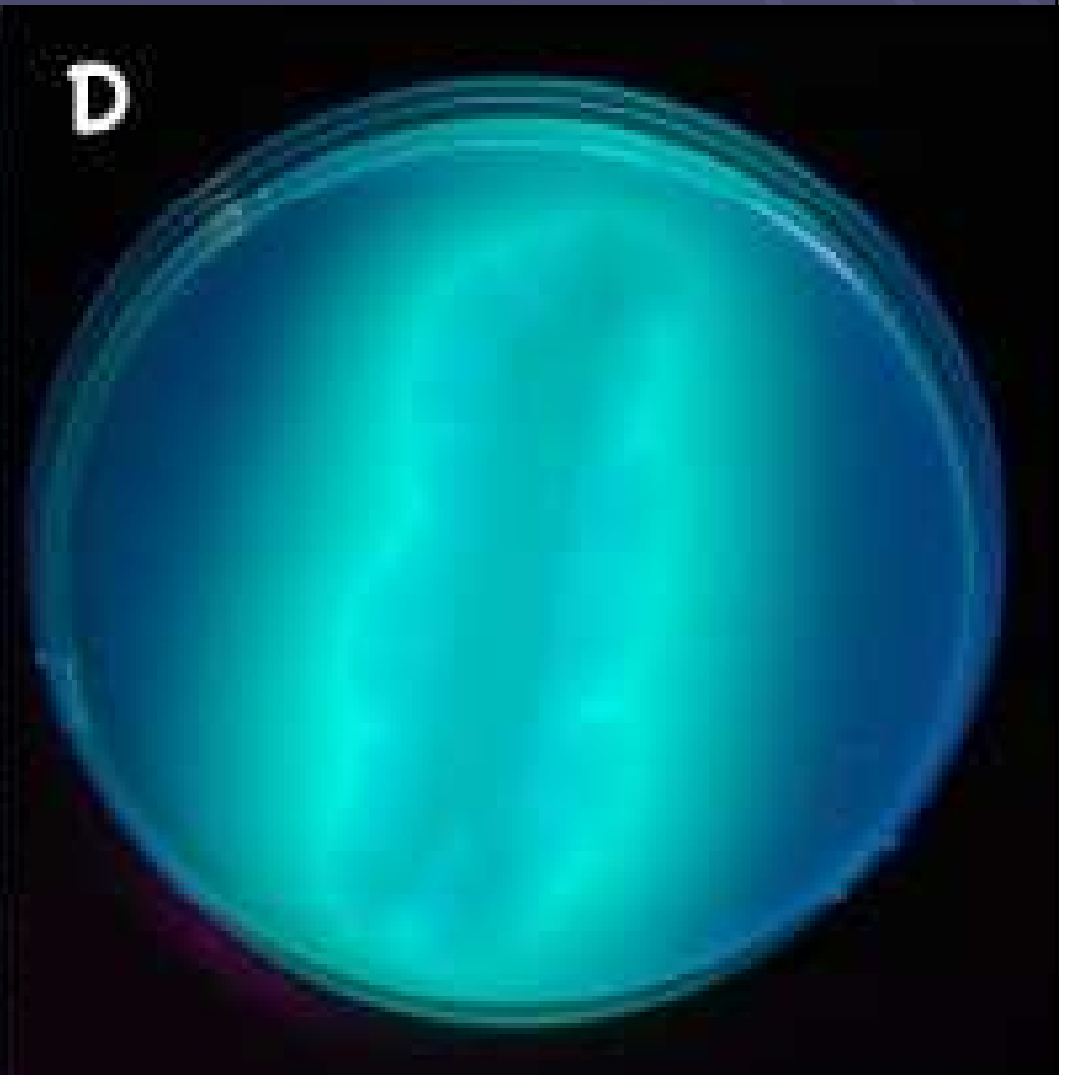
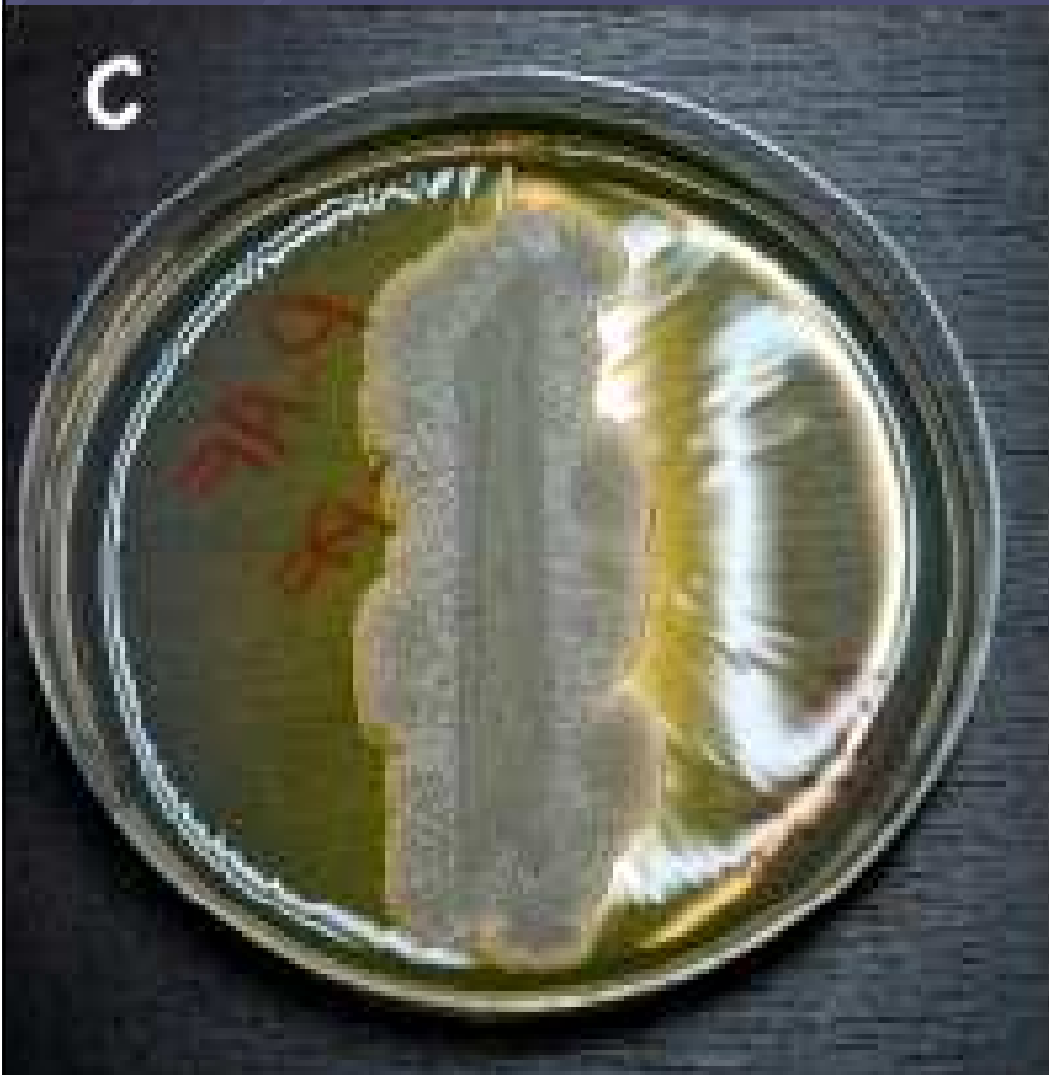




Výjimečný kmen  
pseudomonády  
s modrým  
pigmentem

# Další „nefermentující“: *Pseudomonas fluorescens*

<http://www.bact.wisc.edu>



# *Burkholderia cepacia*

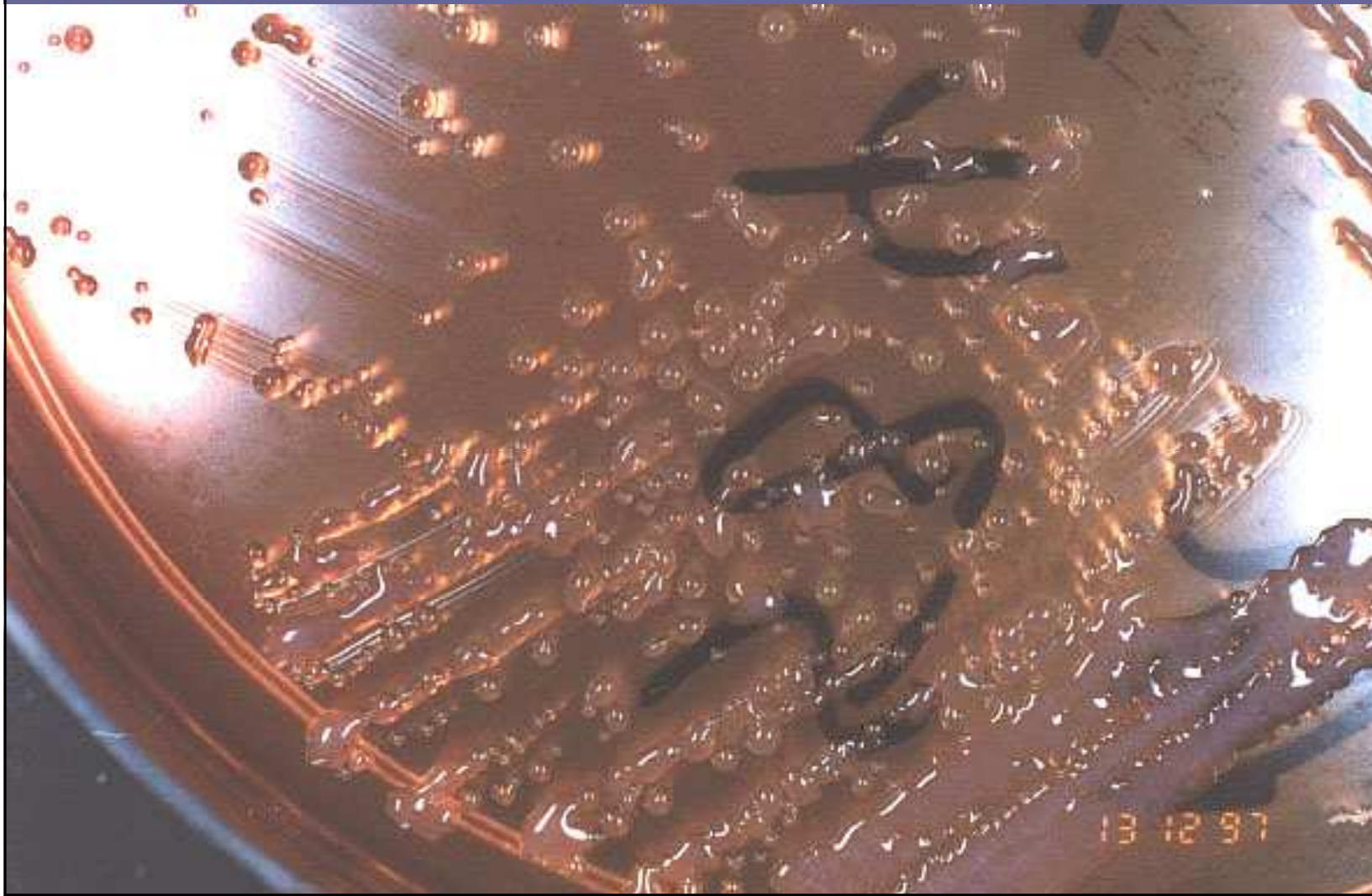


*Burkholderia cepacia*  
způsobuje hnilobu cibule  
(*Allium cepa*), je to tedy typický  
rostlinný patogen



# *Burkholderia pseudomallei*

*Burkholderia pseudomallei* je původcem mellioidózy. Příbuzná *B. mallei* způsobuje zoonózu zvanou malleus čili vozňřivka

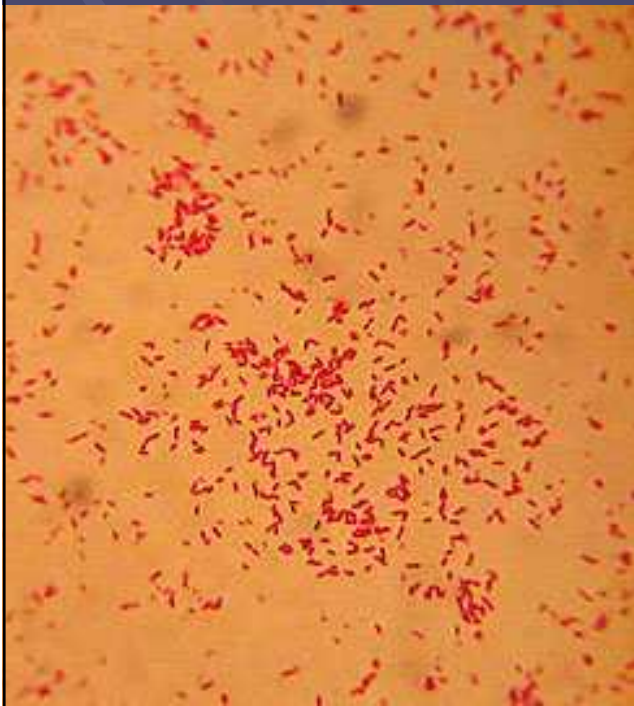


# *Stenotrophomonas maltophilia*

<http://www.scielo.cl>

<http://clinicalmicrobiology.stanford.edu>

<http://www.microbelibrary.org>



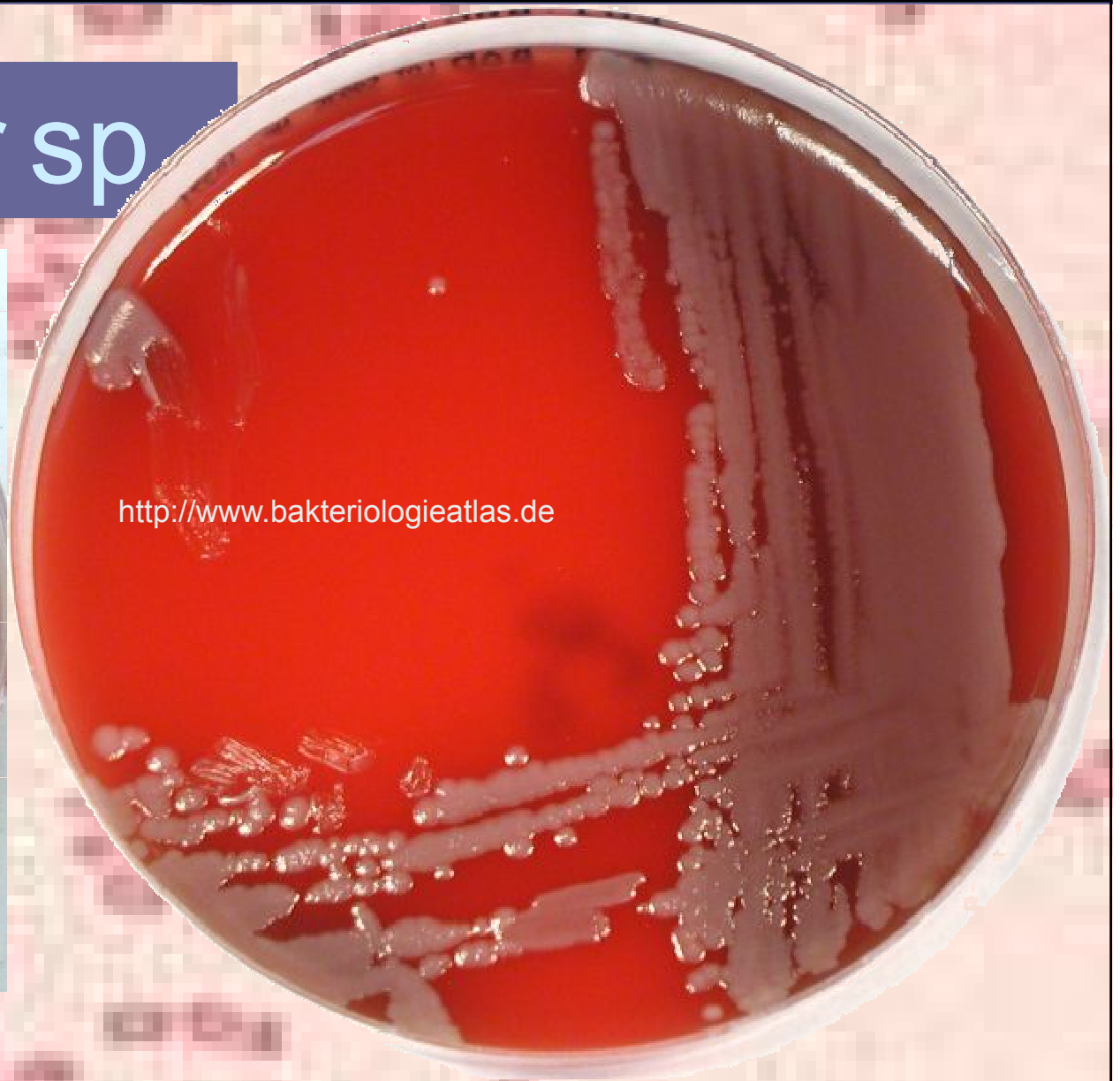
*Stenotrophomonas maltophilia* je dlouhé jméno, ale snadno si ho zapamatujete: je to „úzké-výživy-jednotka maltózu-milující, čili „bakteriální panda“, místo bambusu žvýkající maltózu 😊

# *Acinetobacter* sp



<http://www.microbelibrary.org>

ASM MicrobeLibrary.org © Buxton



<http://www.bakteriologieatlas.de>

<http://www.buddycom.com>

**Z řečtiny: a-kineto- = „nepohyblivý“**

# Testy antibiotické citlivosti

- Nefermentující bakterie rostou na nejrůznějších půdách včetně MH
- Používají se speciální protipseudomonádová antibiotika
- Samozřejmě i na atb testech pseudomonáda barví MH agar na zeleno



# Používaná antibiotika

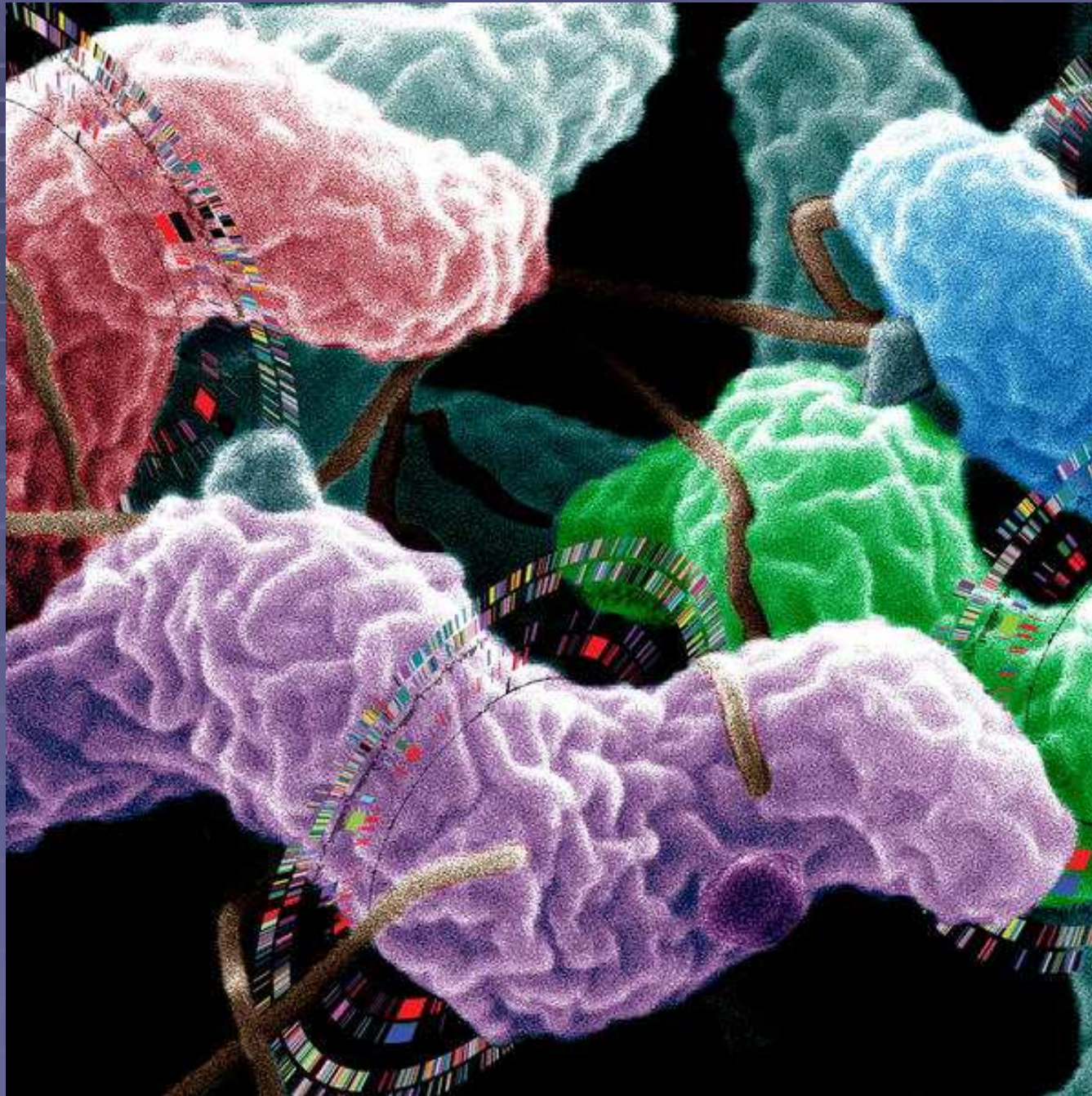
Antibiotikum	Zkratka	Referenč. zóna*
Piperacilin + tazobaktam	TZP	22 mm
Gentamicin (aminoglykos.)	CN	18 mm
Imipenem (karbapenem)	IMP/IMI	22 mm
Ciprofloxacin (chin 3 gen)	CIP	29 mm
Ceftazidim (CS 3 gen)	CAZ	16 mm
Colistin	CT	12 mm



# Šlo by to i E-testem



# 4. Kamylobakter a helikobakter



# Příběh první

- Student František je častým návštěvníkem fast-foodů. Hlavně si rád a často pochutnává na jídlech z kuřecího masa.
- Proto ani hygienici nepřišli na to, které konkrétní jídlo mohlo za jeho průjemové potíže. František si myslel, že má nejspíš salmonelózu. Hygienici mu však vysvětlili, že salmonelóza se přenáší hlavně z vajíček, kdežto náš viník spíše z kuřecího masa.

# Viníkem je totiž

- *Campylobacter jejuni*, gramnegativní zahnutá tyčinka. Nepatří mezi enterobakterie, ale kamylobakteri6za je sv6m pr6b6hem a z6vaŹností srovnateln6 se salmonel6zou
- Počet p6r6pad6 u n6s je v posledn6ch letech p6r6bliŹn6 stejn6 jako v p6r6pad6 salmonel6zy. T6Źko řici, do jak6 m6ry kamylobakteri6zy skutečně p6r6bylo a do jak6 je jen l6pe diagnostikov6na neŹ d6r6ve



# Příběh druhý

- Pan Žáha má problém: pálí ho žáha.
- Pomalu už neví, jestli je víc doma doma, nebo na gastroenterologii, a fibroskopy polyká častěji než své dříve oblíbené utopence.
- Při poslední gastrofibroskopii mu endoskopicky odebrali dva vzorky – jeden poslali na histologické, druhý na mikrobiologické vyšetření
- Obě vyšetření potvrdila totéž: *zločinec je tam.*



# Tentokrát jen spolupachatel...



- Peptické (tedy gastrické či duodenální) vředy jsou onemocněním, které vzniká souhrou více příčin. Takovým onemocněním říkáme obvykle multifaktoriální.
- Dodnes se nejen mezi praktickými lékaři, ale i mezi odborníky liší názory na podíl bakterie *Helicobacter pylori* na vředové onemocnění. Jisto je, že jsou i zdraví lidé s helikobakterem, stejně tak je ale jisto, že helikobakter svůj, nikoli nevýznamný, podíl na onemocnění má.

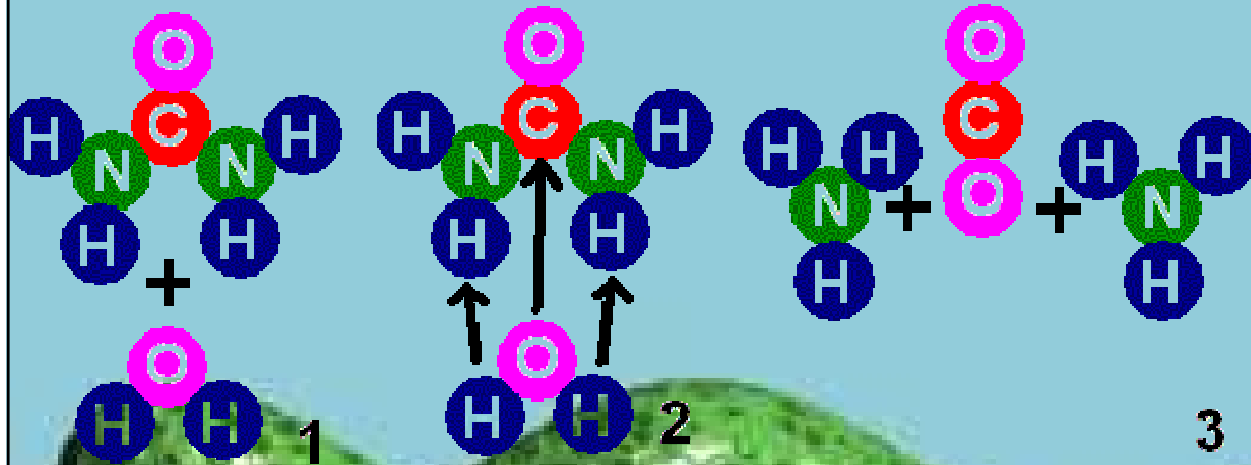


# Jak zločinec přežívá v extrémně nepříznivém prostředí žaludku?

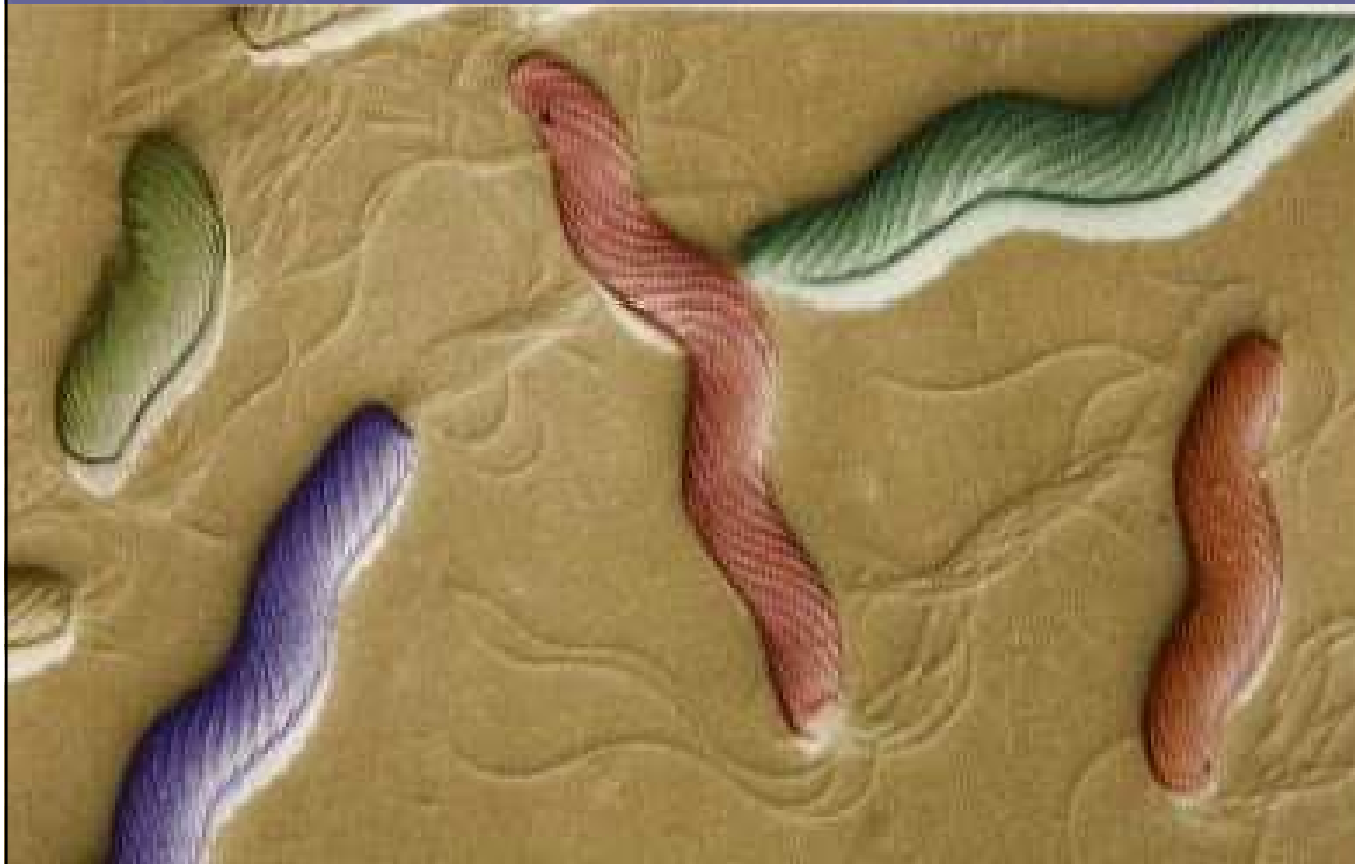
- Upravuje si své mikroprostředí – alkalizuje si ho, štěpě močovinu
- Močovina se rozštěpí na kyselý oxid uhličitý, který vyprchá, a zásaditý čpavek, který zůstane a alkalizuje prostředí
- Štěpení močoviny probíhá podle reakce:



# Ještě jednou štěpení močoviny



(zde místo čpavku  $\text{NH}_4\text{OH}$  figuruje amoniak  $\text{NH}_3$ , proto také do reakce vstupuje jen jedna molekula vody –  $\text{NH}_3$  se ovšem jako plyn okamžitě slučuje s další molekulou vody na  $\text{NH}_4\text{OH}$ )



# Komplikace helikobakterového onemocnění

## Helicobacter-Infektion und die Folgen

Kommen Risikofaktoren wie Rauchen, Stress, Alkohol oder Veranlagung hinzu, können sich Magen- oder Zwölfgerdarmgeschwüre entwickeln.

### Magengeschwür



Um sich vor der Magensäure zu schützen, bildet Helicobacter pylori das Enzym Urease.

### Gastritis

Dadurch werden die Stoffwechselfvorgänge der Magenschleimhaut gestört. Der Säurehaushalt des Magens gerät ins Ungleichgewicht. Folge ist eine Entzündungsreaktion (Gastritis).



Die chronische Entzündung der Magenschleimhaut durch Helicobacter pylori verursacht Gewebeveränderungen, die als Krebsvorstufen gelten. Schließlich kann sich Magenkrebs entwickeln.

### Magenkrebs



### Therapie

Die Therapie erfolgt durch eine Kombination verschiedener Medikamente.

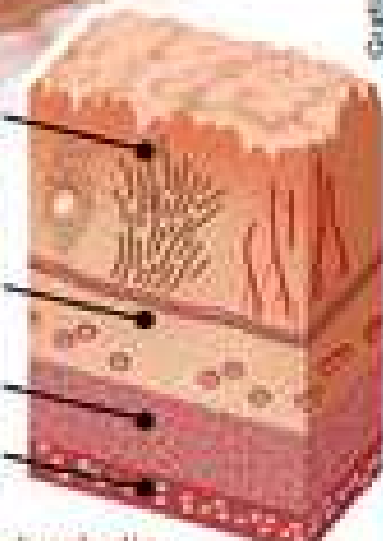
Schleimhaut (Mucosa)  
Die Schleimschicht-Auflage schützt die Magenwand vor der Magensäure

Verschleimhaut (Submucosa)

Ringmuskelschicht

Längsmuskelschicht (Bauchfell)

Querschnitt durch die gesunde Magenwand



# Několik poznámek k diagnostice kamylobakterů

- Kamylobaktery vyžadují v zásadě čtyři věci:
  - Svoji černou půdu – nemá specifický název, říkáme jí „půda pro kamylobaktery“
  - Zvýšenou teplotu na cca 42 °C. Jsou to totiž primárně ptačí patogeny a ptáci mají vyšší tělesnou teplotu
  - Zvýšenou tenzi CO<sub>2</sub>
  - Prodlouženou dobu kultivace – nikoli 24, ale 48 hodin

# Několik poznámek k diagnostice helikobakterů

- V jejich diagnostice se používají speciality:
  - Mikroskopický a kultivační průkaz
  - Průkaz ureázové aktivity přímo ve vzorku tkáně. Je to jediná výjimka z pravidla, že biochemické určení se vždy týká kmene a nikdy vzorku. Je to proto, že za ureázovou aktivitu ve vzorku zde nic jiného než helikobakter nemůže být zodpovědno.
  - Ještě obskurnější je tzv. urea breath test – jediné mikrobiologické vyšetření, na které potřebujete celého pacienta

# Jeden méně známý helikobakter

*Helicobacter cinaedi*



AstraZeneca  Hut-Test<sup>®</sup>

Patient: *EISHAM*

Datum/Date: 2005-09-09

Corpus  Antrum

Befund/Result:

neg:

pos:

⊖

⊕

Ch.-B./Lot:

FJ2809A1

verw. bis/Exp.:

09-2005



Rychlý ureázový test



# Urea breath test

- Pacientovi se podá radioaktivně značená močovina
- U zdravého močovina projde do dolní části trávicího traktu a vyloučí se stolicí
- Je-li přítomen helicobakter, rozštěpí se už v žaludku a značený  $\text{CO}_2$  se objeví ve vydechaném vzduchu. Čím více značeného  $\text{CO}_2$ , tím více helicobaktera
- Pojišťovna proplácí jen u dětí (pokud víme)

# 5. Čeled' *Pasteurellaceae*



# Příběh



- Kubík je hodný kluk, ale jeho rodiče jsou členy jakési sekty a nechtějí Kubíka nechat očkovat. Nejráději by ho měli pořád doma, ale nakonec ho přece dali do školky...
- Po měsíci ve školce začal být Kubík nachlazený, smrkal, kašlal, a nakonec se začal dusit a sípavě dýchat. Volali RZP, ukázalo se, že Kubík má zánět příklopky hrtanové – nemoc, která se dnes už moc často nevidí...

# Kdo to Kubíkovi udělal?

- Viník: *Haemophilus influenzae* serotyp b (Hib)
- Hemofily jsou krátké gramnegativní tyčinky. Nerostou na Endu, ale dokonce ani na KA
- Ze všech hemofilů je nejhorší *H. influenzae*. Ze všech kmenů *H. influenzae* jsou nejhorší kmeny opouzdřené. A ze všech opouzdřených pak ty, které vlastní pouzdrerný typ b
- Způsobují epiglottitidy, meningitidy a sepse. Ale zároveň hemofily (zvláště ty, které nepatří mezi „Hib“) jsou úplně běžně nalézány v krcích.



H

I

B

www.4to40.com

# Čeľed' *Pasteurellaceae*: Pasteurely a hemofily

- *Pasteurella multocida* je běžnou flórou v psích tlamách. U člověka způsobuje zejména zhnisání ran po pokousání psem či jiným zvířetem. Má podobný charakteristický pach jako hemofil, ale na rozdíl od něj roste na krevním agaru. Vypadá tam jako něco mezi streptokokem a enterokokem, ale je rezistentní na vankomycin, což obvykle mikrobiologa „trkne“.
- Nejznámější hemofily jsou *Haemophilus influenzae* (často sekundární infekce při „chřipkovitých“ virózách), *H. parainfluenzae* a *H. aphrophilus*. Původcem měkkého vředu je *H. ducreyi*.

# Přehled metod použitelných k dopadení těchto bakterií

## ■ Přímé metody

- Mikroskopie – teoreticky, pokud by byla potřeba; jsou to gramnegativní krátké tyčinky
- Kultivace – pasterurely rostou na krevním agaru, hemofily jen na čokoládovém, na Endově půdě neroste ani jedna z těchto bakterií
- Biochemická identifikace – u nás není vhodná souprava, v zahraničí soupravy existují
- Antigenní analýza – zejména u hemofilů (Hib)

*Nepřímé metody se téměř nepoužívají*

# K diagnostice hemofilů a pasteurel



<http://www.uni-ulm.de>

- Pasteurely rostou na krevním agaru
- Hemofily na krevním agaru růst neumějí, protože si neumějí „otevřít“ krvinku
- Rostou tedy na čokoládovém agaru
- Na KA rostou v přítomnosti takové bakterie, která jim krvinku „otevře“ (satelitový fenomén). Takovou bakterií je například zlatý stafylokok
- Mají droboučké kolonie, proto se používá disk k odclonění ostatních bakterií (bacitracin, ale ve vyšší koncentraci než v bacitracinovém testu)

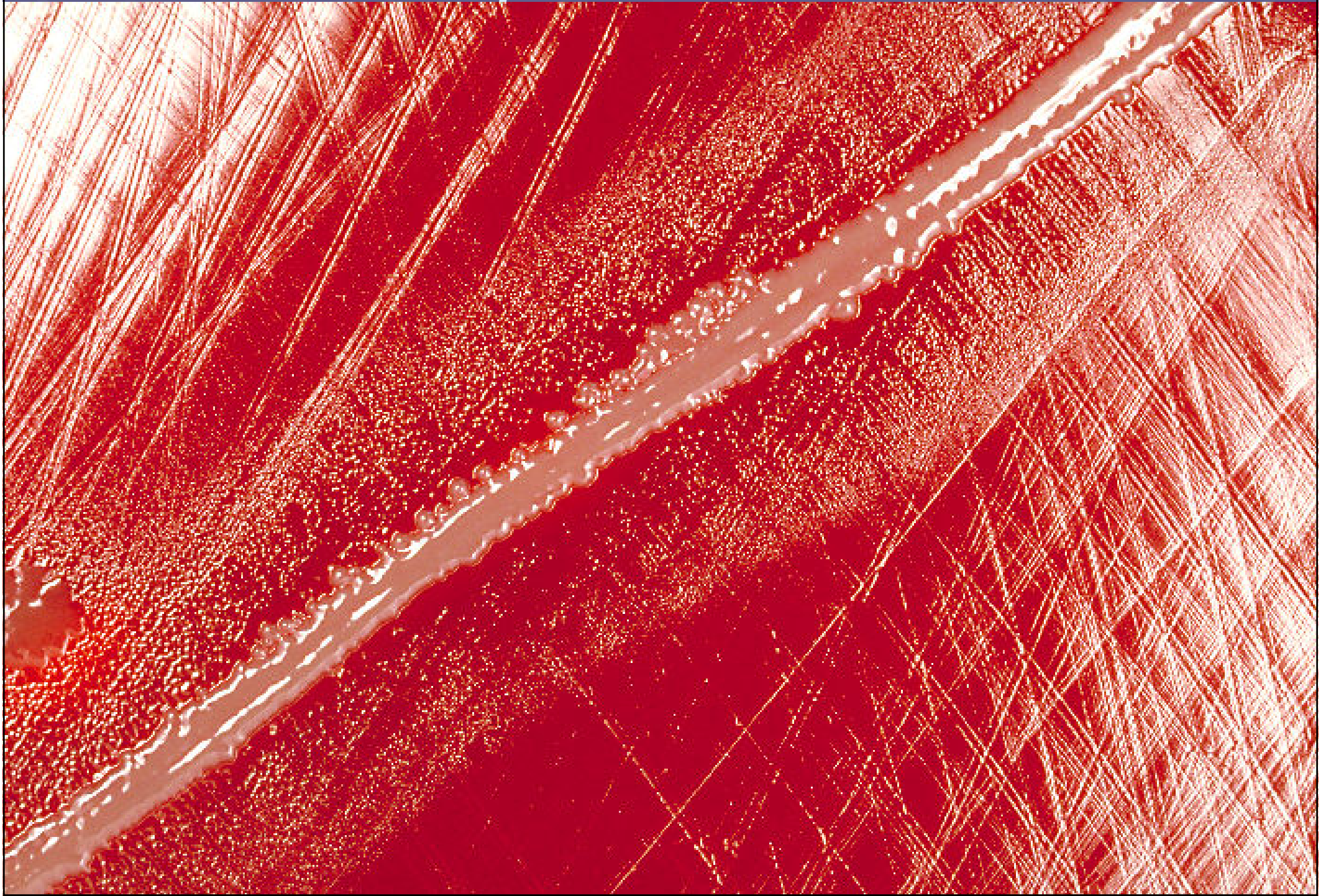


# Fotografie z databáze zločinců: Hemofily



# Ještě jednou satelit

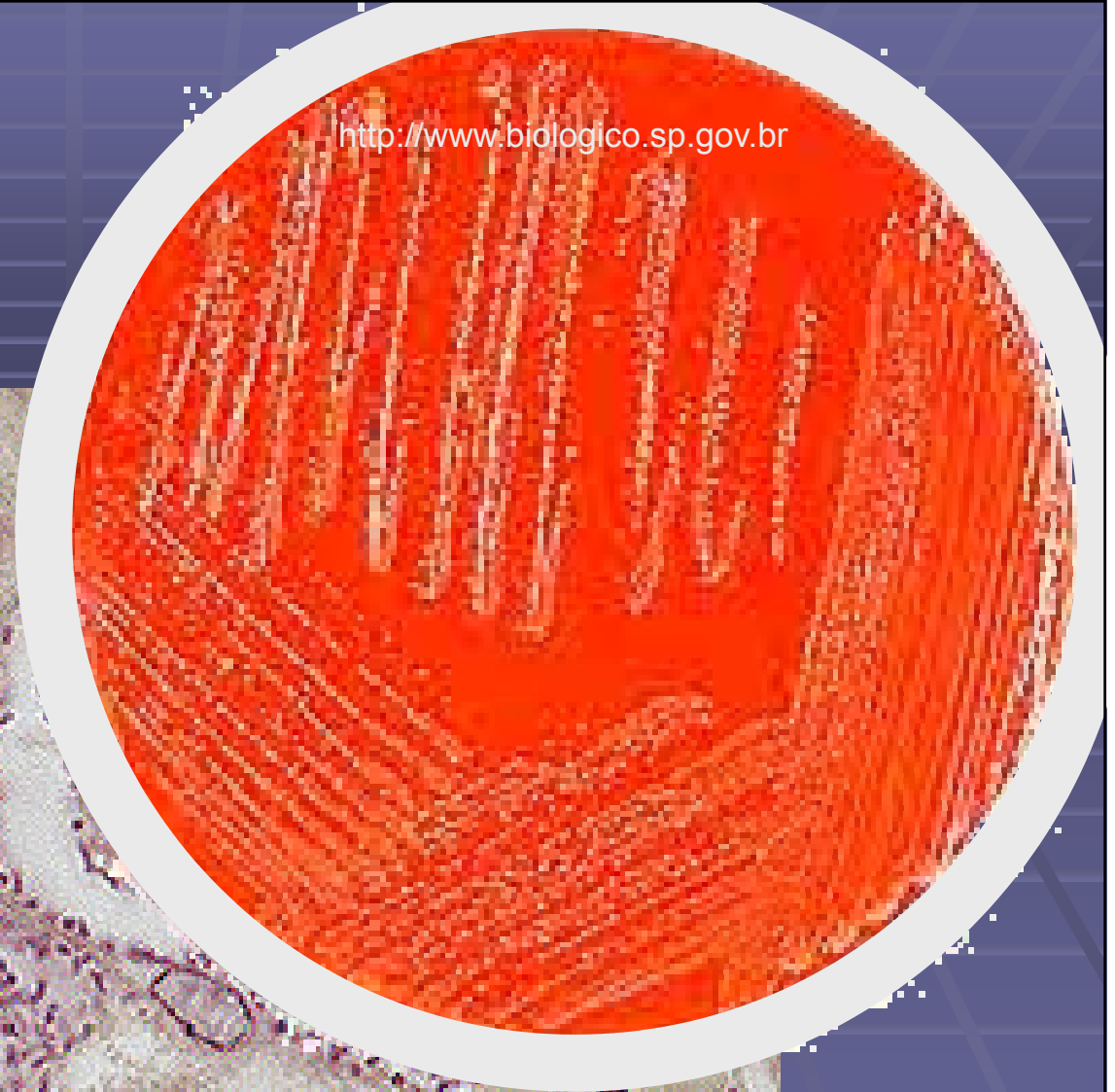
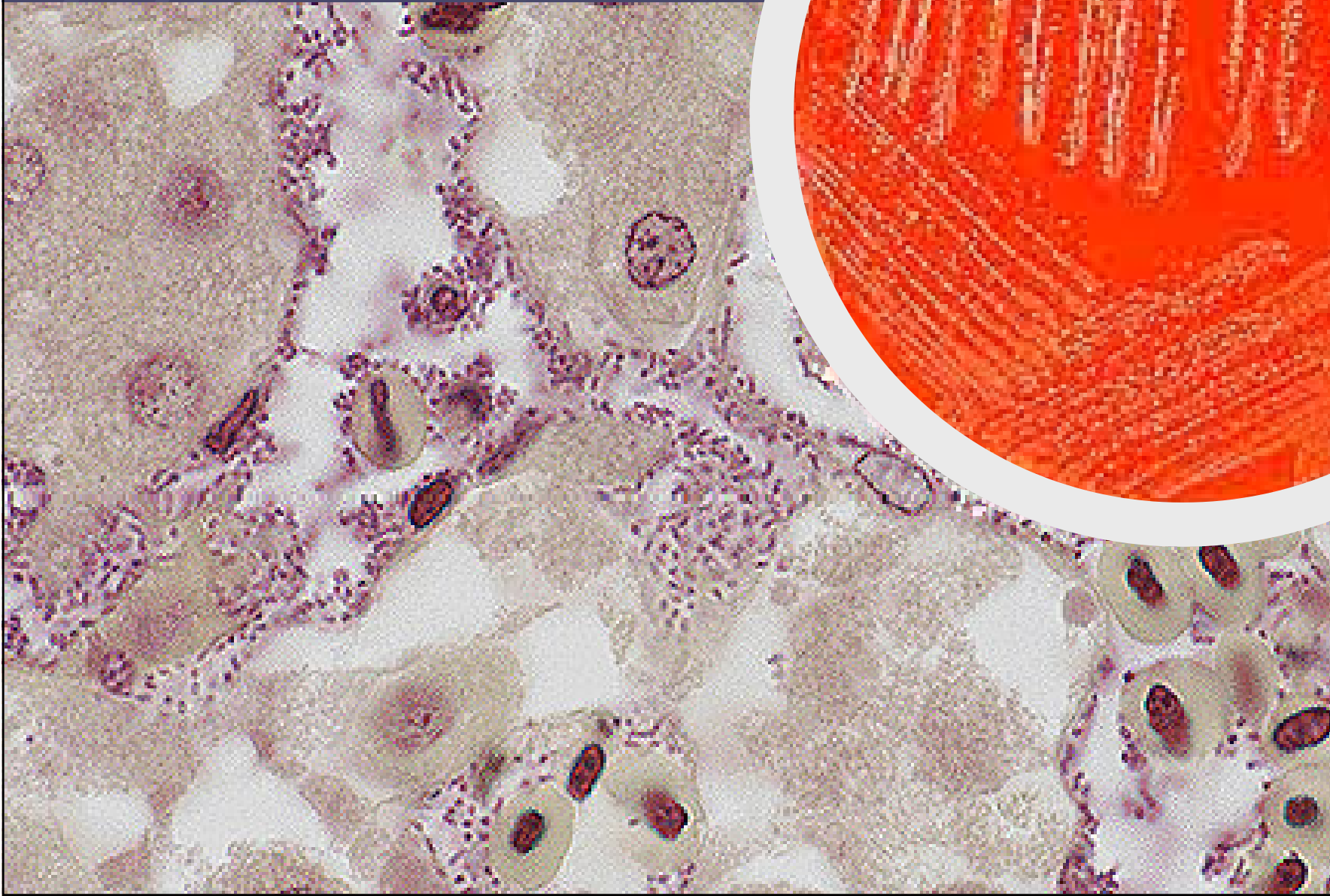
<http://phil.cdc.gov>



# *Pasteurella multocida*

<http://library.thinkquest.org>

<http://www.bidlogico.sp.gov.br>

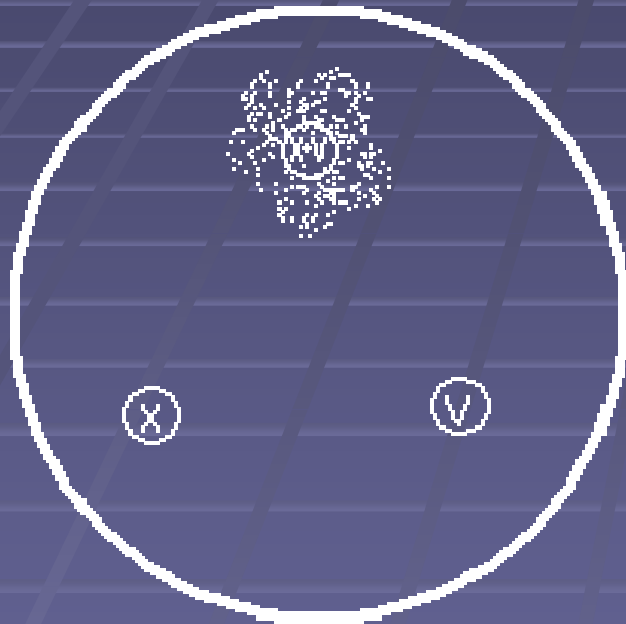


# Hemofily a růstové faktory

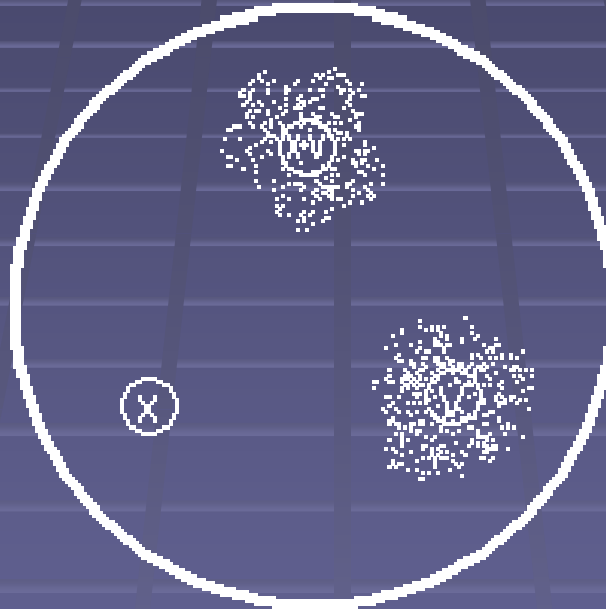
- Ne všechny hemofily potřebují stejné faktory.
- *H. parainfluenzae* potřebuje faktor V (NAD)
- *H. aphrophilus* faktor X (což je hemin)
- *H. influenzae* potřebuje oba. Používáme disky napuštěné těmito faktory.

# Test růstových faktorů hemofilů

Jeden disk obsahuje faktor X, druhý faktor V, třetí směs obou



*Haemophilus influenzae*



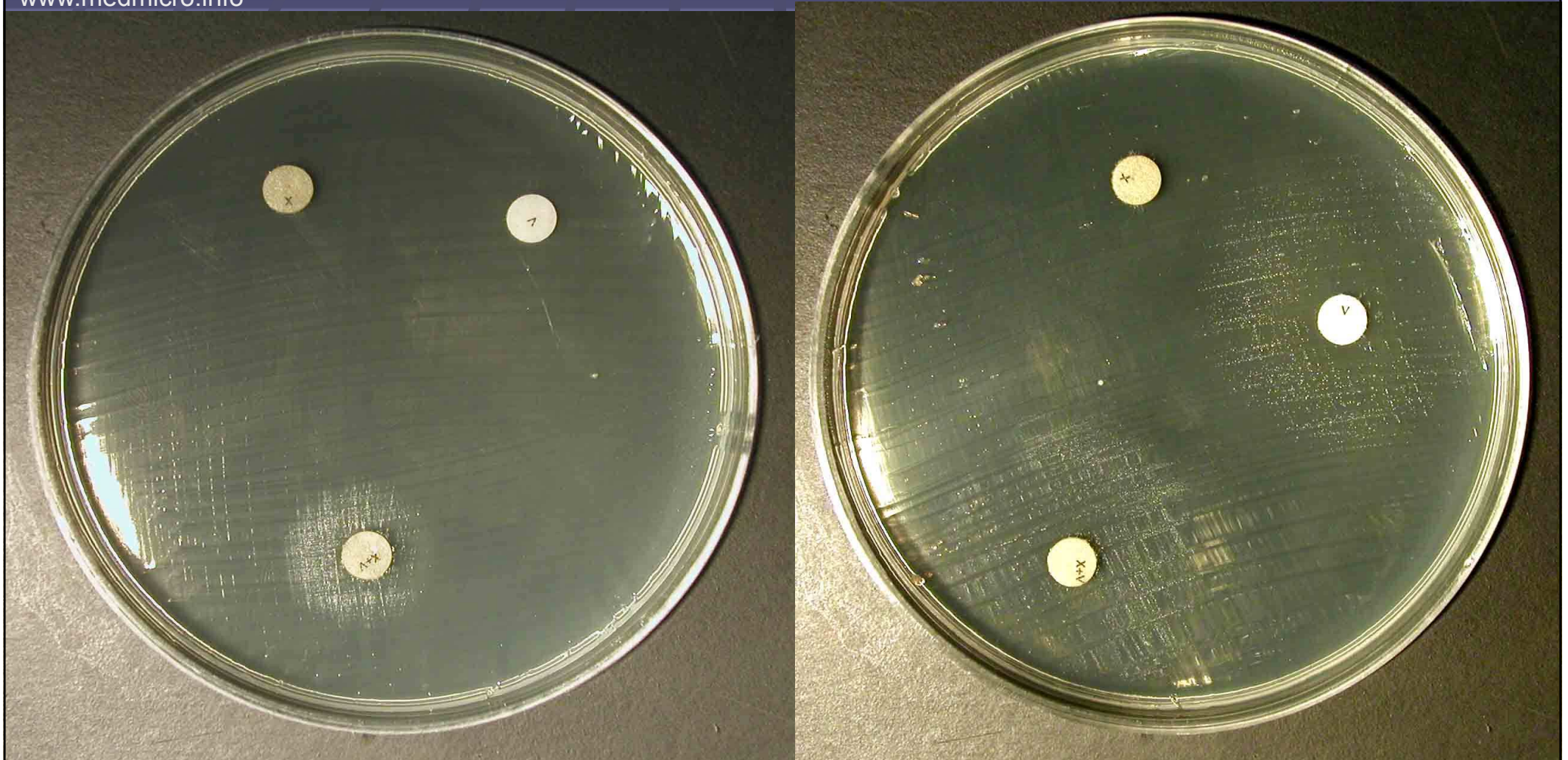
*Haemophilus parainfluenzae*



*Haemophilus aphrophilus*

# *H. influenzae* (vlevo), *H. parainfluenzae* (vpravo)

[www.medmicro.info](http://www.medmicro.info)



# Antigenní analýza

- Antigenní analýza se u hemofilů provádí obdobným způsobem jako u jiných bakterií. Dnes jsou zpravidla k dispozici komerční soupravy, obsahující např. i latexové částice a další součásti
- Dříve se využívalo jevu tzv. koaglutinace se stafylokokem, kdy aglutinát byl hustší díky navázání stafylokoka na Fc konec protilátky proti hemofilovi

# Testy antibiotické citlivosti

- Hemofily nerostou na MH agaru
- Zpravidla se používá Levinthalův agar (přefiltrovaný čokoládový agar), na kterém jsou zóny lépe viditelné než na klasickém čokoládovém agaru
- V naší laboratoři se používá „hemofilový agar“, což je půda blízká agaru Levinthalovu
- Případnou diskovou rezistenci k ampicilinu je třeba ověřit testem produkce betalaktamázy



# Upozornění

- Hemofily tvoří velmi mrňavé kolonie. Pokud je očkujeme nahusto (jako při testování citlivosti na antibiotika), jsou ještě mrňavější.
- Proto je na agaru není moc vidět. Je třeba najít vhodné úhly mezi vaším okem, miskou s hemofilem a dopadajícím světlem – zprvu se zdá, že tam nic není!

# Antibiotika používaná u hemofilů

Antibiotikum	Zkratka	Referenč. zóna*
Ampicilin (aminopenicilin)	AMP	22 mm
Ko-amoxicilin (am.+inhib.)	AMC	18 mm
Chloramfenikol	C	29 mm
Tetracyklin (tetracyklin)	DO	29 mm
Ko-trimoxazol (směs)	SXT	16 mm
Azithromycin (makrolid)	AZM	12 mm

# 6. Legionella pneumophila, Brucella abortus, Bordetella pertussis, Francisella tularensis



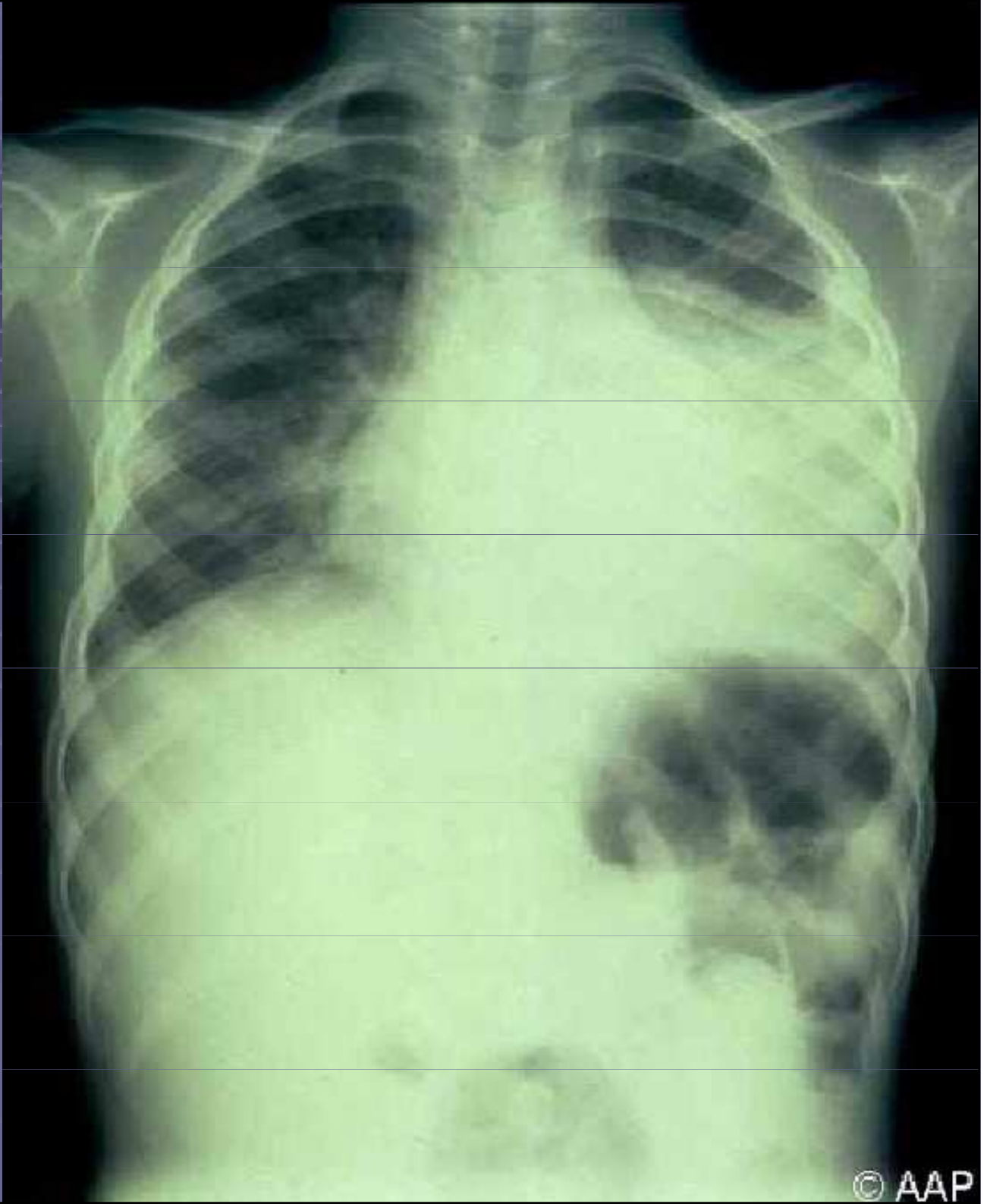
# Příběh

- Toho dne bylo v nemocnici velké hemžení: další tři pacienti, všichni **senioři**, onemocněli, a u všech to bylo totéž – **problémy s dechem a horečka**
- Po důkladném vyšetření laboratoř našla patogena nejen ve vzorcích od pacientů, ale i ve **vodovodním vedení** nemocnice. Vodovod musel být předělán, a teprve pak se další infekce definitivně zastavily.

# Legionářská nemoc

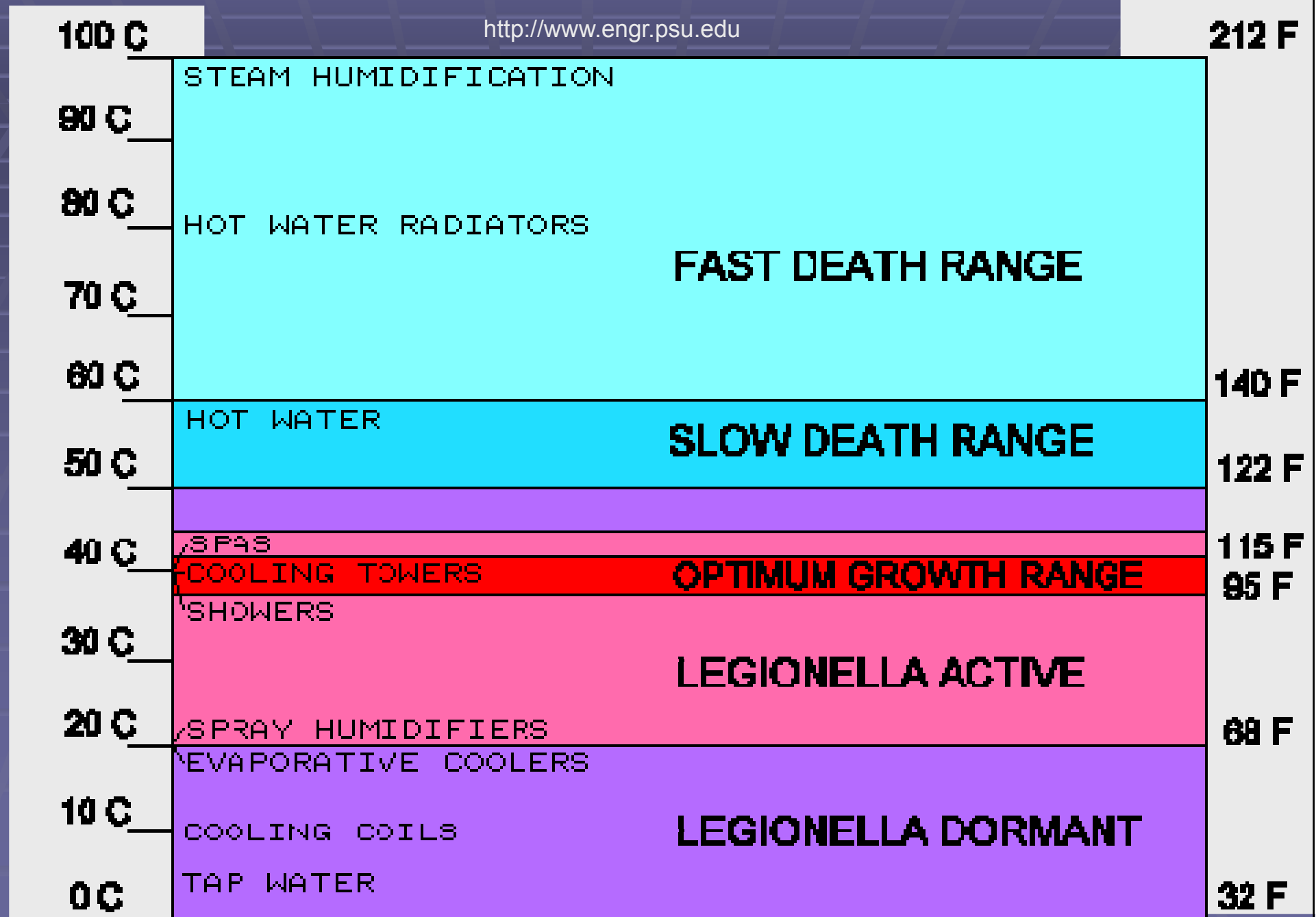
- Tuto nemoc působí *Legionella pneumophila*
- Legionářská nemoc je těžší variantou nemoci; existuje ještě mírnější varianta, **Pontiacká horečka**.
- Bakterie má často rezervoár ve **vodovodech, klimatizaci, atd.**
- Při stavbě nových částí nemocnic (ale i domovů důchodců, hotelů, lázní...) se musí podniknout opatření na prevenci legionelózy, především při plánování vodovodní sítě (žádné slepé odbočky)

Legionářská  
nemoc  
(anglicky:  
Legionaire's  
disease)



# Legionella a teplota

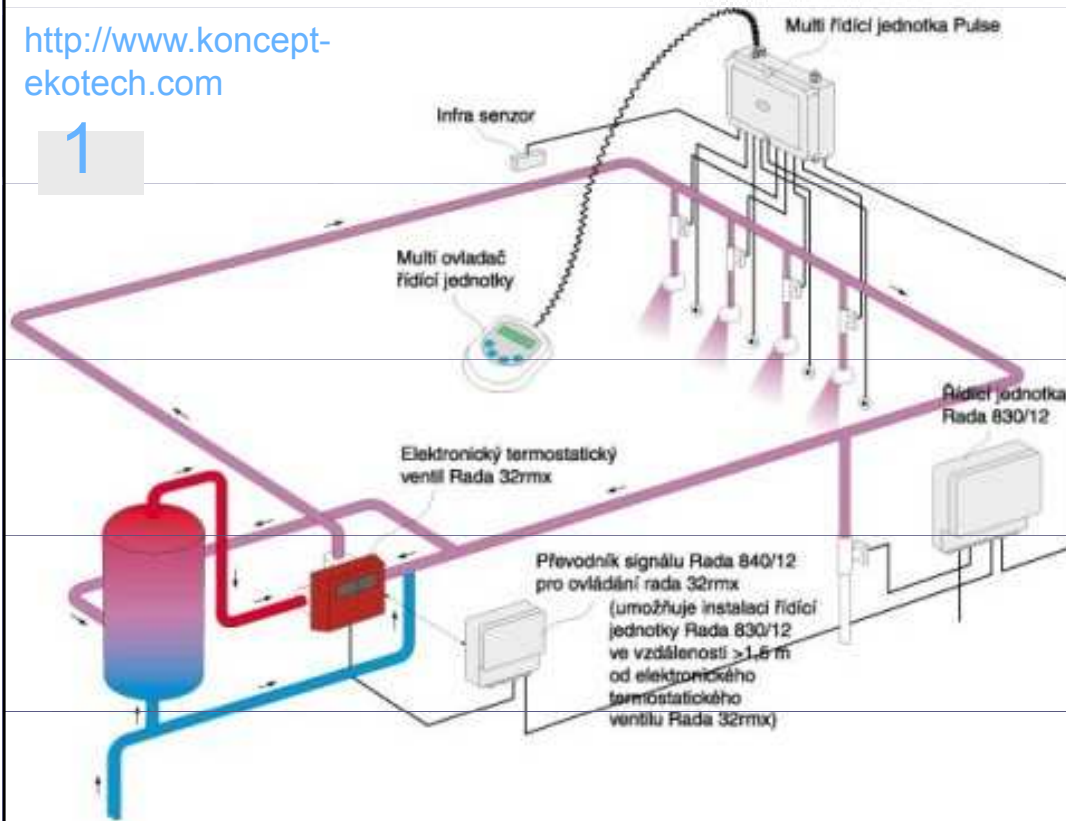
<http://www.engr.psu.edu>



# Některé způsoby desinfekce vody

<http://www.koncept-ekotech.com>

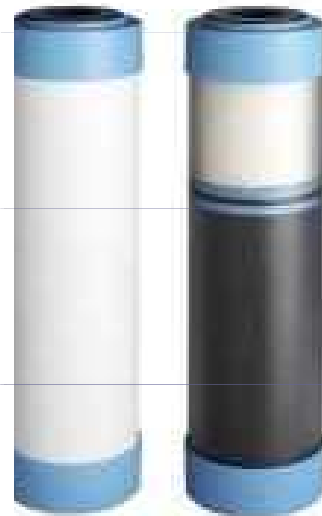
1



2

- 1 horká teplota
- 2 UV paprsky
- 3 filtrace
- 4 chlorace

3



**The Legionella Control Association**  
A Recommended Code of Conduct for Service Providers

**Certificate of Registration**

This is to certify that the following company has submitted a registration under the Conditions of Compliance as laid out in the Code of Conduct for Service Providers

Name of Company : AWT (Water Treatment) Ltd

Registration Number : 2000409    Certificate valid until: 31 August 2007

Registration under the following categories:

- Risk Assessment
- H&C water monitoring and inspection services
- Cleaning and Disinfection
- Analytical services
- Chemical water treatment services

This certificate is issued annually and is subject to verification via the W&BSA. Anyone wishing to confirm the current registration of any company is advised to contact the Secretariat quoting the company name and the registration number on the certificate.

Signed: *Paul M. Peck* Chairman, Executive Committee  
Certificate Secretary

Legionella Control Association, 6, Sir Robert Peel Mill Building,  
Tolson's Enterprise Park, Fazley, Staffs, B78 3GD  
Telephone: 01827 539 543    www.conduct.org.uk

<http://www.awtwater.co.uk>

4



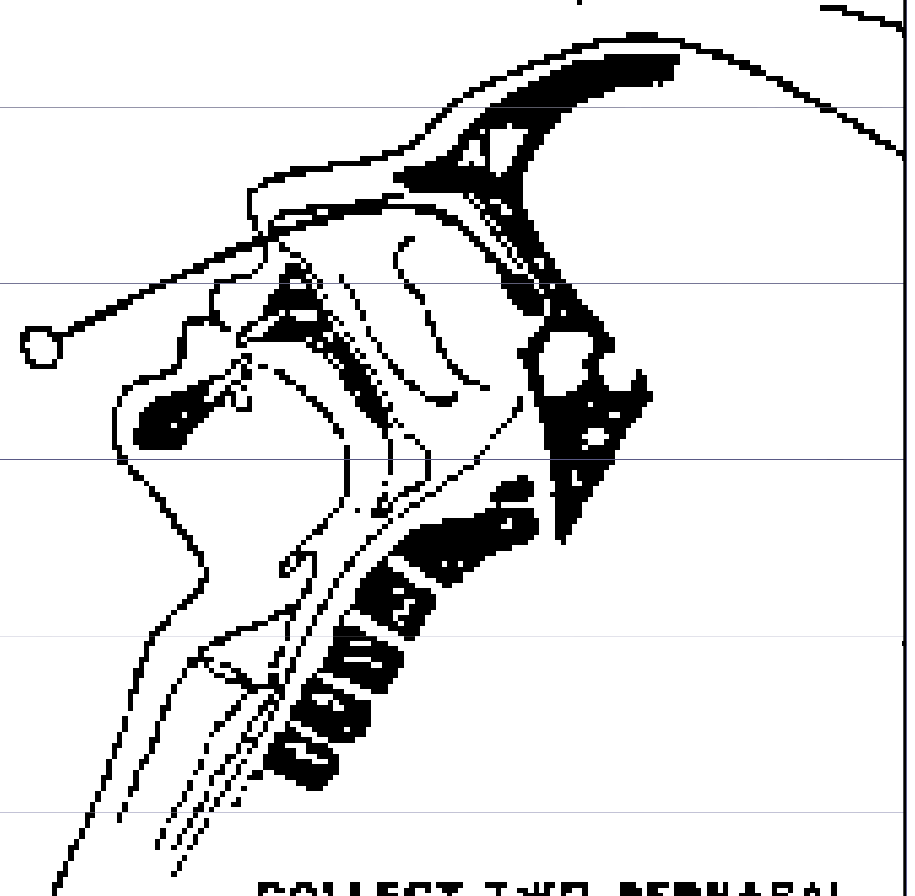


# „Další gramnegativní bakterie“

- Není to žádná skupina, natož čeleď. Jsou to ale všechno poměrně vzácnější bakterie, zpravidla nerostoucí na Endově agaru, některé z nich rostoucí na agaru krevním, a způsobující různé nemoci.
- Vedle rodu *Legionella* zmiňme alespoň tři rody: *Bordetella*, *Brucella* a *Francisella*

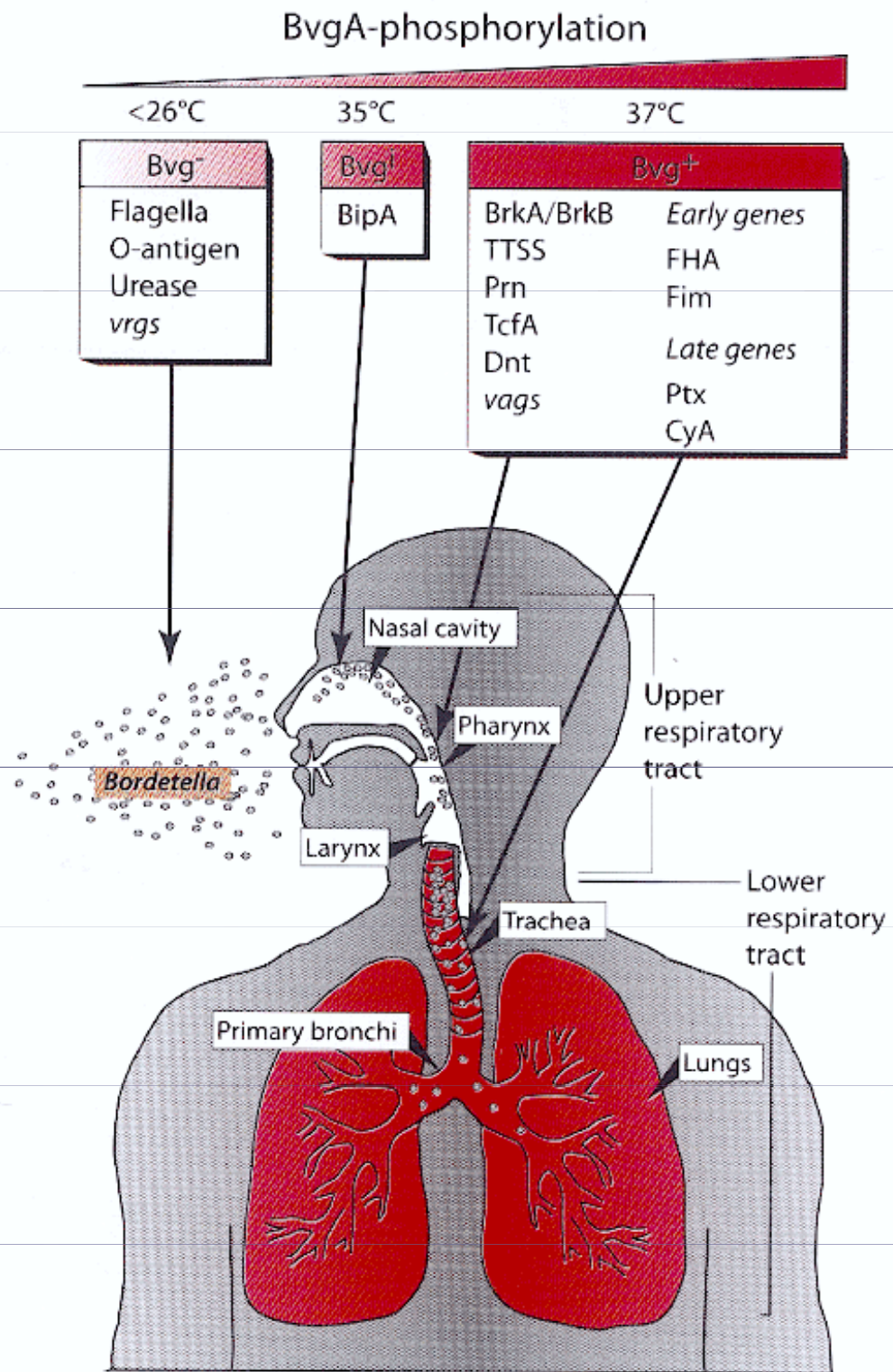
# Rod *Bordetella*

- *B. pertussis* a *B. parapertussis* způsobují černý kašel
- *B. bronchiseptica* způsobuje různé patologické stavy u člověka i zvířat
- Černý kašel je velmi vzácný díky očkování
- **Pernasální výtěr** se používá v případě potřeby



COLLECT TWO PERNASAL  
NASOPHARYNGEAL SWABS

# Bordetella a teplota

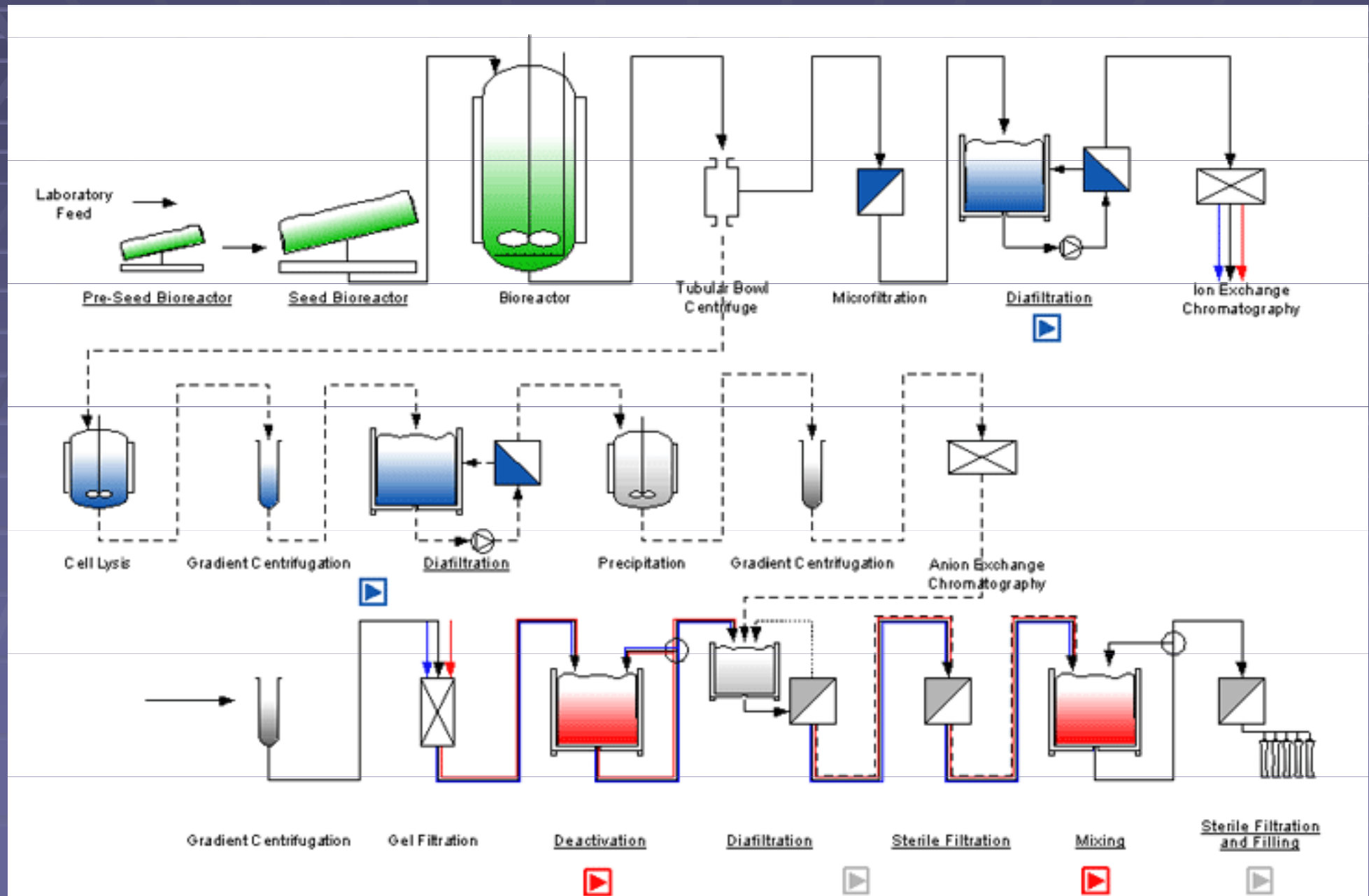


*Bordetella*  
byla  
izolována  
1906 a  
podíleli se  
na tom  
Jules  
Bordet a  
Octave  
Gengou



# Jak se dělá pertusová vakcína

www.stedim.com



# *Bordetella bronchiseptica:* infekce kočky

# Rod *Brucella*



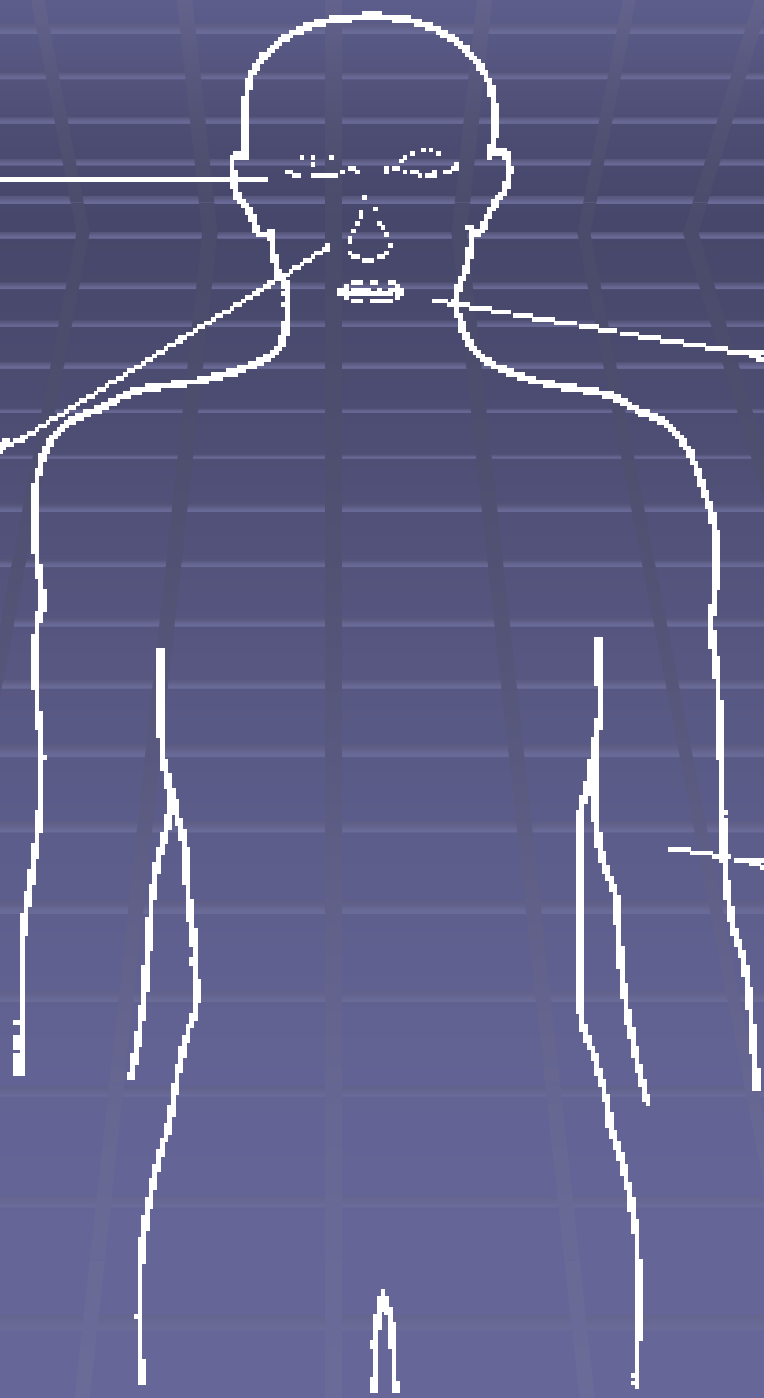
- Je to původce zoonóz
- ***Brucella abortus*** je kraví patogen. Často napadá hovězí placenty, způsobujíc zmetání (potraty) skotu. U lidí způsobuje **Bangovu nemoc** (horečka, orgánová postižení atd.)
- Dalšími brucelami jsou ***Brucella suis*** z prasat, ***Brucella mellitensis*** z ovcí a koz a ***Brucella canis*** ze psů

**Conjunctivae**  
by aerosols or fingers

**Inhaled aerosols**  
Slaughterhouse procedures  
Laboratory accidents  
Veterinary manipulations

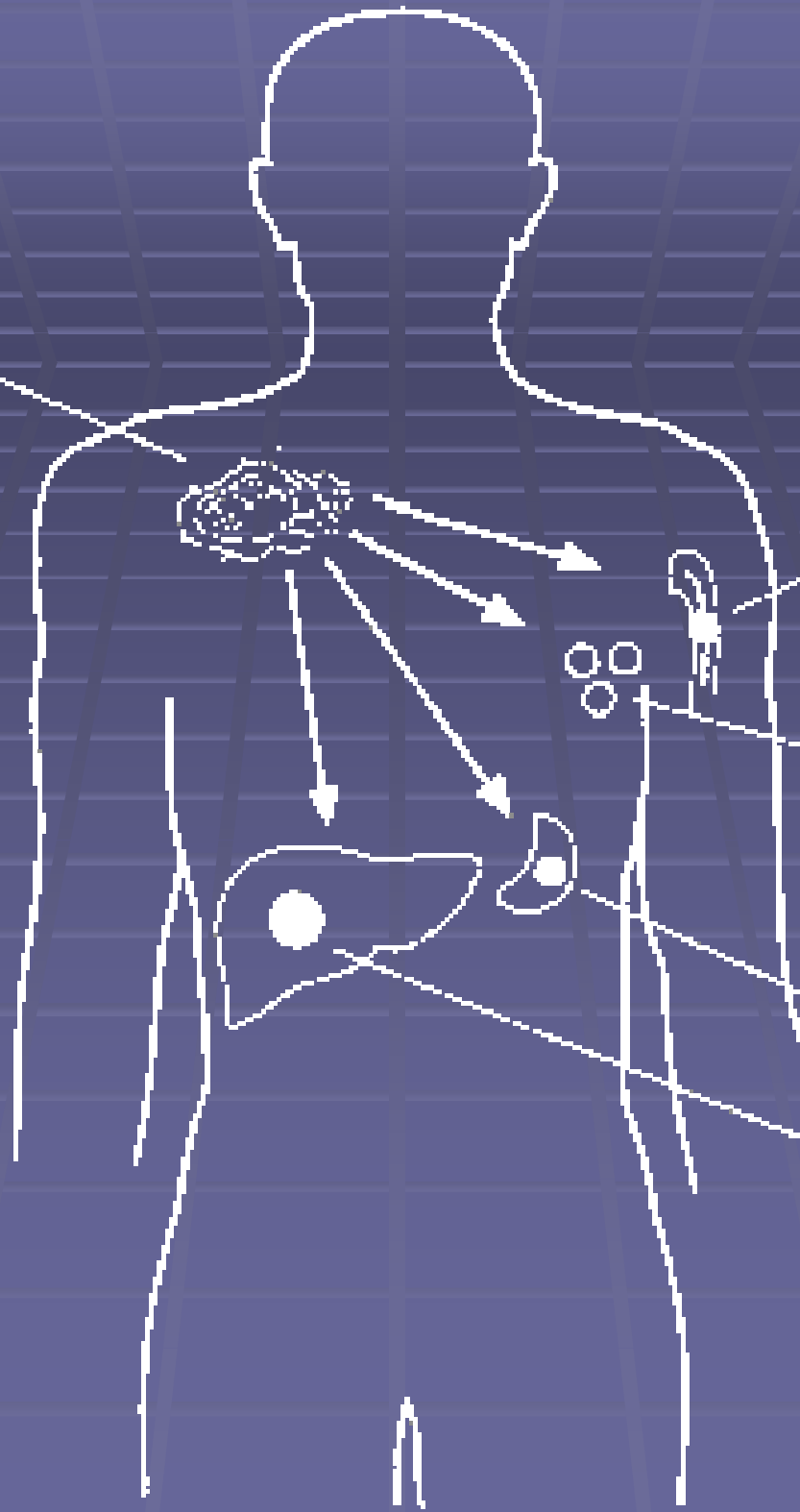
**Ingestion**  
Dairy products  
Contaminated fingers

**Abraded skin**  
Veterinarians  
Abattoir workers





*Brucella*-infected  
phagocytic cell



Bone marrow

Lymph nodes

Spleen

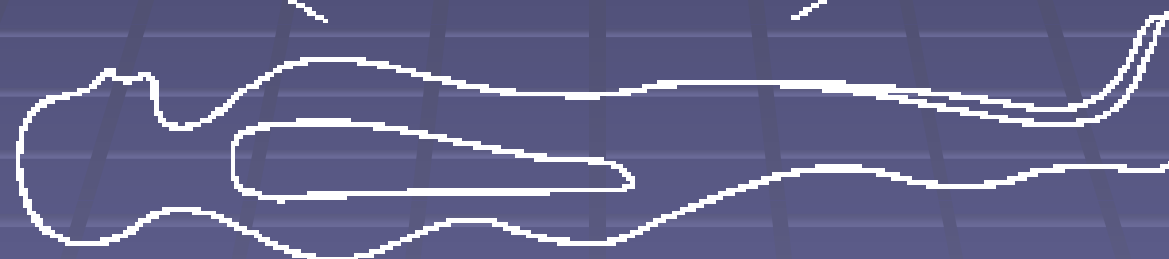
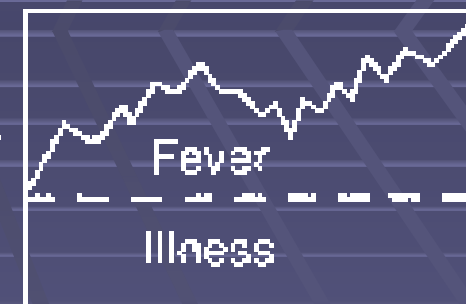
Liver

# History and Physical Exam

## Clinical

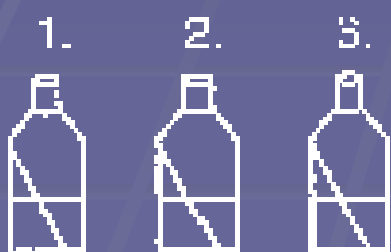
Occupation  
Raw milk  
Fresh cheese  
Travel  
Symptoms  
Signs

## Course of disease

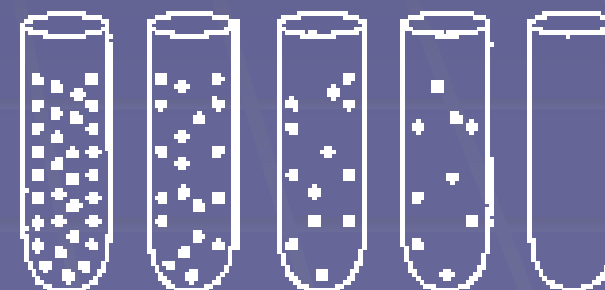


## Laboratory

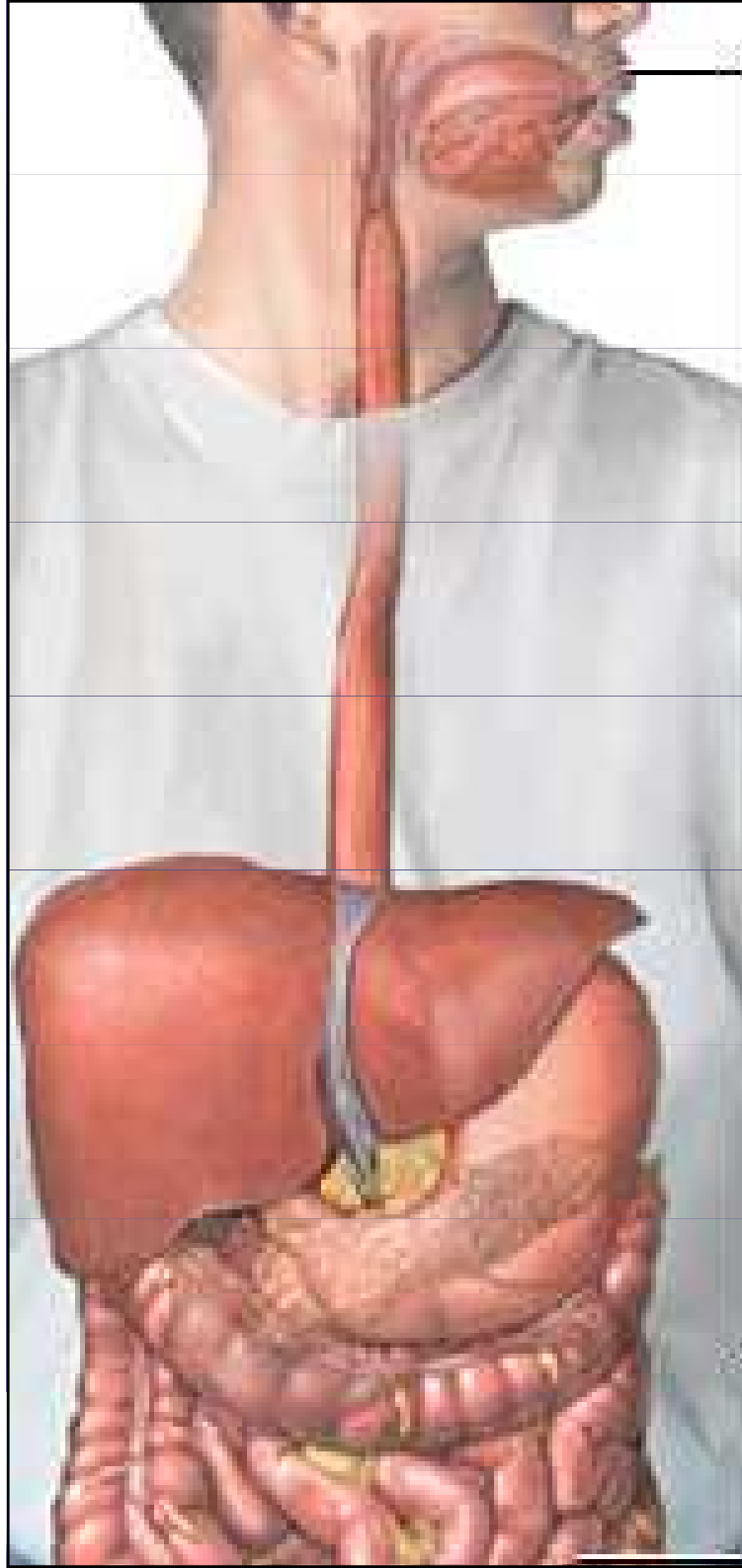
### Blood cultures



### Quantitative serology



Brucella bacteria is usually transmitted to humans by contact with infected farm animals.



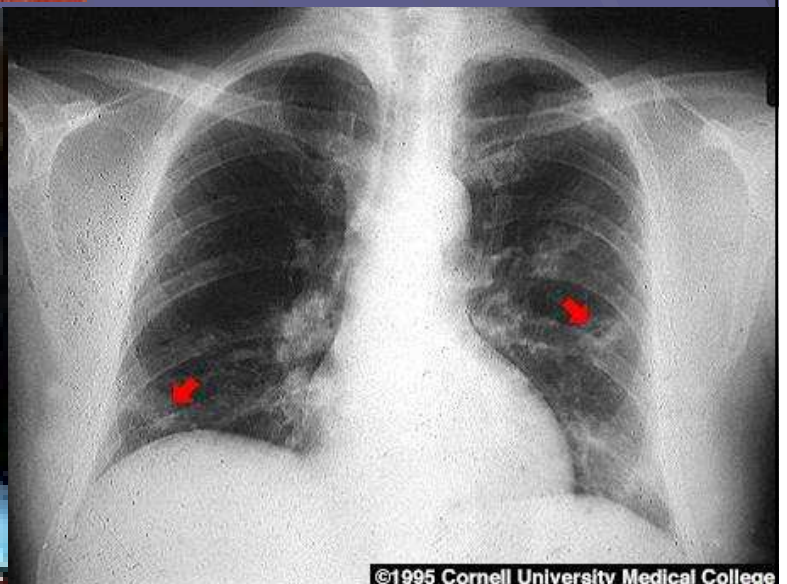
Digestive system

# Rod *Francisella*

- Nejdůležitějším druhem je *F. tularensis*
- Způsobuje tularemii – „zaječí mor“
- **Myslivci, ale ještě více kuchaři připravující zvěřinu jsou v riziku infekce**
- Tento organismus může napadat **rány**, ale také je možné jej vdechnout, což vede k **zápalům plic**

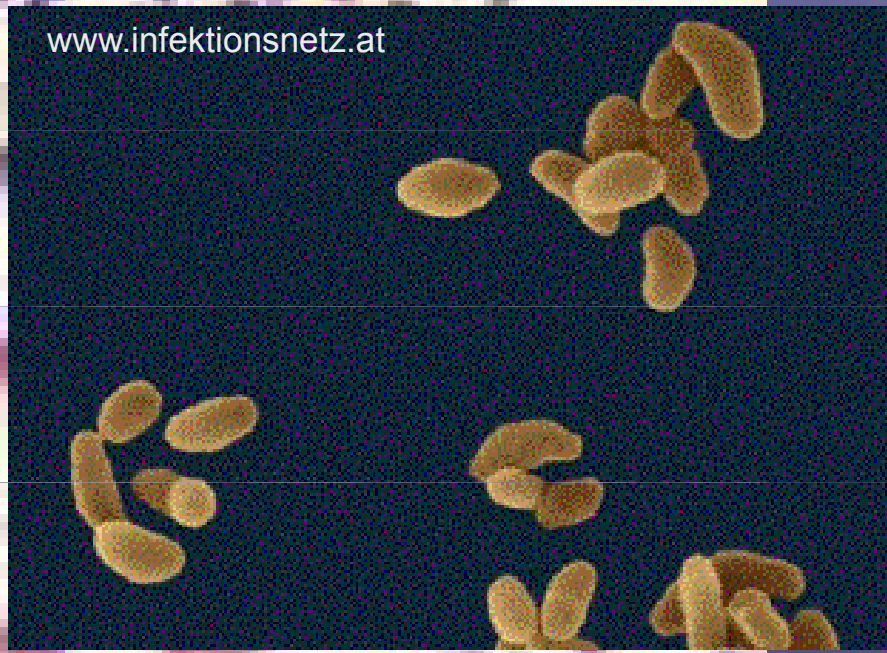
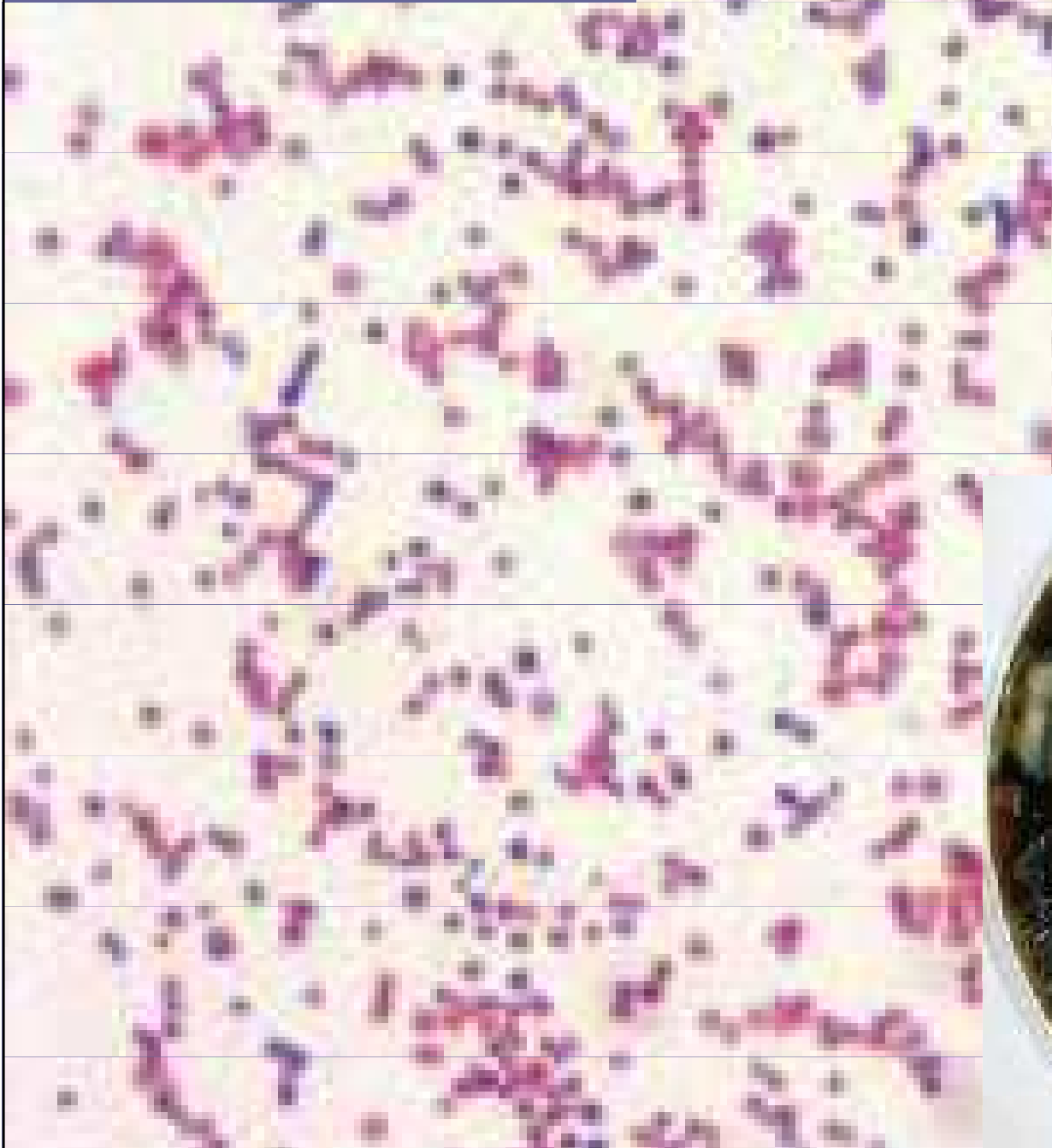


<http://www.antropozoonosi.it> (4x)



# Francisella

[www.infektionsnetz.at](http://www.infektionsnetz.at)



[www.stedim.com](http://www.stedim.com)

[www.wnysmart.org/tularemia](http://www.wnysmart.org/tularemia)

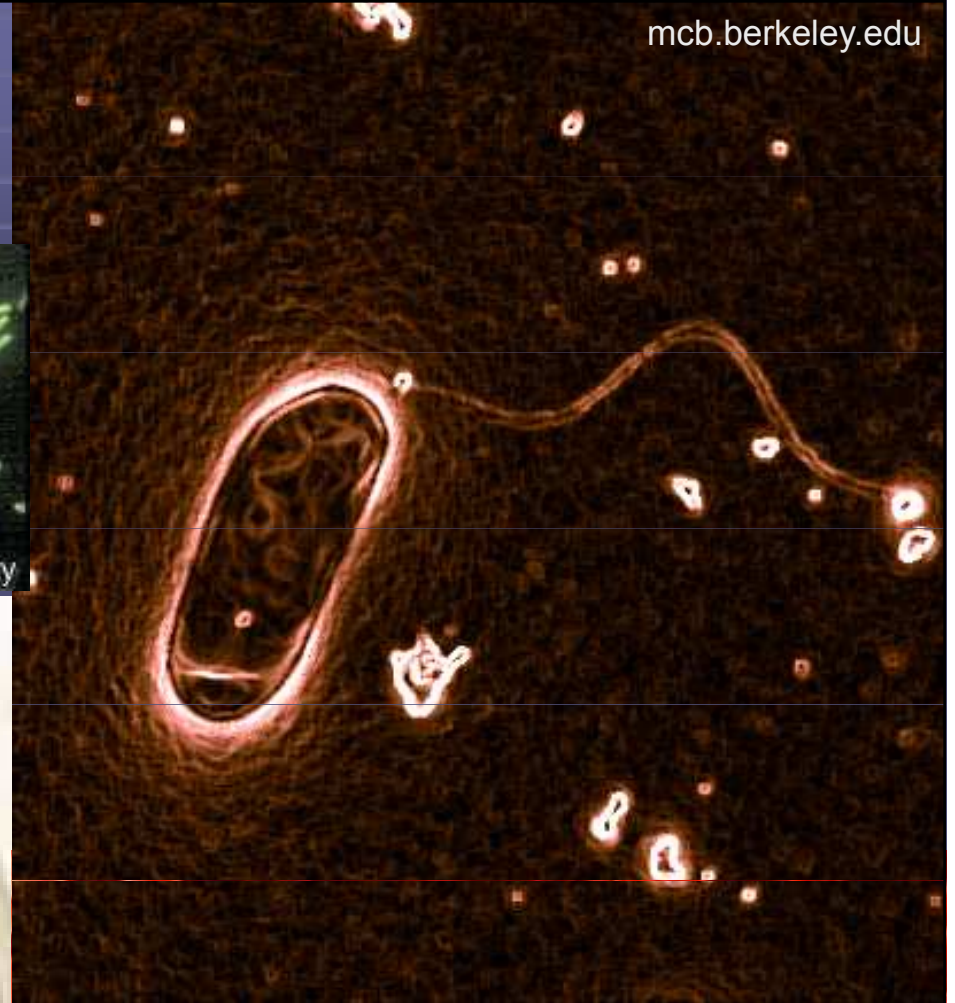
# Legionella

<http://www.eldersllp.com>



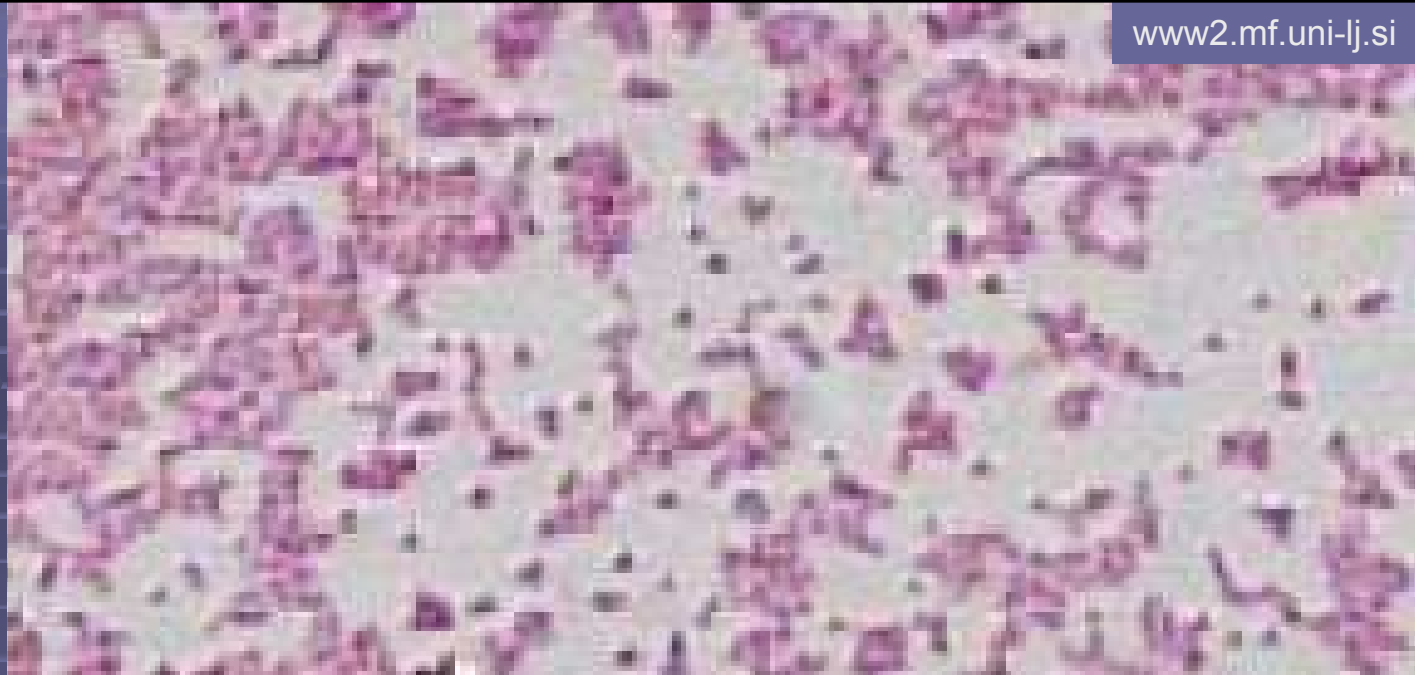
ASM MicrobeLibrary.org © Delisle and Tomalty

[www.rivm.nl/infectieziektenbulletin](http://www.rivm.nl/infectieziektenbulletin)



[www.chemistryquestion.com](http://www.chemistryquestion.com)

# Bordetella

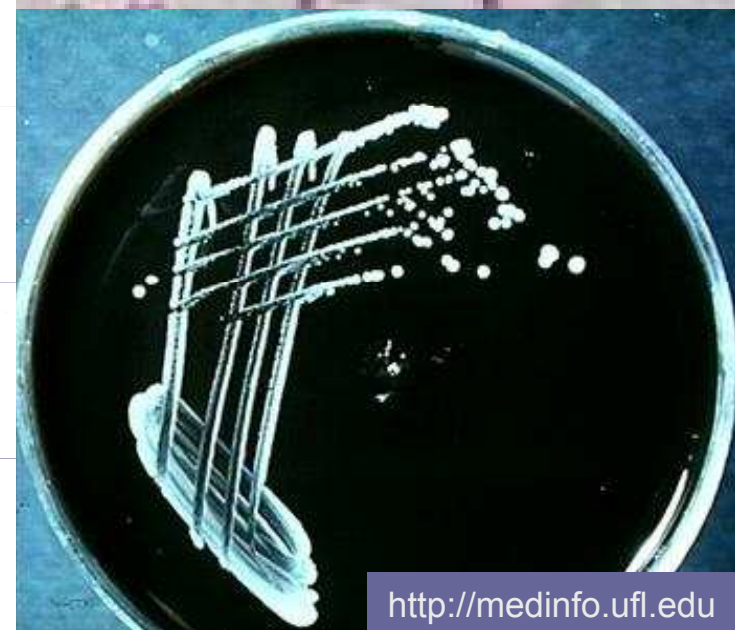
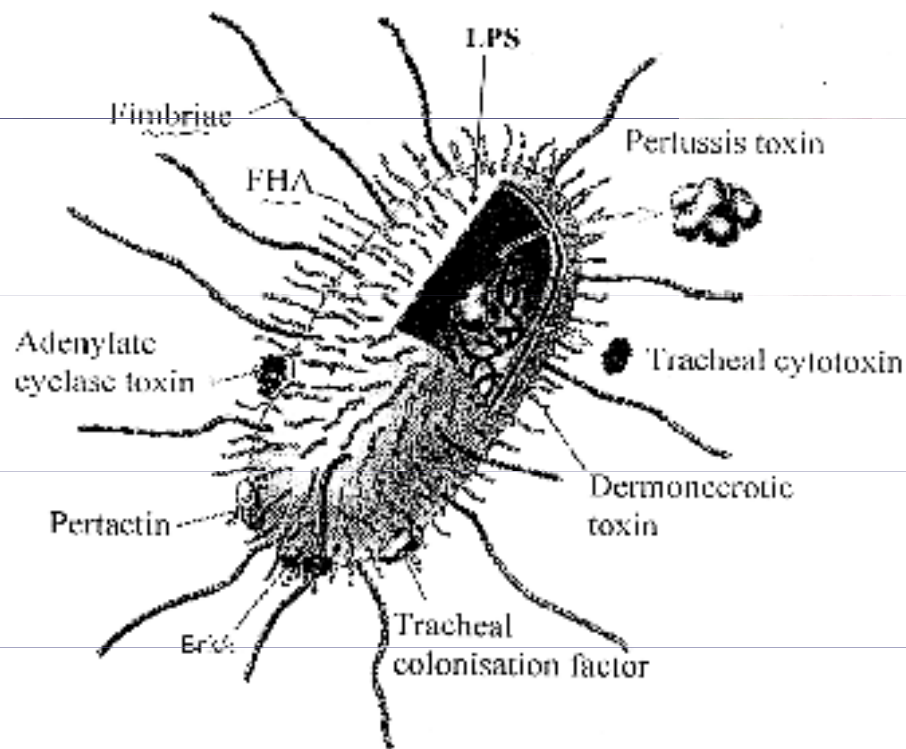


## *Bordetella pertussis*

Causitive agent of Whooping cough

- Small gram negative bacterium
- Many virulence factors

- Adhesins: **Pertactin**  
 FHA  
 Fimbriae
- Toxins: **Pertussis toxin**  
 ACT  
 TCT  
 LPS





# Brucella



<http://pathport.vbi.vt.edu>

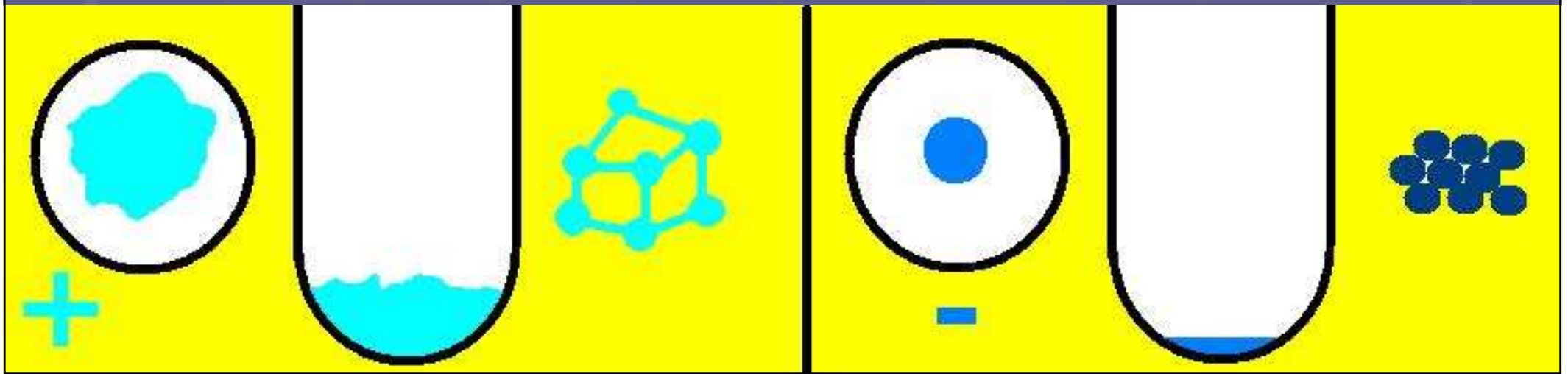
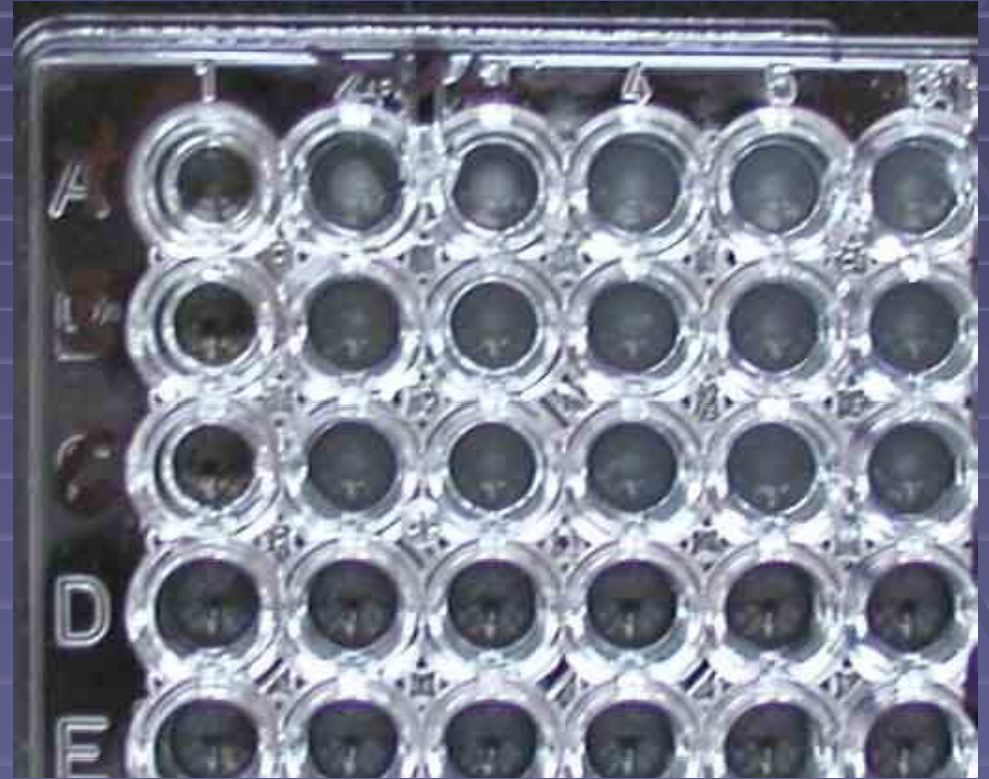
Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

# „Další G- bakterie“ – charakteristika

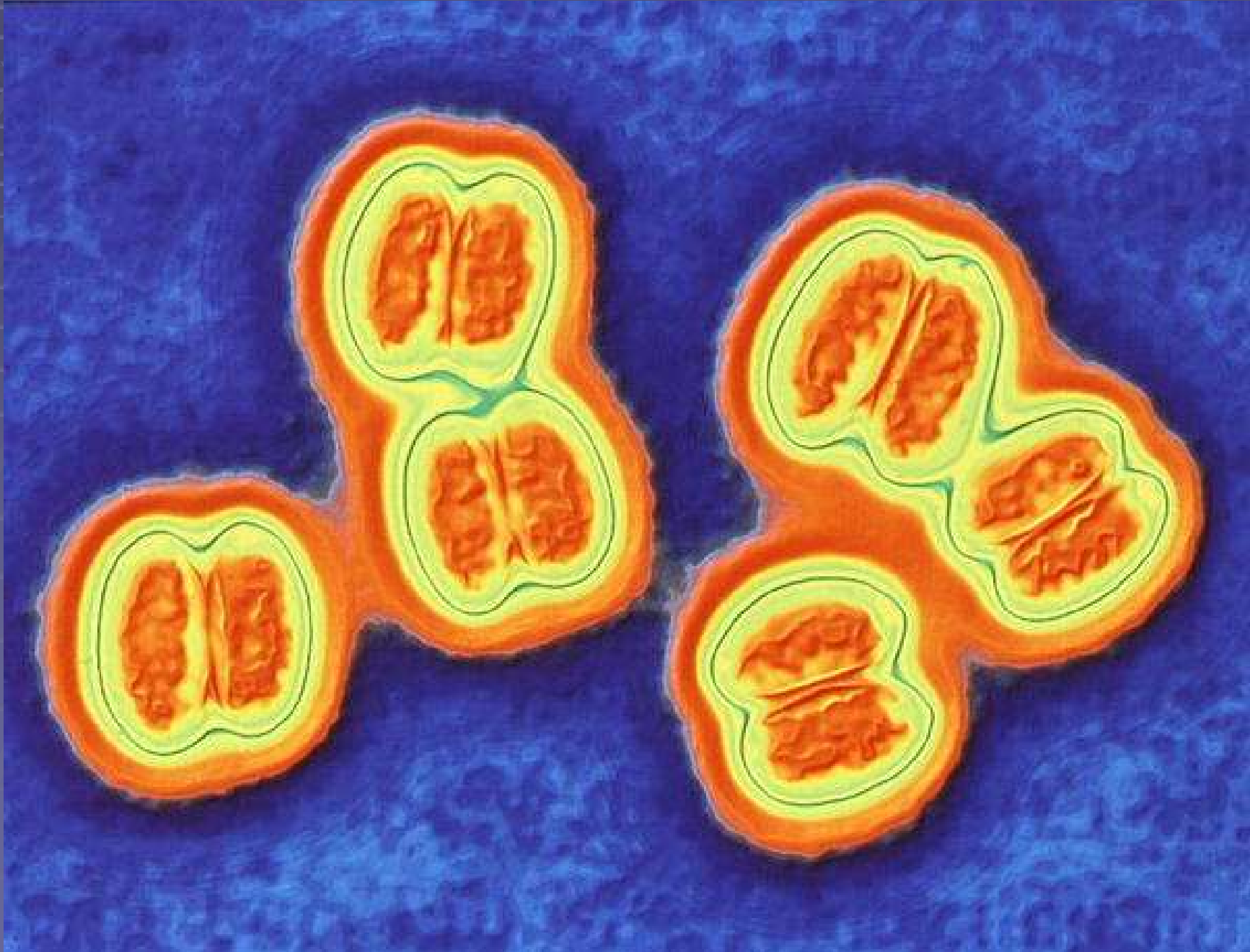
- Mikroskopie: G – tyčky, často krátké
- Kultivace: zpravidla speciální půdy (BG pro bordetely, BCYE pro legionely atd).
- Biochemická identifikace: některé znaky mohou být využity
- Antigenní analýza: někdy užitečná
- Nepřímé metody se využívají, nejspíš u tularémie

# Odečet aglutinačního setu u francisel

- Používá se nepřímý průkaz aglutinací
- Počítá se titer – tedy nejvyšší ředění, kdy ještě nalézáme pozitivní reakci



# 7. Neisserie a moraxelly



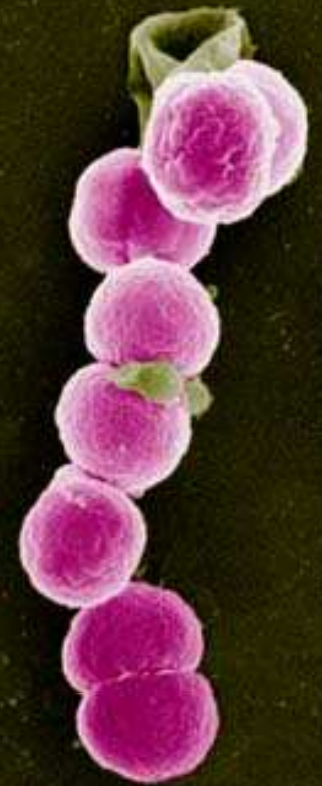
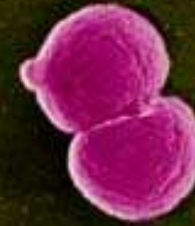
# Příběh první



- Honza byl mamčin mazlíček a s holkami to neuměl. Tak se stalo, že ještě ve dvaceti neměl žádnou sexuální zkušenost. Kamarádi z něj měli legraci. Jednou se na něj domluvili, opili ho a zaplatili mu „společnici“ na večer. Honza měl pocit, že je konečně mužem... jenže pak přišlo svědění a odkapávání hnisu z močové trubice.

# Určitě tušíte, kdo je viníkem

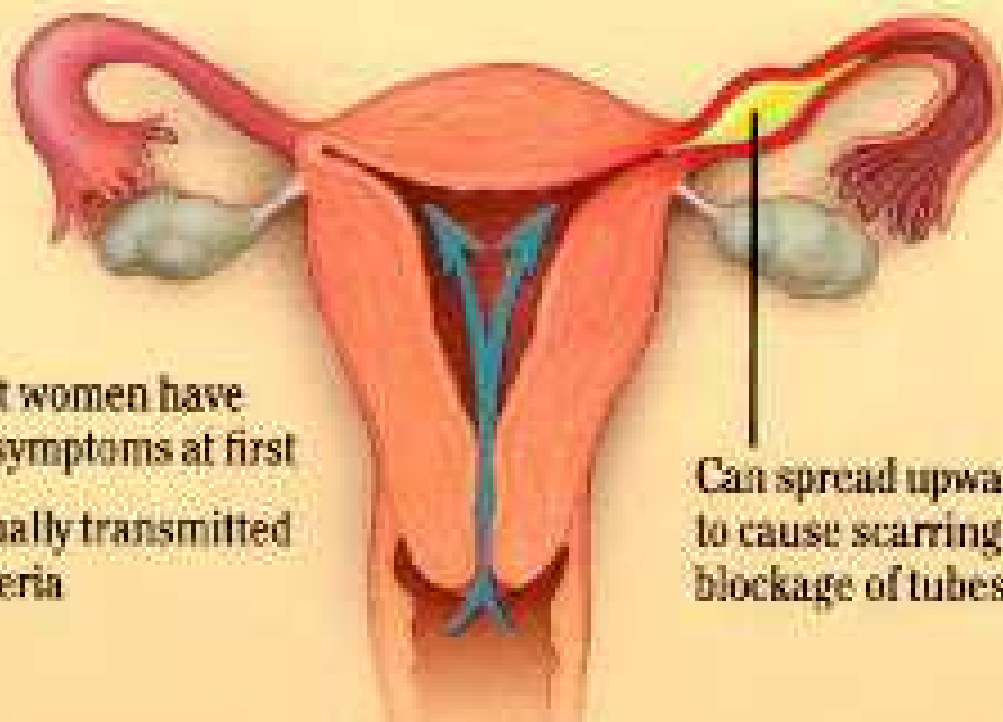
- Samozřejmě, je to *Neisseria gonorrhoeae*, (gonokok) původce kapavky.
- Kapavka se projevuje jako zánět uretry, u žen také cervixu; asymptomaticky či symptomaticky se gonokoky vyskytují i ve faryngu a v rektu.
- U žen naopak nejde o kolpitudu (zánět pochvy) a proto pochva není místem, odkud by bylo doporučeno odebírat u podezření na kapavku výtěry



# Honzova partnerka z oné noci...

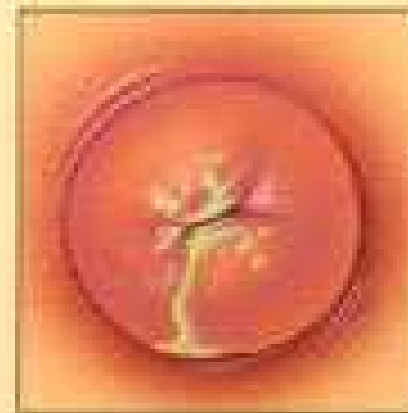
nova.medicina.cz



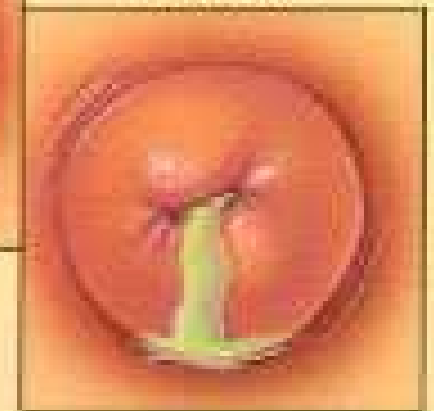


- Most women have NO symptoms at first
- Sexually transmitted bacteria

Chlamydia



Gonorrhea





# Příběh druhý

- Lucie se už čtyři týdny učila na zkoušku z fyziologie. Vůbec nevycházela z domu a jen seděla na zadnici. U zkoušky měla pocit, že ze sebe nic nevydoluje, ale nakonec si na cosi vzpomněla a prolezla s E-čkem
- Večer to s kamarádkami šla oslavit na taneční party. Bylo tam nakouřeno a tancovalo se do hluboké noci. Druhý den Lucce nebylo dobře, začala mít teploty a pak se objevila i vyrážka.

# (pokračování)



- Až tehdy se nechala odvézt do nemocnice na infekční oddělení. V sanitce upadla do bezvědomí a lékaři konstatovali rozvrat metabolismu. Po deseti hodinách marné snahy o zachování základních životních funkcí Lucka zemřela.
- Takový průběh může bohužel někdy mít infekce způsobovaná velmi zákeřným pachatelem. Některé jeho kmeny jsou přítomny v krku zcela zdravých osob...

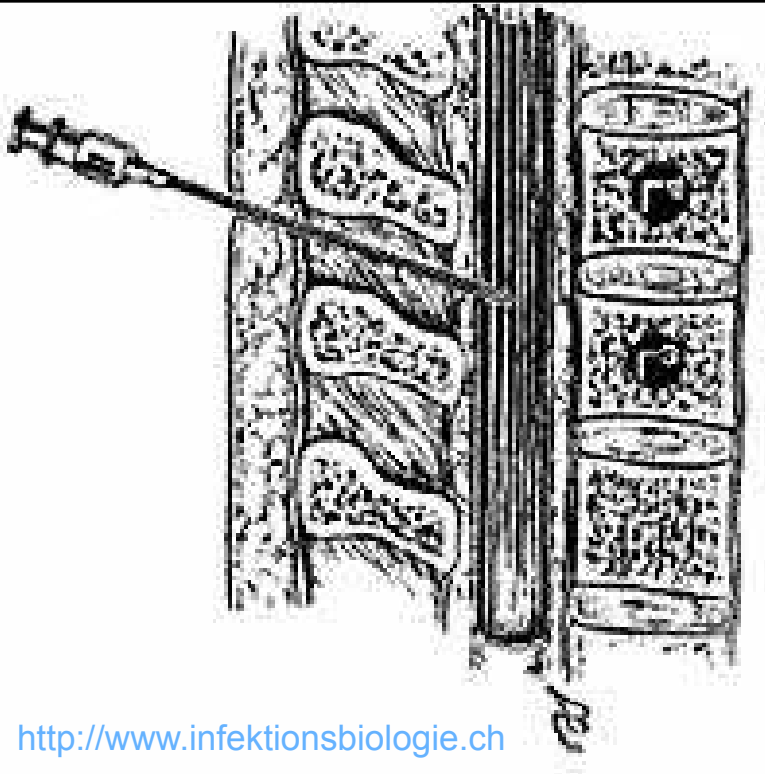
# A tímto viníkem je...

- ... *Neisseria meningitidis* neboli meningokok
- Meningokok způsobuje meningitidy, ale i sepse a jiné závažné stavy; to vše se týká tzv. **klonálních kmenů**.
- Jiné kmeny jsou ale docela nevinné a udává se, že **asi deset procent populace má meningokoka v krku**
- Virulence souvisí zřejmě především s výbavou **proteinovými antigeny**. Naopak **polysacharidové antigeny** určují především to, zda kmen je preventabilní očkováním



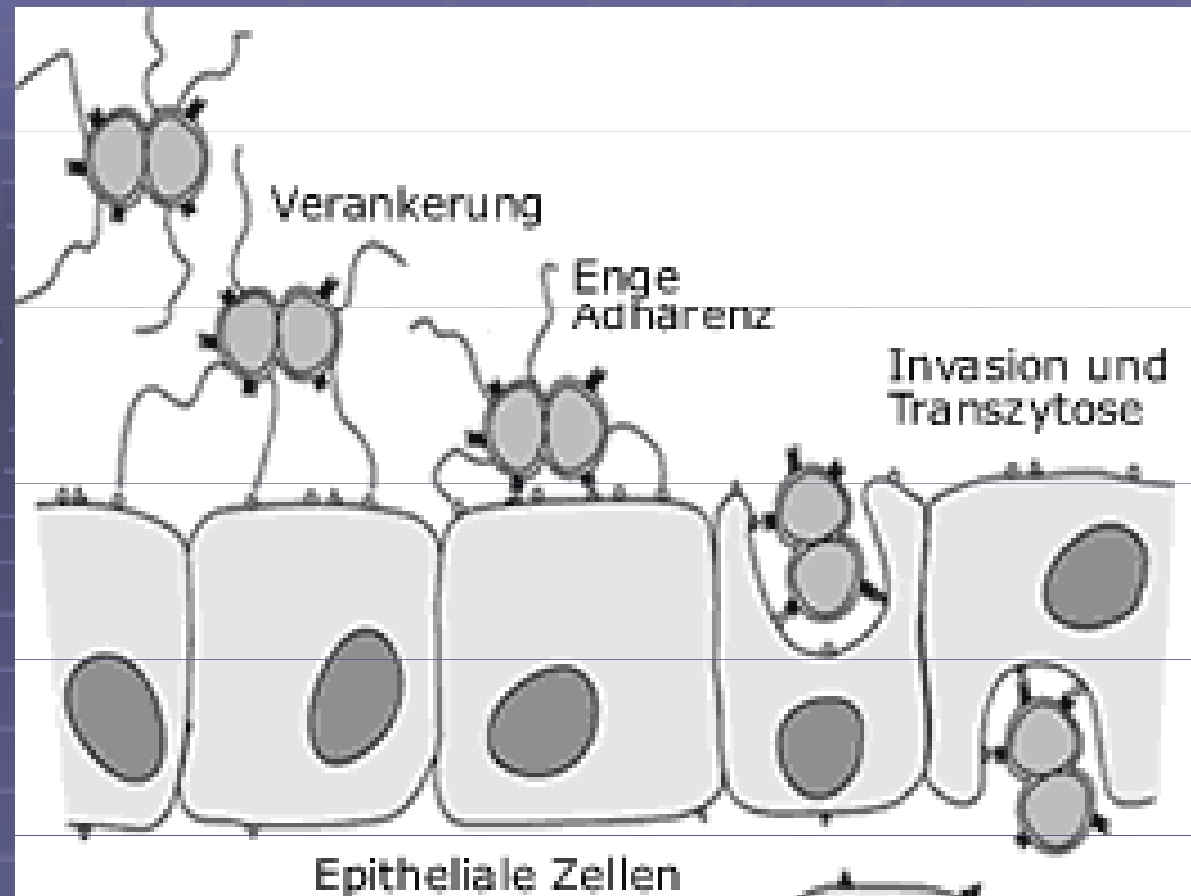
# Proč někdy infekce nastane a jindy se nic nestane

- K invazivní infekci dojde pouze pokud je kmen vysoce virulentní (specifické klony mikroba) a hostitelský organismus je vnímavý
- Meningokok se přenáší těsným kontaktem. Invazivní infekci napomáhá narušení sliznice, např. i kouřením či předchozí virovou infekcí.
- Infekce propukne často tehdy, když je tělo oslabeno neúměrnou fyzickou námahou po předchozí inaktivitě



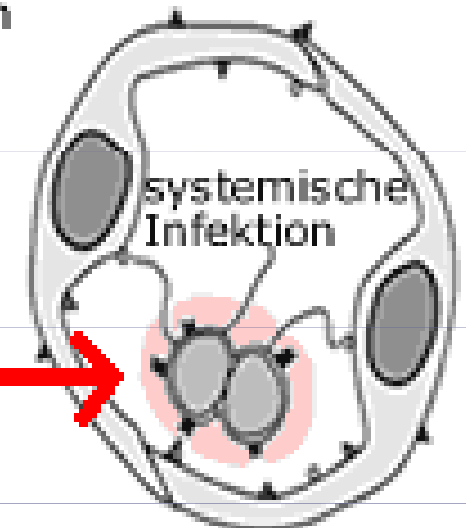
# Odběr likvoru

Takto pronikají  
do tkání



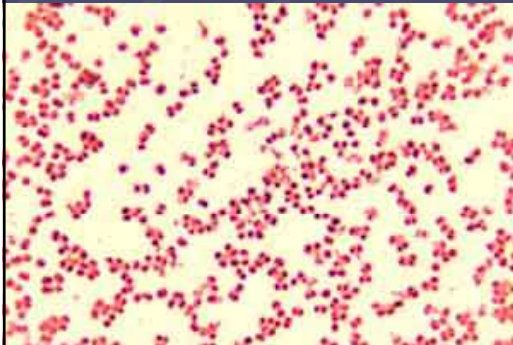
<http://www.infektionsbiologie.ch>

**Kapsel** →



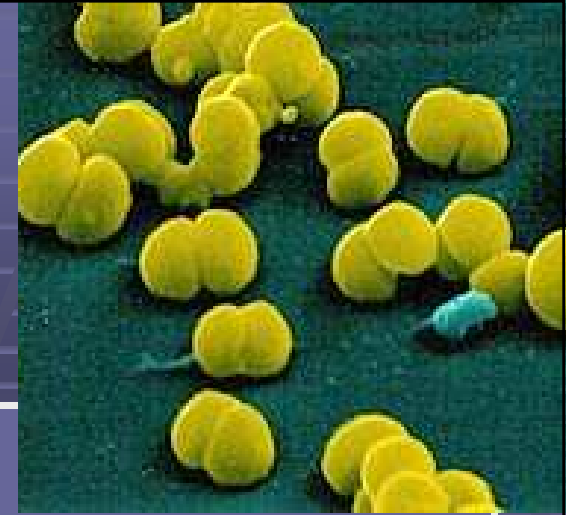
Mit freundlicher Genehmigung  
© Dehio

# Meningokoková meningitida je celosvětově velmi závažnou nákazou



„Meningitis belt“,  
kde se hodně  
vyskytuje  
meningokoková  
meningitis

# Porovnejme neisserie:



	In vivo	In vitro
Gonokok	Nejchoulostivější, přenos jen sexuální	Nejchoulostivější, roste jen na čokoládovém agaru
Meningokok	Méně choulostivý, přenos na krátké vzdálenosti i kapénkami	Méně choulostivý, je-li krevní agar obohacen, může na něm růst
Tzv. „ústní“ neisserie	Nejméně choulostivé	Roste i na chudém krevním agaru

# Příběh třetí

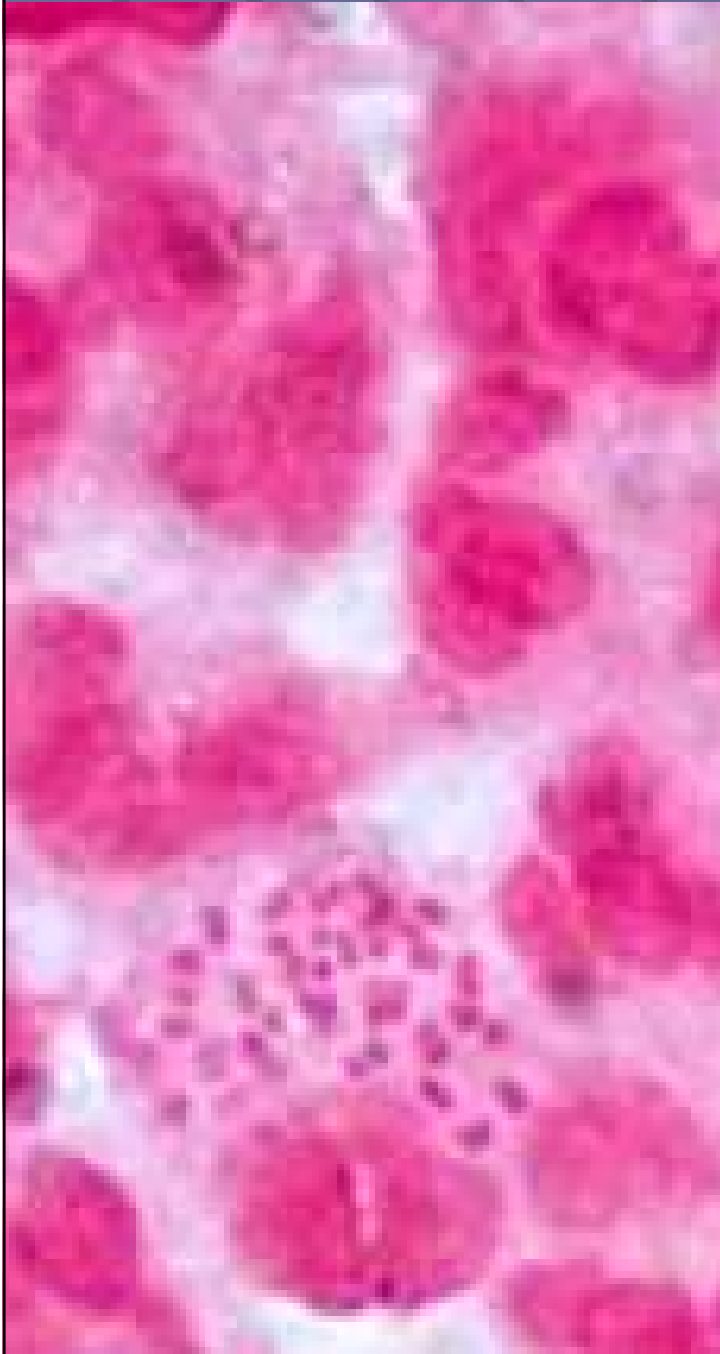
- Anička **plakala a chytala se za ucho**.  
Maminka jí změřila teplotu, a ta byla zvýšená
- V ordinaci praktického lékaře pro děti a dorost byla vyšetřena a stanovena diagnóza **zánětu středního ucha**
- Jelikož **bubínek již byl prasklý**, hnis byl zaslán k vyšetření
- Okamžitě byl nasazen **amoxicilin**, následně byl vyukultivován **citlivý patogen**



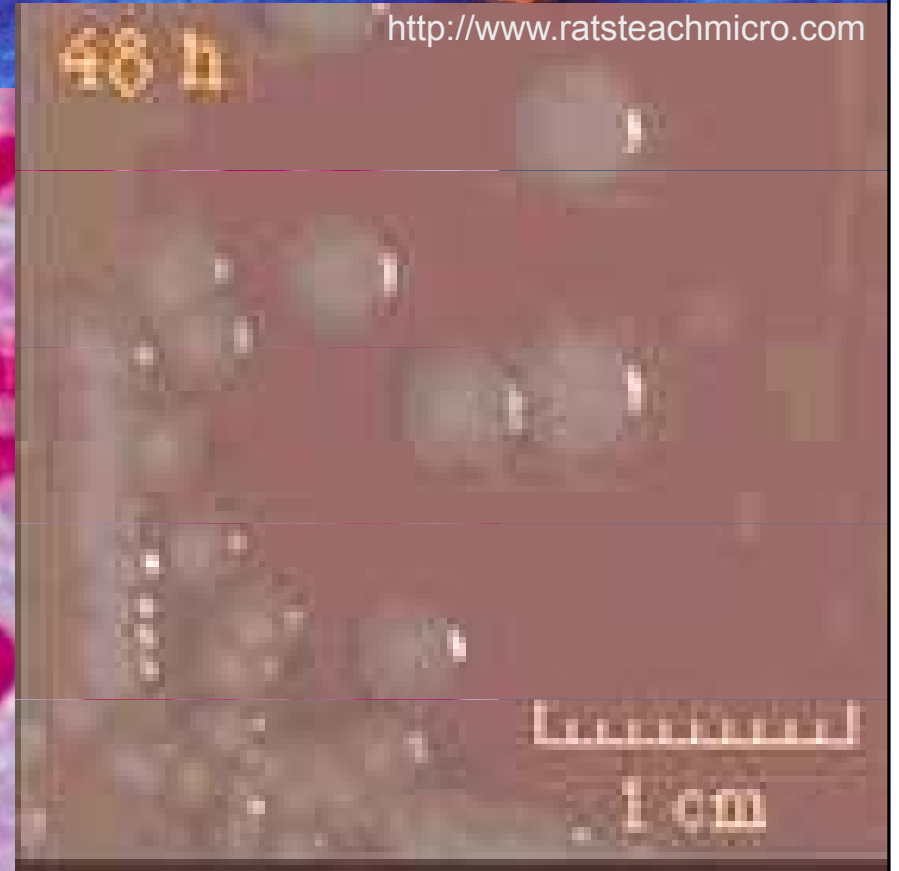
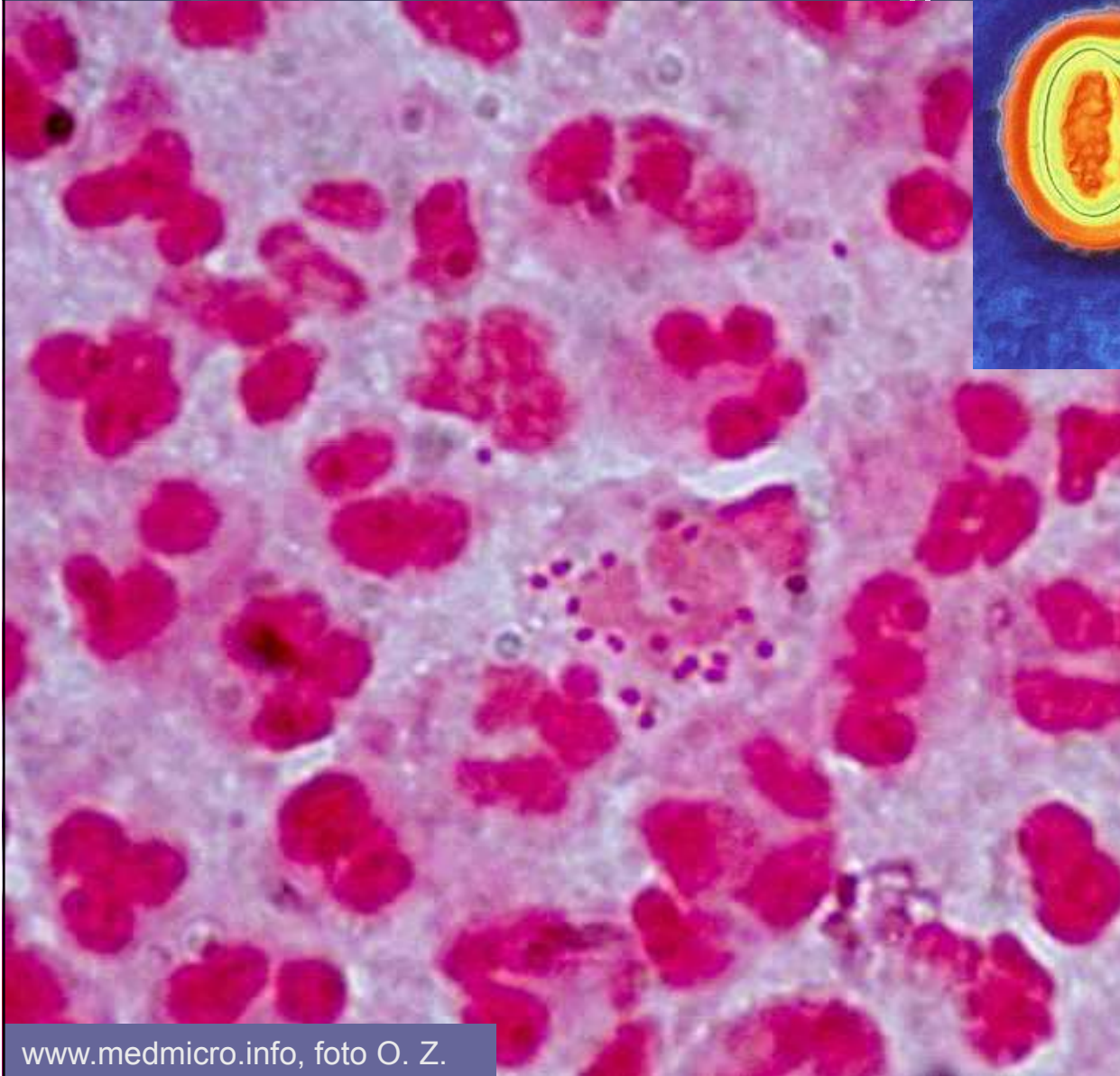
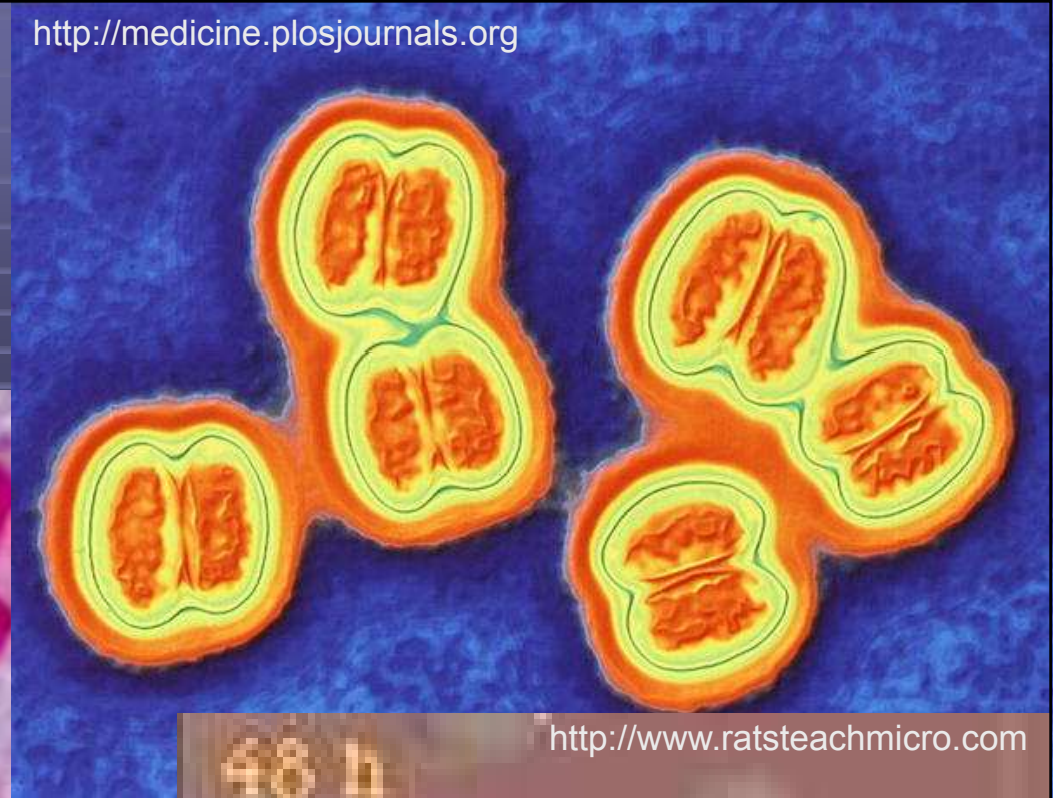
# A tím patogenem byla

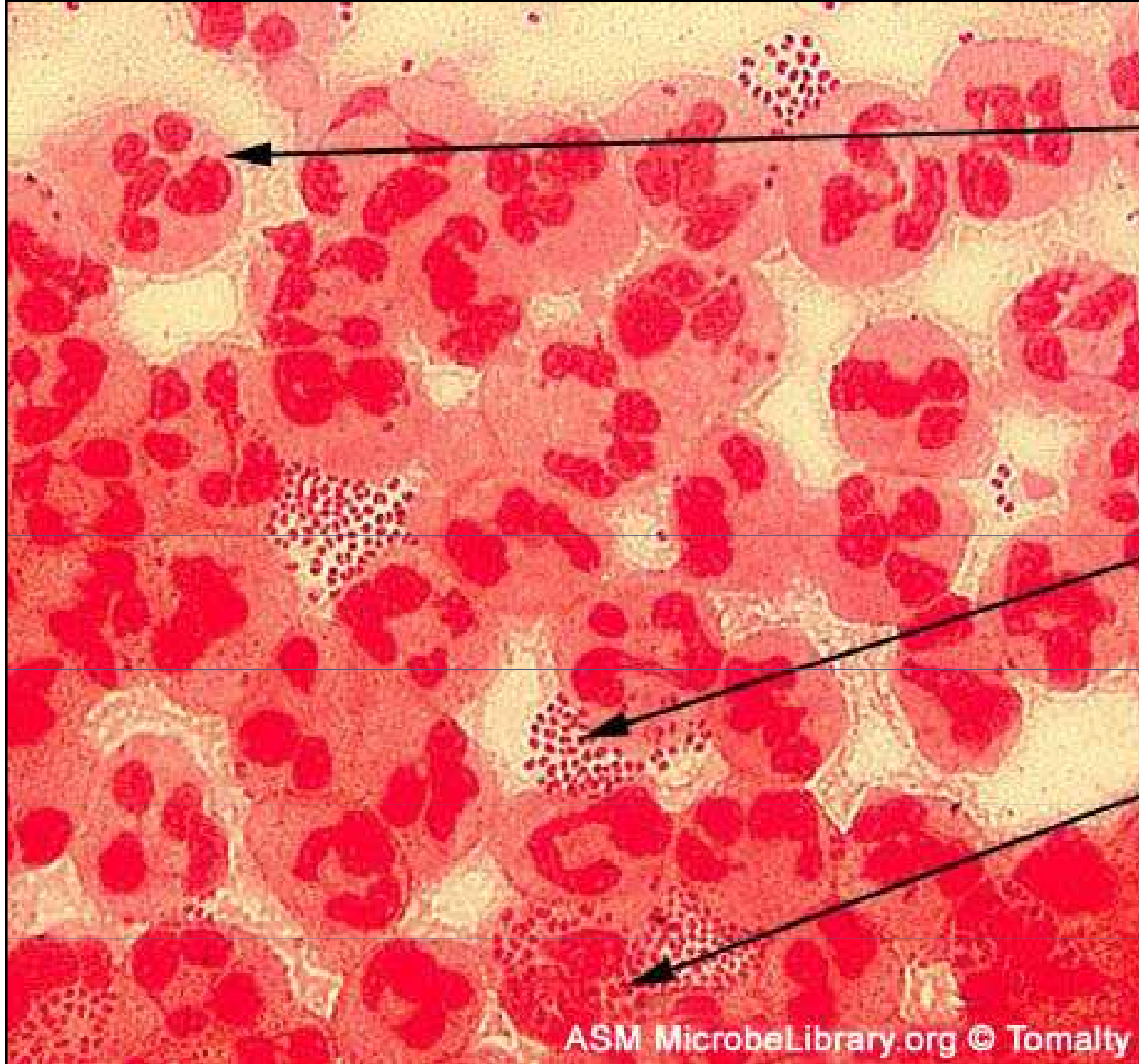
- *Moraxella* (dříve *Branhamella*) *catarrhalis*
- Tento organismus bývá přítomen u zdravých osob v malém množství ve faryngu
- V čisté kultuře způsobuje **sinusitidy, otitis media, faryngitidy** a podobně.
- Její původní jméno *Branhamella* je odvozeno od Sáry Branhamové, jedné z prvních žen-badatelek. Byla to jedna ze statečných žen, které ukázali mužům, že nejen oni mohou být dobrými vědci

# Fotografie zločinců: Gonokoky



# Gonokoky





polymorphonuclear leukocyte

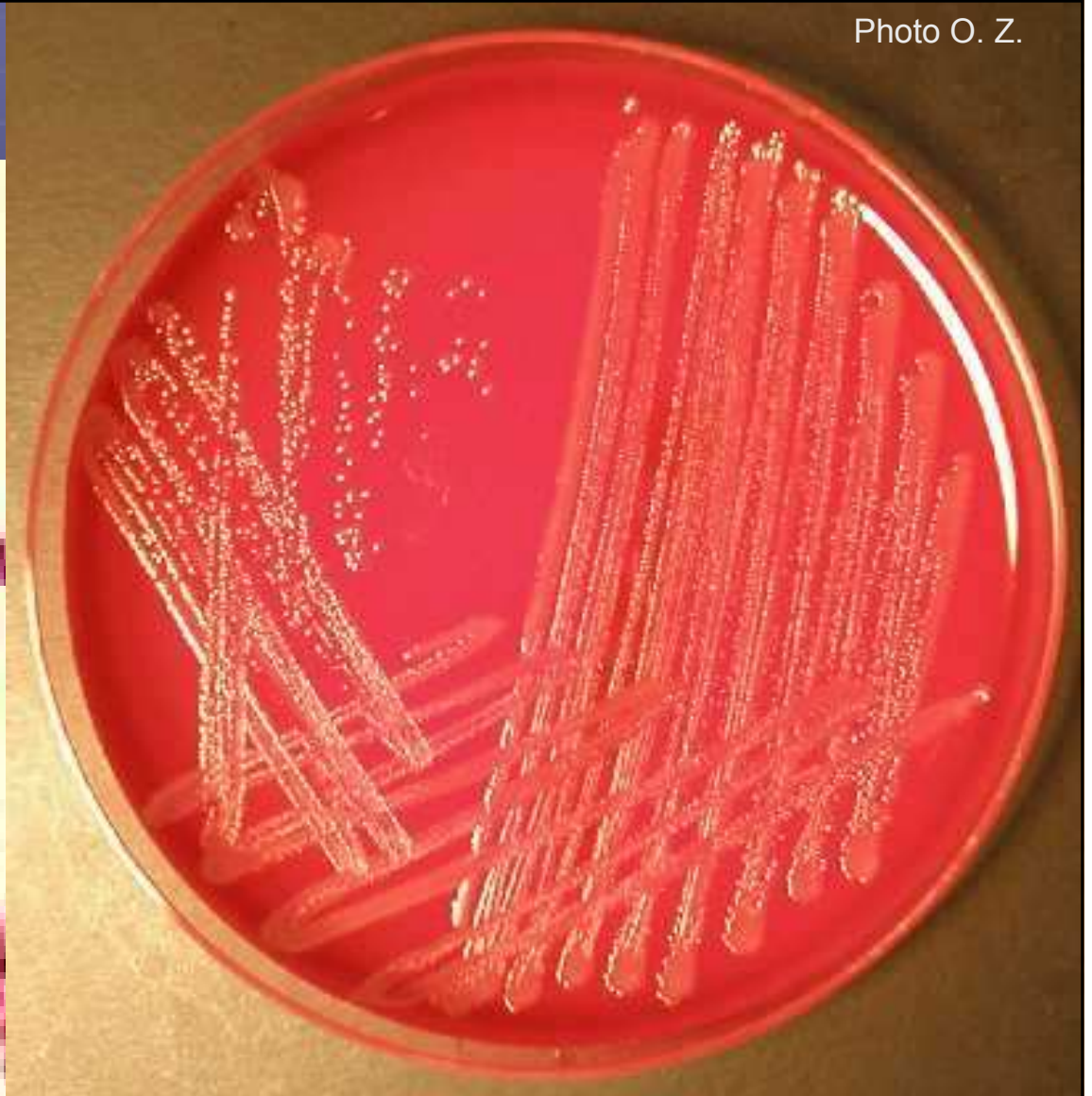
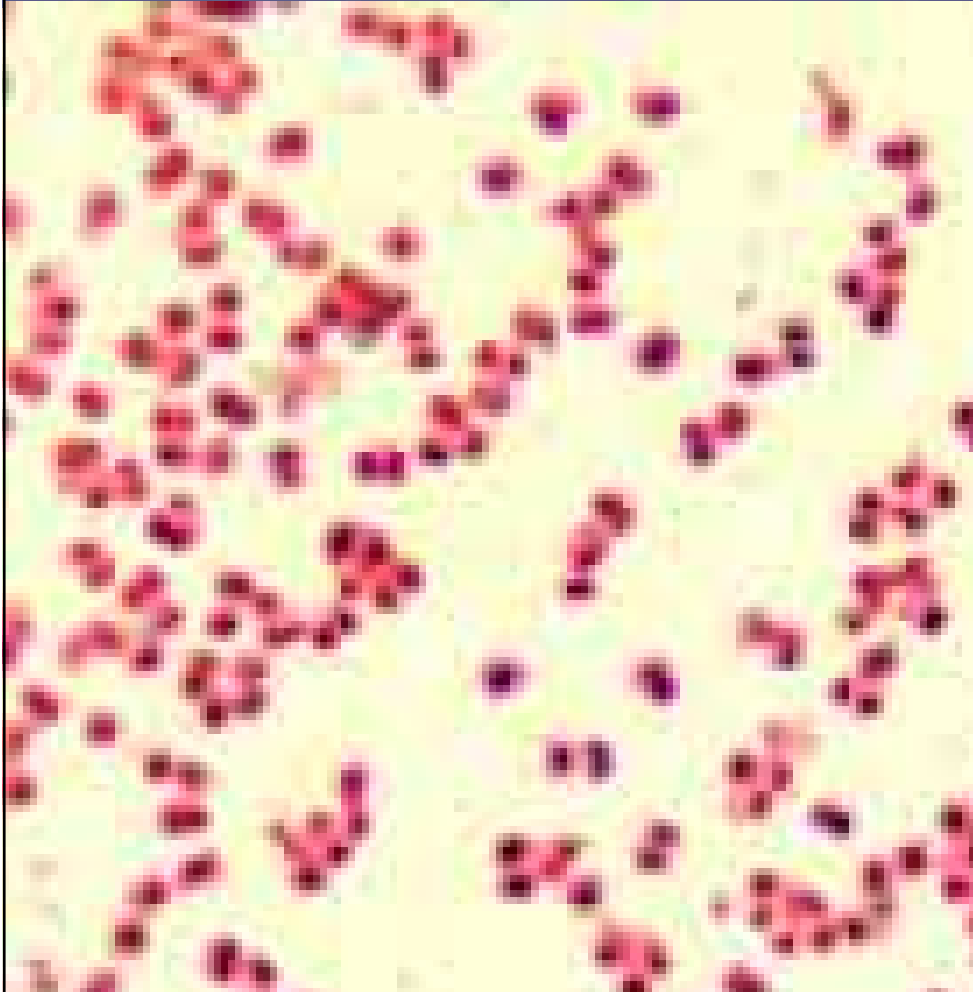
Extracellular gram-negative diplococci

Intracellular gram-negative diplococci

ASM MicrobeLibrary.org © Tomalty

# Meningokoky

Photo O. Z.



## Microscopic Pictures Of Neisseria (Gram-negative Diplococci)

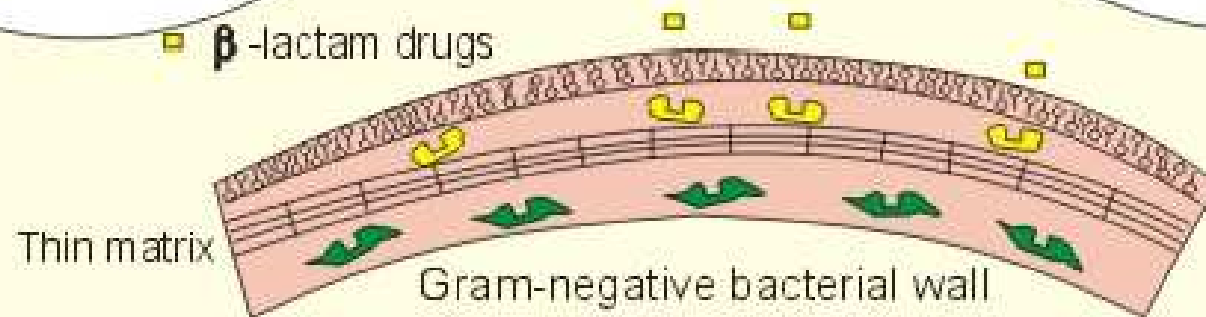
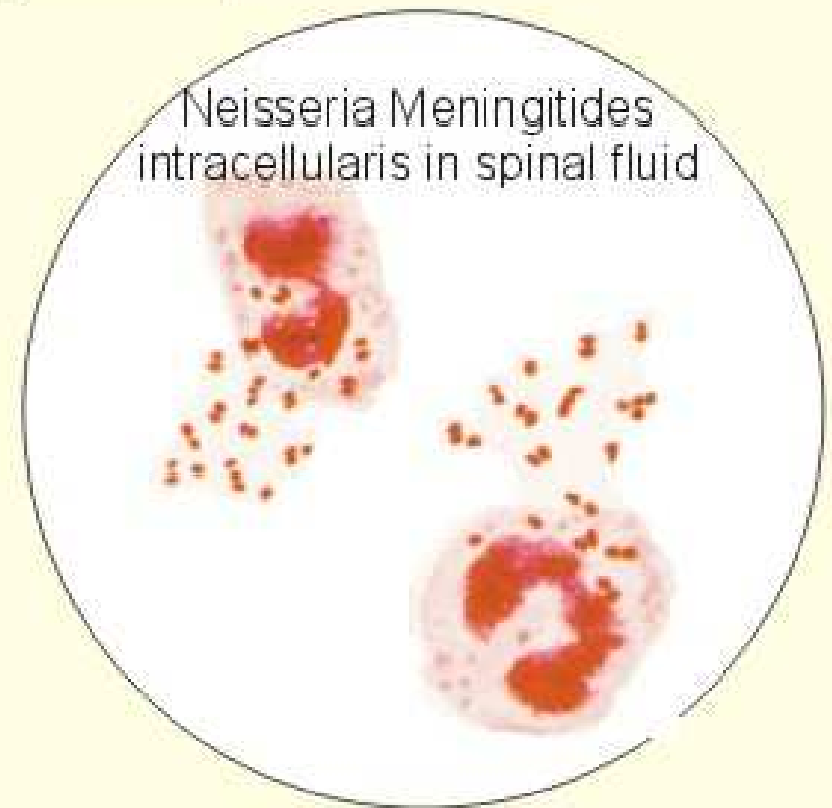
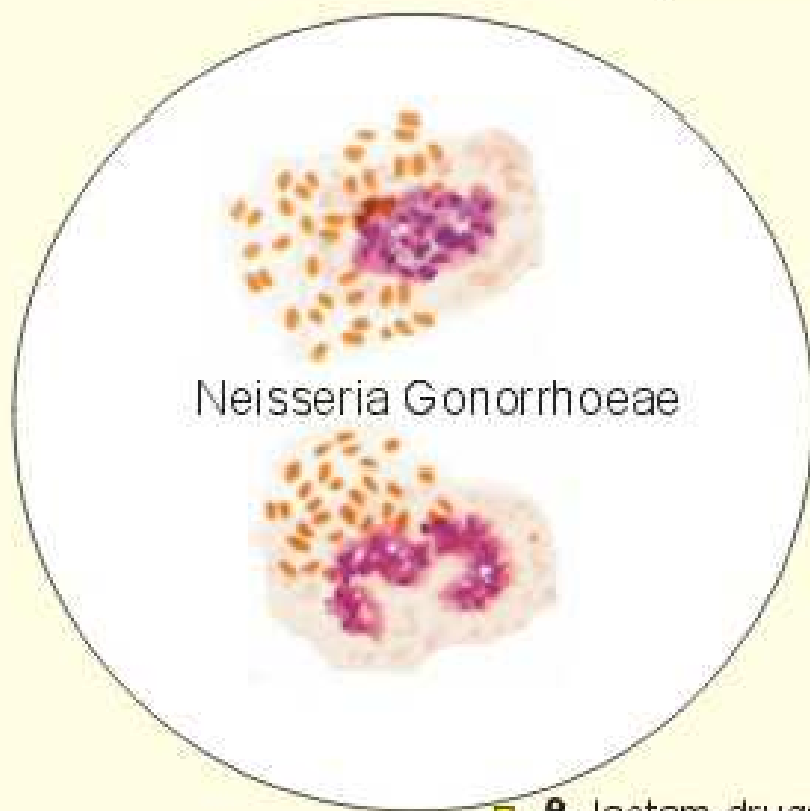
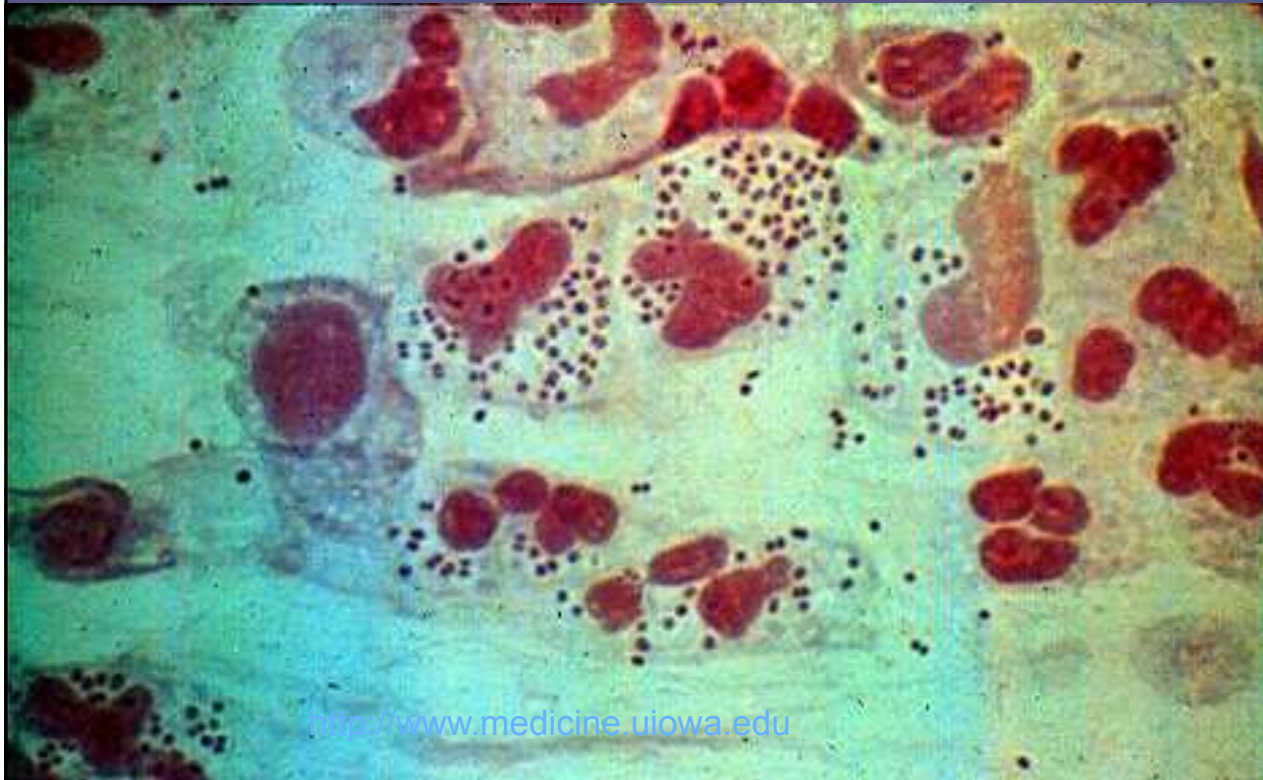


Fig. 33-3

KMc

# *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*



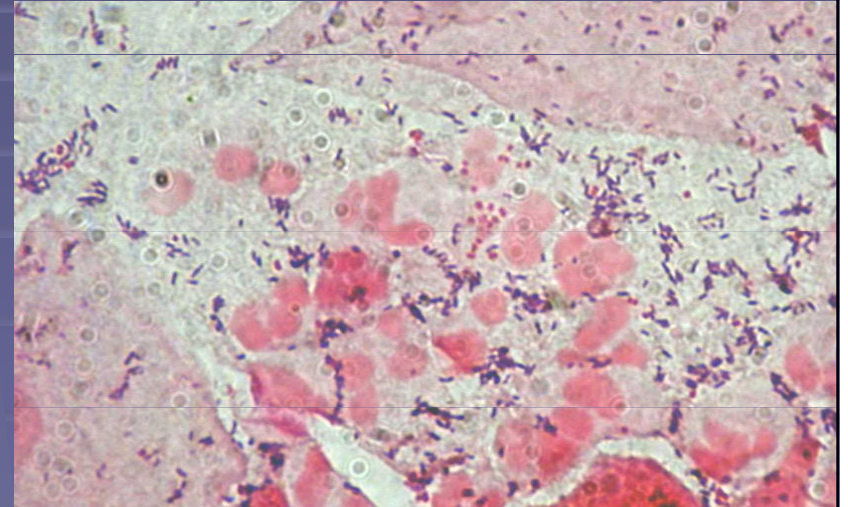
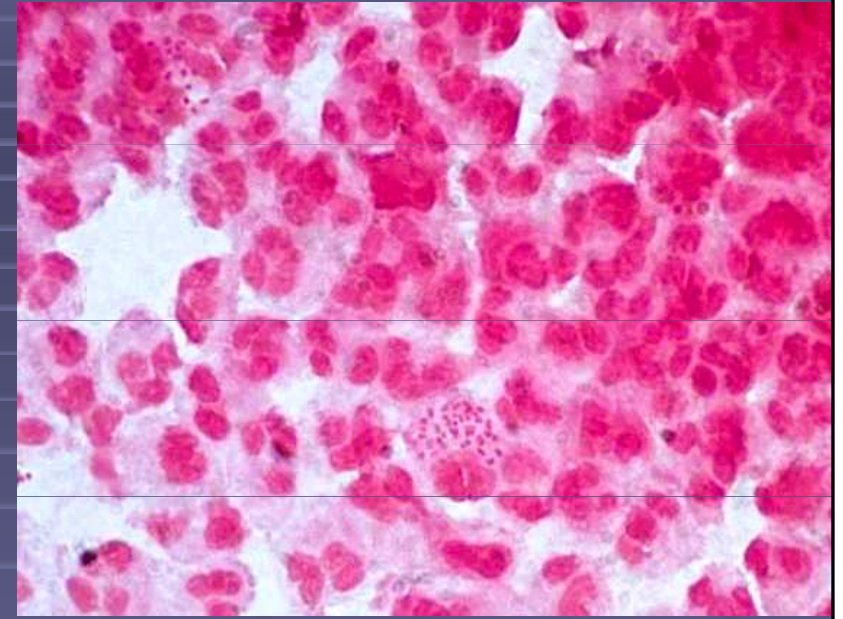
# Neisserie – charakteristika

- Mikroskopie: G – diplokoky tvaru kávového zrna, často intrecelulárně lokalizované
- Kultivace: drobné, bezbarvé nebo nažloutlé (podle druhu) kolonie, rostoucí (podle druhu) na krevním či čokoládovém agaru
- Biochemie: kataláza pozitivní, oxidáza pozitivní, vzájemně biochemicky rozlišitelné
- Antigenní analýza: velký význam u meningokoka, seroskupina B není preventabilní očkováním!



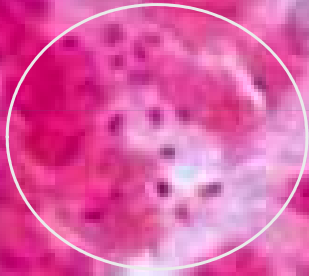
# Mikroskopie kapavky

- Všimněte si gramnegativních diplokoků tvaru kávového zrna, zejména intracelulárních. Intracelulární uložení je jejich typickou vlastností.



*Poněkud se liší vzhled preparátů od muže a od ženy*

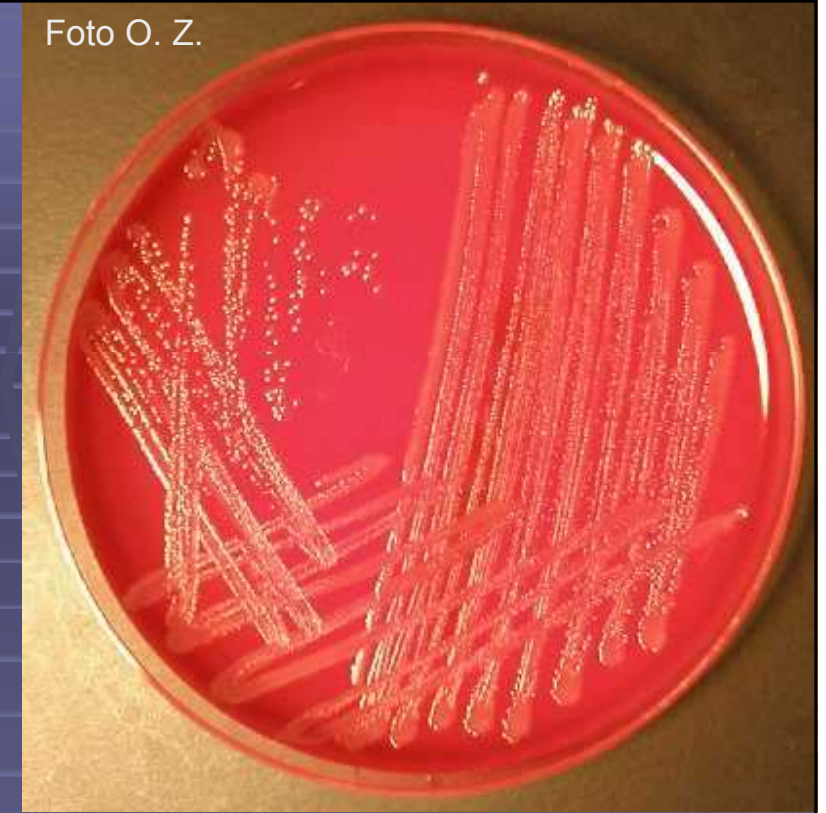
leukocyt s gonokoky



# Kultivace

- Popište kolonie gramnegativních koků na různých půdách, a hlavně si všimněte, jestli tam vůbec rostou.

Foto O. Z.




# Základní biochemické testy

- Rychlé testy s diagnostickými proužky velmi usnadňují diagnostiku
- Neisserie jsou oxidáza pozitivní, moraxely také, ale mohou mít opožděnou reakci.
- Moraxely se poznají podle pozitivního INAC testu
- U INAC testu se postupuje jako u oxidázy, ale proužek je nutno zvlhčit a je nutno pět minut počkat. Zbarvení je modrozelené.

# Druhové určení neisserií

- K druhovému určení neisserií se používají biochemické testy různé provenience, u nás zpravidla NEISSERIAtest
- Poměrně málo biochemicky aktivní jsou obě patogenní neisserie: gonokok štěpí jen glukózu, meningokok jen glukózu a maltózu.

<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Glucose and Maltose are oxidized to acids.	Only Glucose is oxidized to acid.
 <p><i>N. meningitidis</i></p> <p>C G M L S ENase <math>\beta</math>-Lac</p>	 <p><i>N. gonorrhoeae</i></p> <p>C G M L S ENase <math>\beta</math>-Lac</p>
Yol! Glucose and <b>M</b> altose for <b>MC</b> .	<b>G</b> lucose only for <b>GC</b> .



## NEISSERIA 4H

CONT. NEG.	GLU +	MAL +	FRU -	SAC -	ONPG -	TRI -	PS 24h
GGT +	NO <sub>3</sub> -	NO <sub>2</sub> (1)	NO <sub>2</sub> +/24	1395			

# Testy antibiotické citlivosti

- Antibiotická citlivost se u patogenních neisserií určuje na půdách, na kterých jsou schopny růst, tj. nikoli na MH agaru
- Lékem volby u meningokoka je stále klasický penicilin. Ten se osvědčují i u gonokoka. Další možností jsou makrolidy, chinolony či ceftriaxon.

# Antibiotika užívaná u meningokokových infekcí

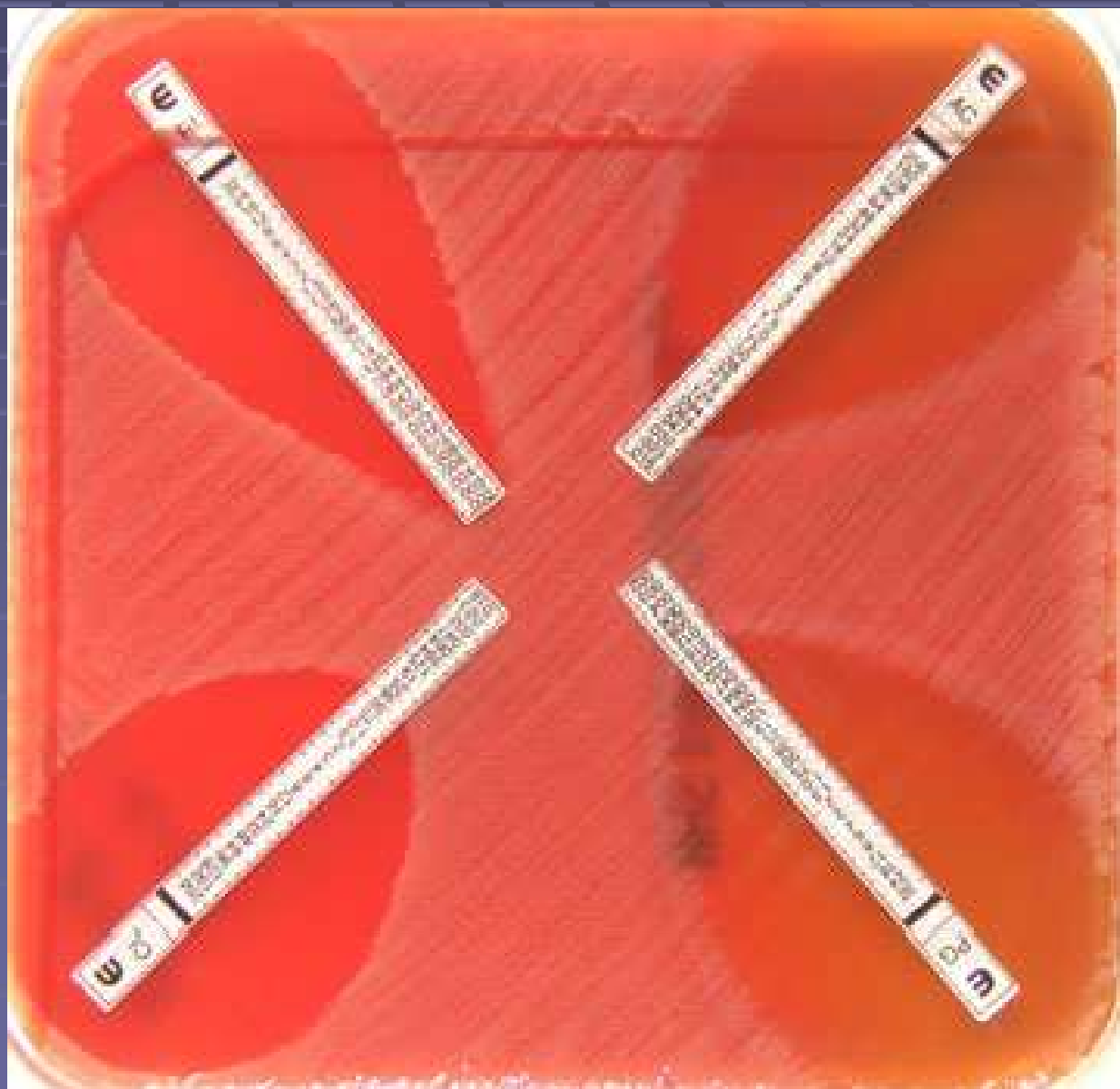
Antibiotikum	Zkratka	Referenční zóna
Penicilin (základ. penicilin)	P	28 mm*
Chloramfenikol	C	18 mm
Azithromycin (makrolid)	AZM	12 mm
Doxycyklin (tetracyklin)	DO	19 mm
Ampicilin (aminopenicilin)	AMP	29 mm*
Ko-trimoxazol (směs)	SXT	16 mm

*\*avšak rozhodující je výsledek betalaktamového proužku*



# Někde používají i E-test

[www.actu-pharo.com](http://www.actu-pharo.com)



# Antigenní analýza

- Prohlédněte si na bočním stole umístěnou soupravu na aglutinaci mozkomíšního moku a запиšte, které patogeny je schopna zachytit. U meningokoků si povšimněte, které seroskupiny odhalí.

Foto O. Z.



## 8. Ostatní

- Existuje ještě spousta většinou kultivačně náročných gramnegativních tyčinek, jejich význam však není velký. Zmiňme aspoň
- *Gardnerella vaginalis* se podílí na nehnisavých tzv. poševních vaginózách. Pěstuje se na speciálním typu krevního agaru, kde dělá typickou hemolýzu. Mikroskopicky je to gramlabilní pleomorfní kokobacil.
- *Spirillum minus* je původce horečky sodoku
- *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, původce infekcí připomínajících aktinomykózu a někdy ji i doprovázející
- Rody *Eikenella*, *Kingella*, *Cardiobacterium* a některé další jsou vzácní původci infekcí

# Děkuji za pozornost

G – bakterie v podání as. MUDr. Petra Ondrovčíka, CSc.  
(1957 – 2007)

