

Lékařská mikrobiologie pro ZDRL

Týden 16:

Přehled gramnegativních bakterií

Ondřej Zahradníček 777 031 969

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

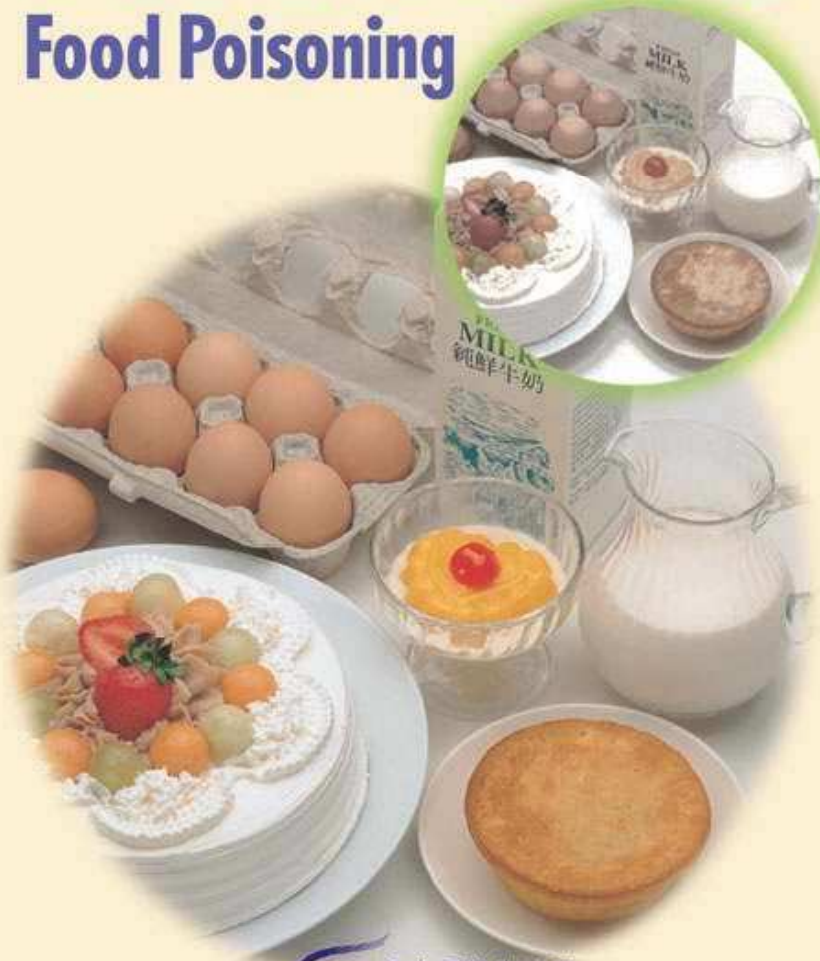
- Ty které rostou na Endově půdě
 - *Enterobacteriaceae* (enterobakterie) – tyčinky
 - *Vibrionaceae* – zahnuté tyčinky
 - Gramnegativní nefermentující bakterie – tyčinky i koky
- Ty které nerostou na Endově půdě
 - *Kampylobakter* a *helikobakter* – zahnuté či spirálovité tyčinky
 - *Pasteurellaceae* (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



Základní charakteristika

- *Enterobacteriaceae* je klinicky nejdůležitější čeleď gramnegativních tyčinek (ale důležitá je i pro ne-klinická odvětví mikrobiologie)
- Jsou poměrně nenáročné, rostou na většině půd, mimo jiné na Endu a na MH agaru
- Významná **antigenní struktura**:
 - O-antigeny jsou tělové (sacharidová část stěnového lipopolysacharidu)
 - H-antigeny jsou bičíkové (jen u pohyblivých enterobakterií, těch je ovšem většina)
 - K-antigeny jsou kapsulární čili pouzderné, pro diagnostiku mají nejmenší význam
- Jsou kataláza pozitivní, oxidáza negativní (výjimka je rod *Plesiomonas*, ten je oxidáza pozitivní)

Klinická charakteristika

- Vyskytují se ve střevě člověka a jiných obratlovců
- Většina z nich je ve střevě součástí normální mikroflóry a **patogenem mimo střevo**, nejčastěji v močových cestách, ale i v dýchacích a v krevním řečišti
- Někdy mohou být **patogenní i ve střevě**, buď při přemnožení, nebo pokud jsou to primární patogeny jako salmonela. V tom případě způsobují onemocnění charakterizovaná průjmy a zvracením

Přenos infekce

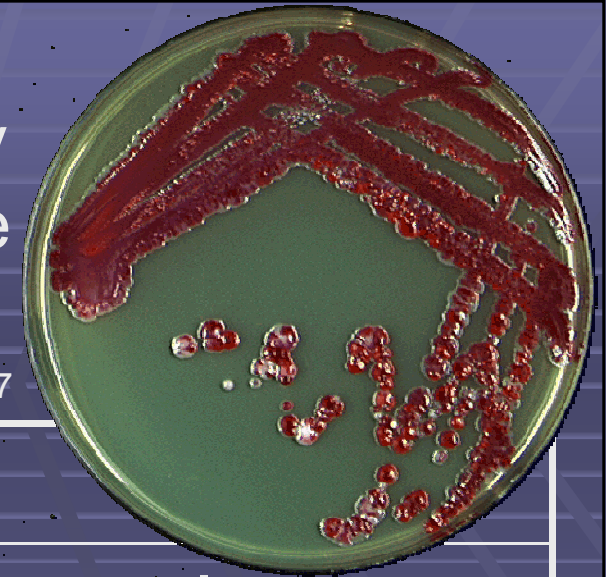
- Přenos nejčastěji **fekálně orální**, někdy i prostřednictvím předmětů či na krátké vzdálenosti vzduchem
- U některých jiný přenos (mor – viz dále)
- Časté jsou endogenní infekce, například ze střeva se při poranění, nádoru nebo jiné chorobě mohou dostat do dutiny břišní. V tom případě jsou infekce často smíšené (spolu s anaerobními bakteriemi)

Léčba

- **Infekce lokalizované ve střevě** se většinou léčí jen tzv. symptomaticky (zavodnění, „živočišné uhlí“, na které se adsorbují případné toxiny apod.)
- **Infekce lokalizované mimo střevo** se léčí antibiotiky (penicilinová a cefalosporinová antibiotika, u močových také nitrofurantoin a ko-trimoxazol)

Přehled enterobaktérií

Červeně pigmentovaný kmen serracie



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>

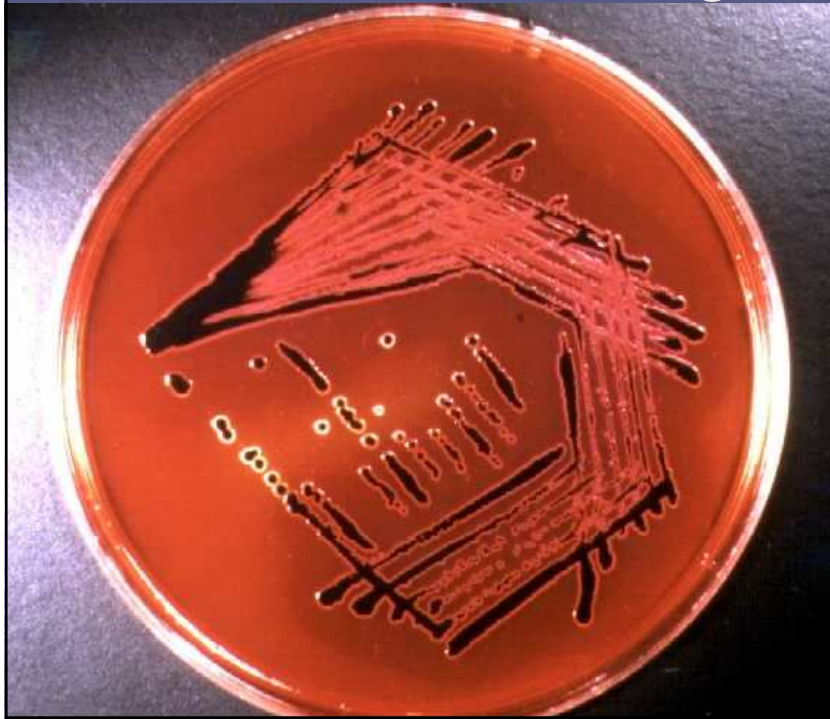
*zoopatogenení **antropopatogenní

Pro odlehčení...



<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.



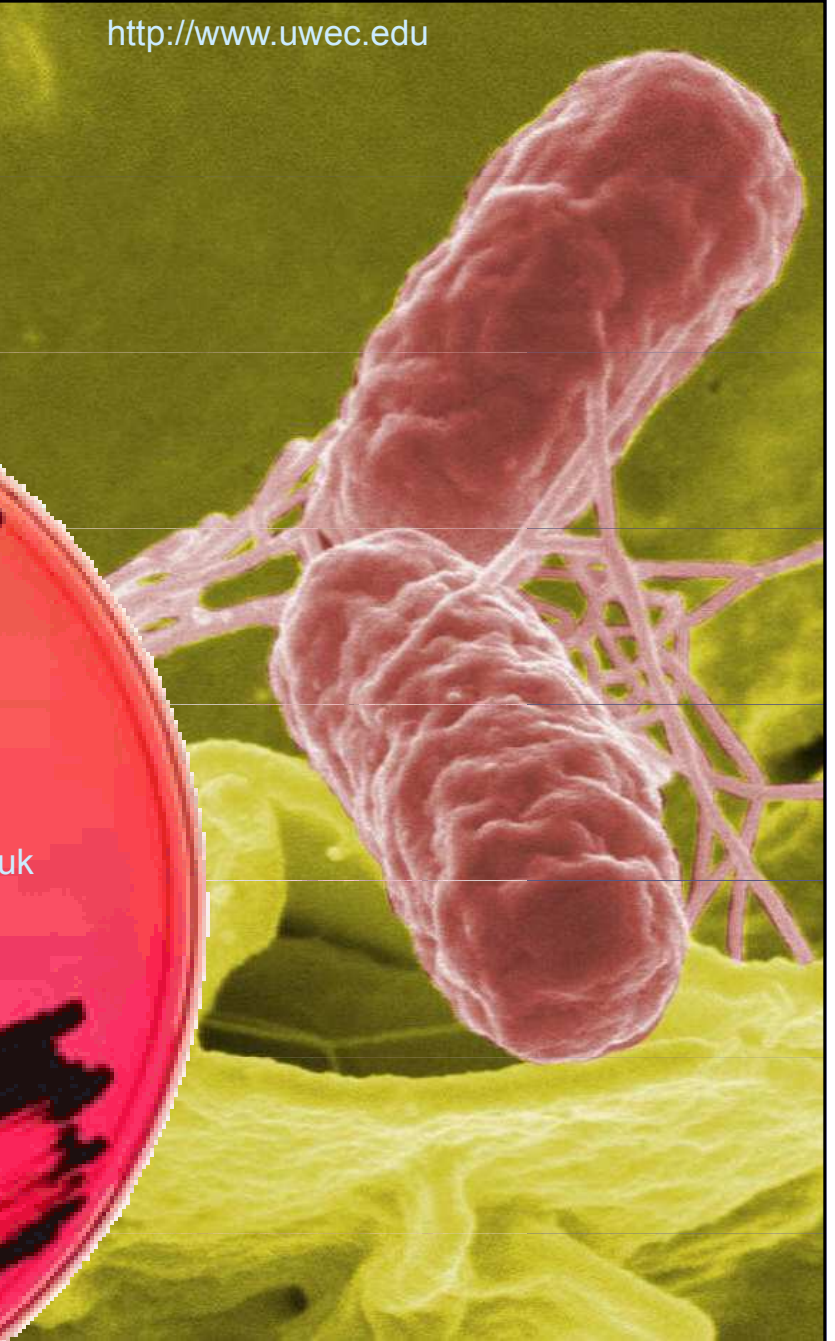
Salmonella

www2.mf.uni-lj.si

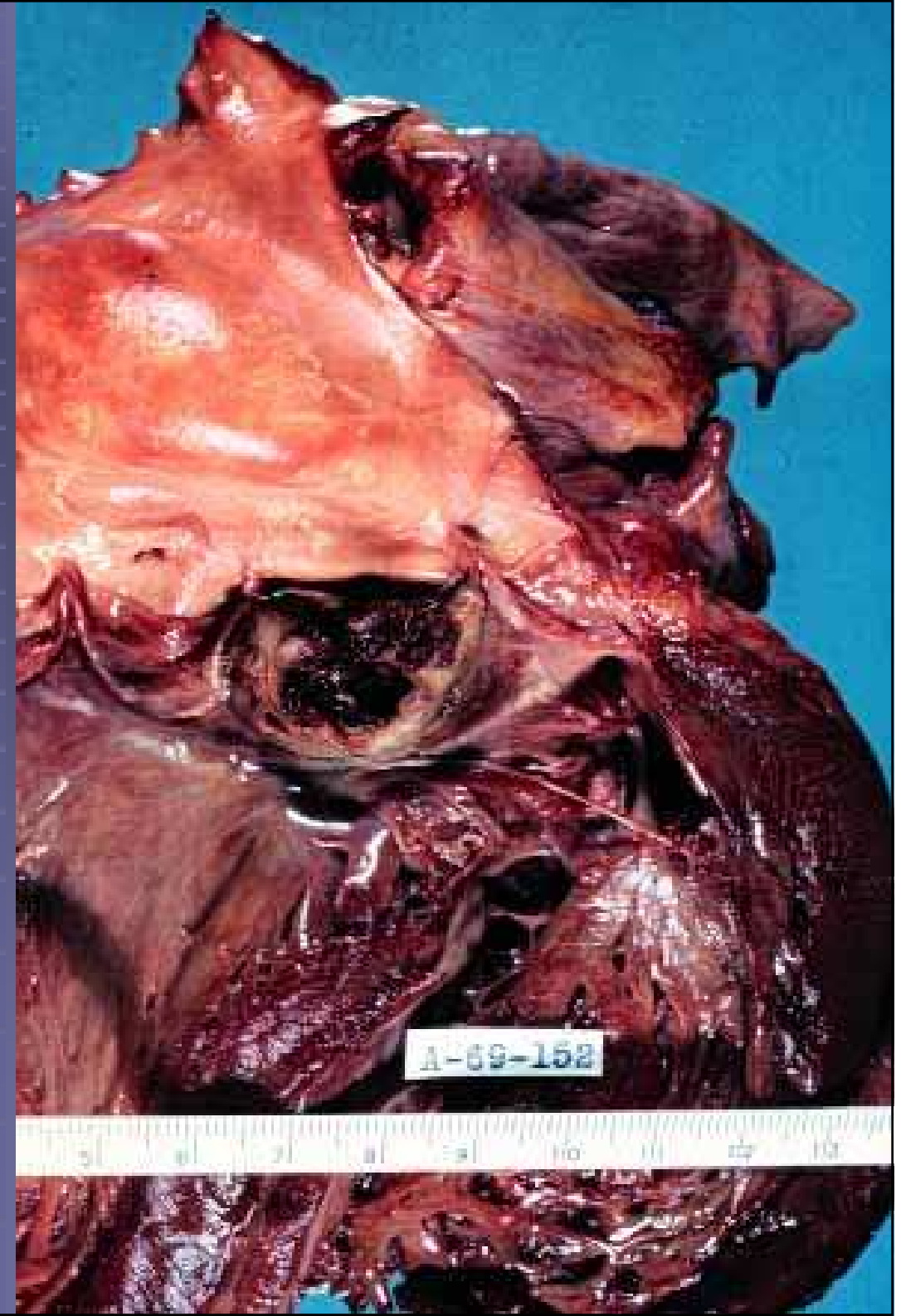
<http://www.uwec.edu>



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



Salmonelová endokarditis



Primární patogeny z řad enterobakterií

- 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*)



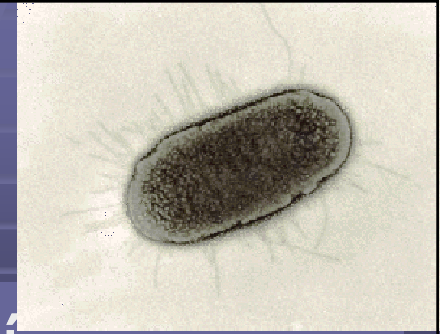
Příběh druhý



- 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

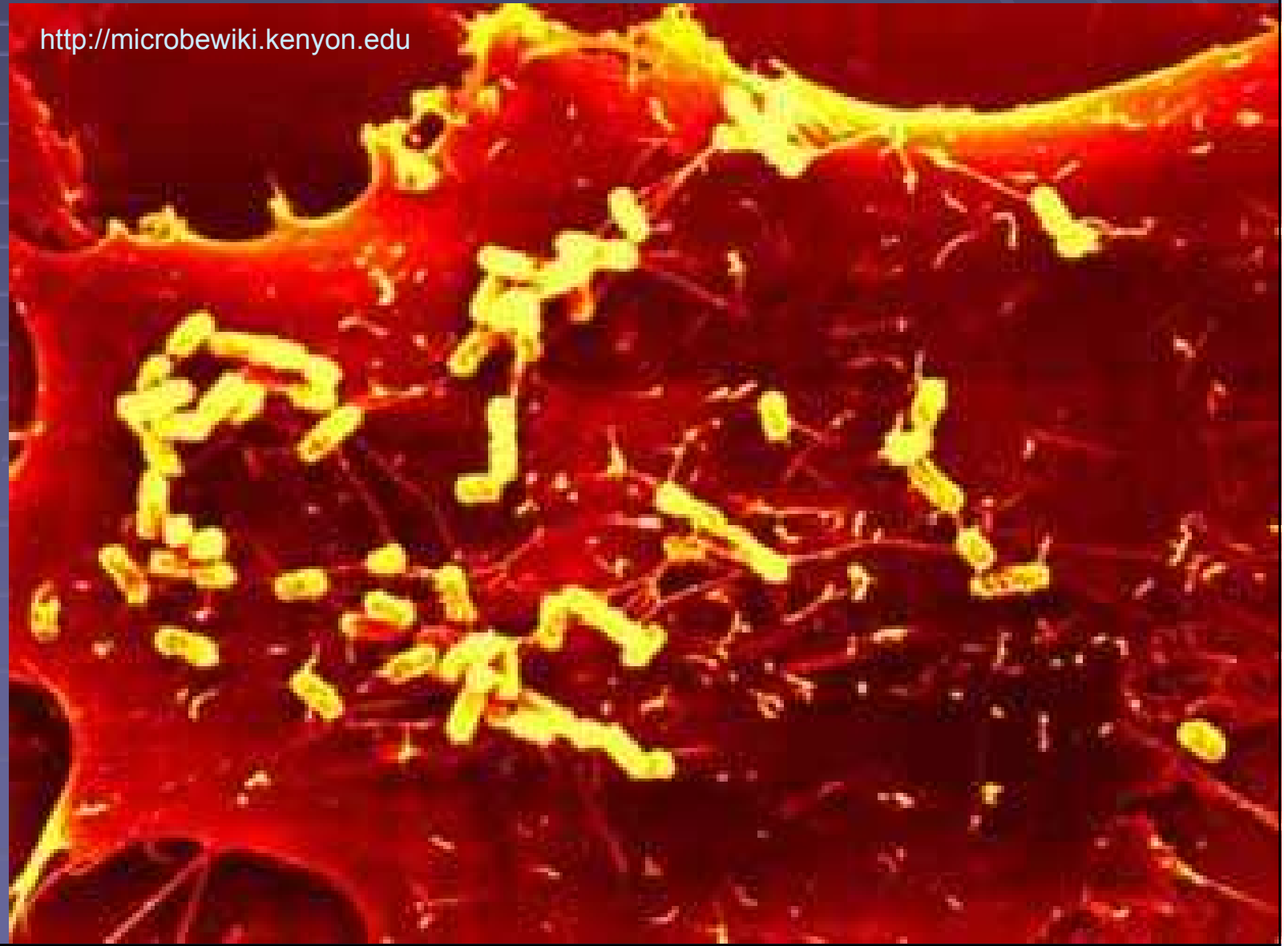
Kdo za to tentokrát může?

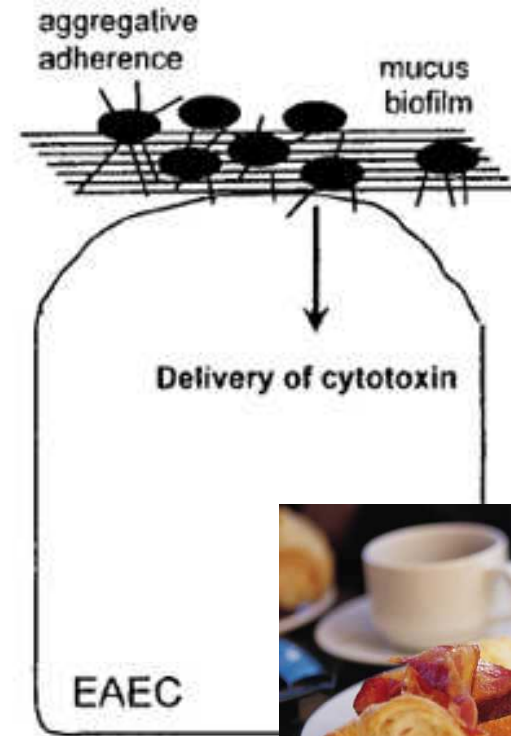
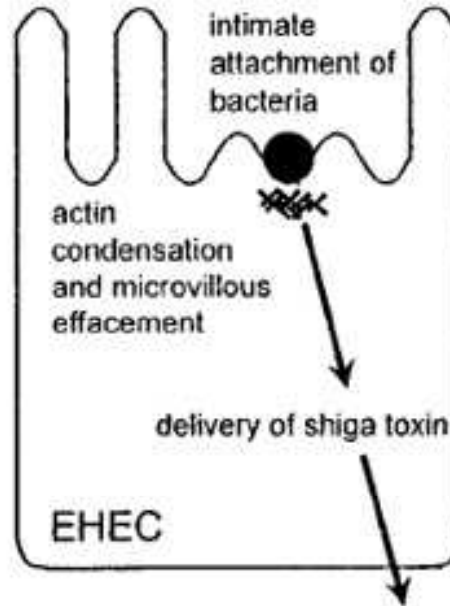
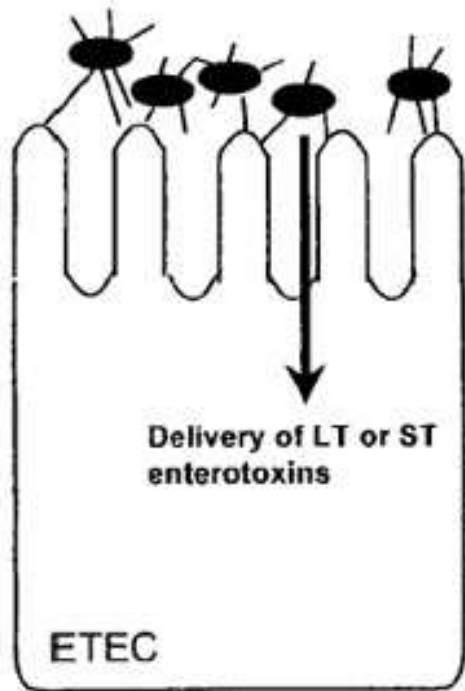
www.steve.gb.com



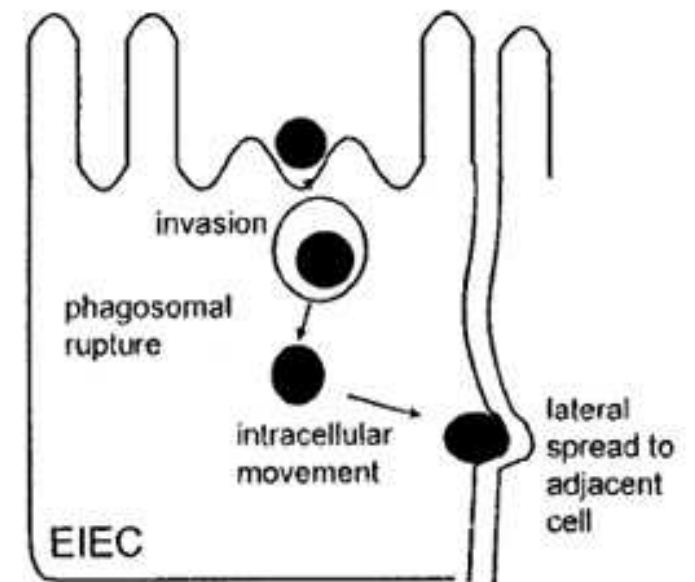
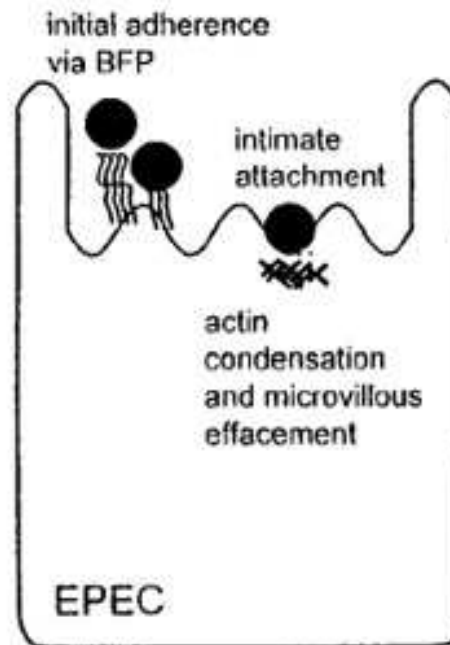
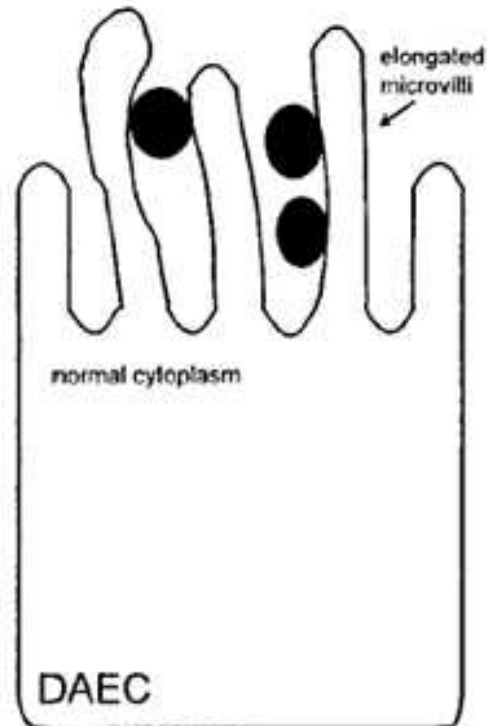
- Viníkem je *Escherichia coli*, respektive její uropatogenní kmen (uropatogenní *E. coli* – UPEC)
- Viníkem by mohla být i kterákoli jiná z podmíněně patogenních enterobakterií (ale i obligátně patogenní kmeny, např. salmonely, se uplatňují)
- *Escherichia coli* je jednou z nejdůležitějších součástí 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...

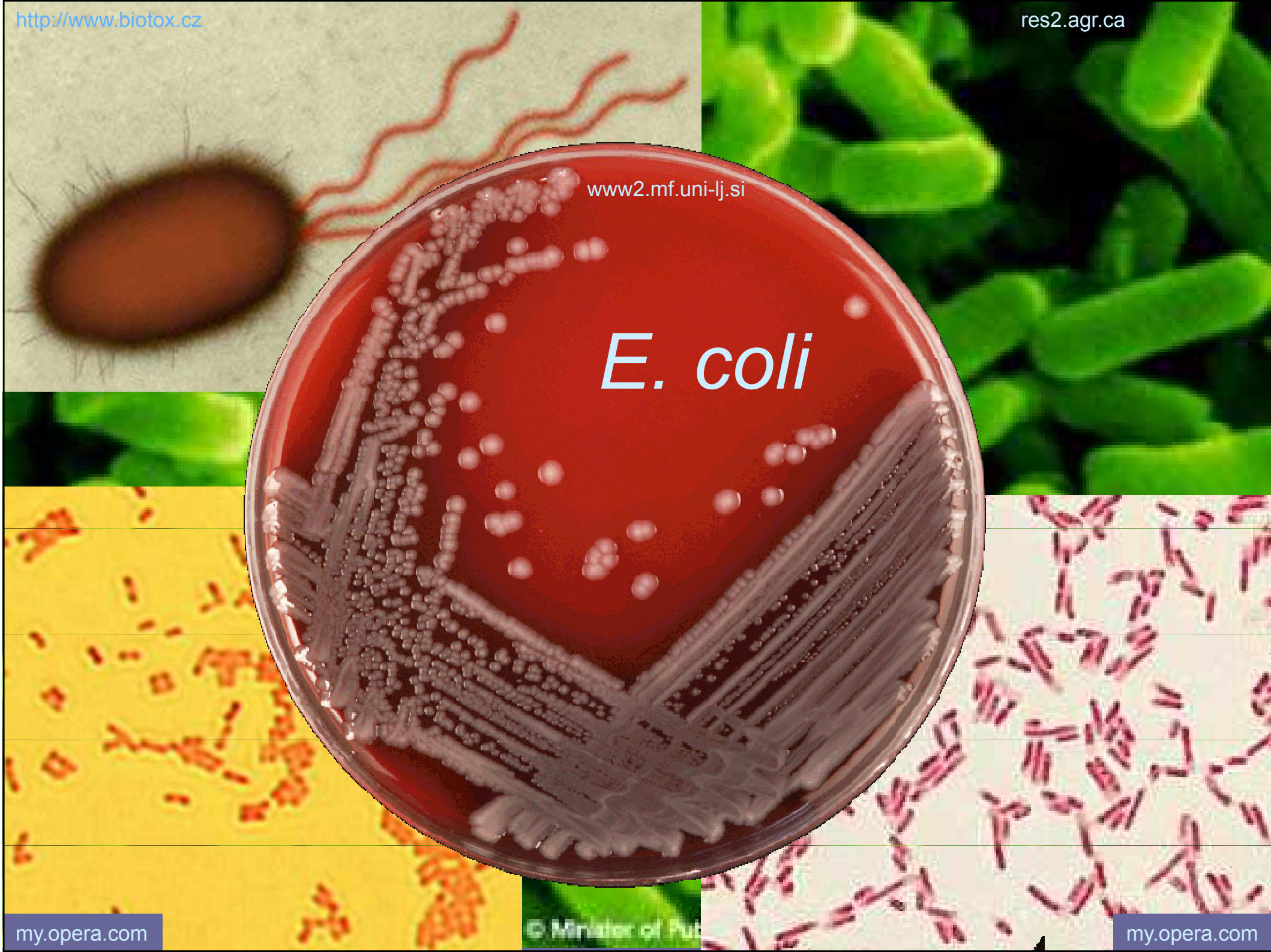
I korneální vřed může způsobit *Escherichia coli*

www2.mf.uni-lj.si



www2.mf.uni-lj.si

E. coli



Další potenciálně patogenní enterobakterie I

- ***Klebsiella* a *Enterobacter*** jsou dva podobné rody. Obě bakterie bývají opouzdřené a vypadají podobně i na půdách. *Klebsiella* je bělejší, méně často je běžnou flórou ve střevě a častěji patogenem, např. v dýchacích cestách. *Enterobacter* je šedší a častěji nalézáný jako běžná flóra ve střevě, méně často jako patogen. Z rodu ***Enterobacter*** taxonomové* vyčlenili rod ***Pantoea***, klinicky se ale neliší.
- ***Citrobacter*** je občasným původcem močových a jiných infekcí. Může být zaměněn za salmonelu, ale odlišíme ho pozitivním ONPG.

” *pojmenováací“

Další potenciálně patogenní enterobakterie I

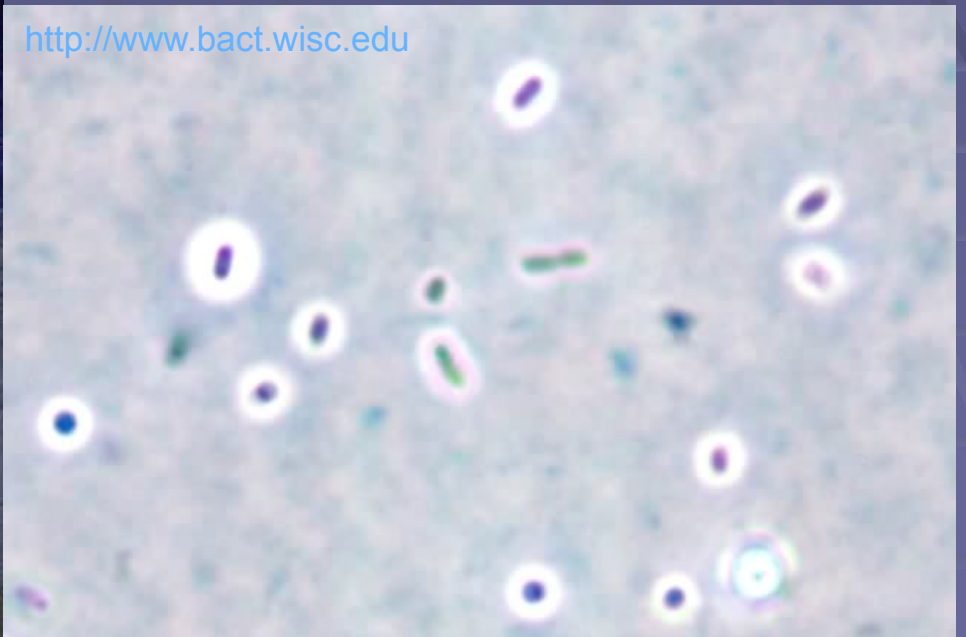
- ***Proteus, Providencia a Morganella*** mají společné to, že méně štěpí cukry, ale více bílkoviny. Podílejí se v přírodě na likvidaci odpadů (mršin, ale i organických zbytků potravy). Někteří zástupci rodu *Proteus* mají typický plazivý růst
- ***Serratia*** mívá červený pigment. Často bývá nemocničním patogenem.
- ***Hafnia*** je občas nalézána v různých tkáních jako patogen, v zásadě se neliší od obecné charakteristiky enterobakterií

Co tropí klebsielly...

<http://microbewiki.kenyon.edu>



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



<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* (v pražských kašnách) či *Budvicia aquatica* (v Českých Budějovicích).
- Původci nemocí by se mohly stát za výjimečných okolností (např. vmasírování do kontaminované rány)

Enterobakterie – diagnostika

- 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

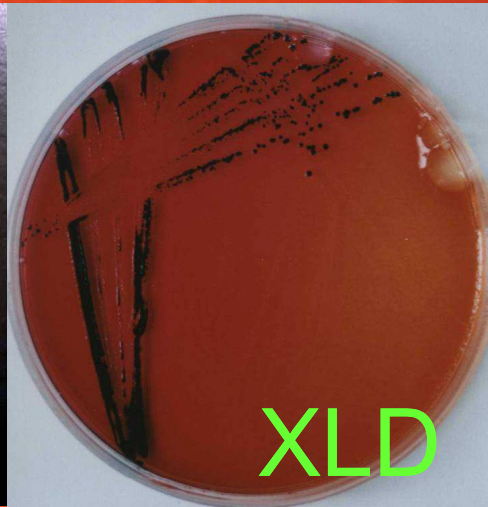
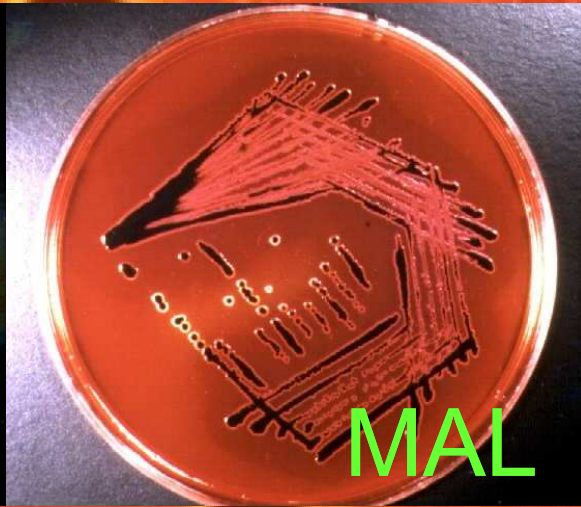
Štěpení laktózy

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 (MAL agar) with several dark, irregular bacterial colonies. The colonies are scattered across the surface, with some appearing as thin, dark streaks and others as small, dense clusters. The agar is a deep red color, and the colonies are a dark, almost black color.

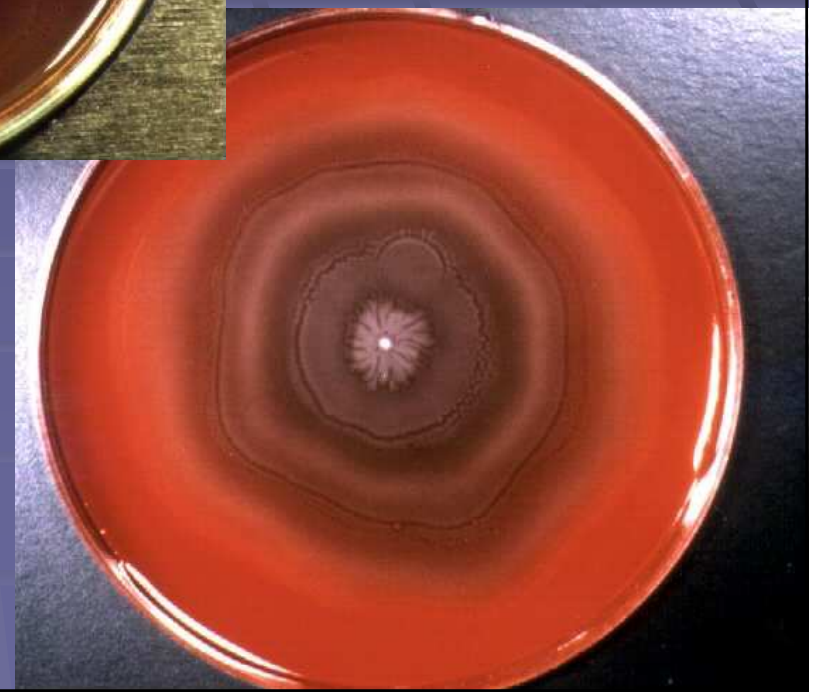
Salmonela na MAL agaru

Proteus mirabilis, *P. vulgaris* (dole)



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

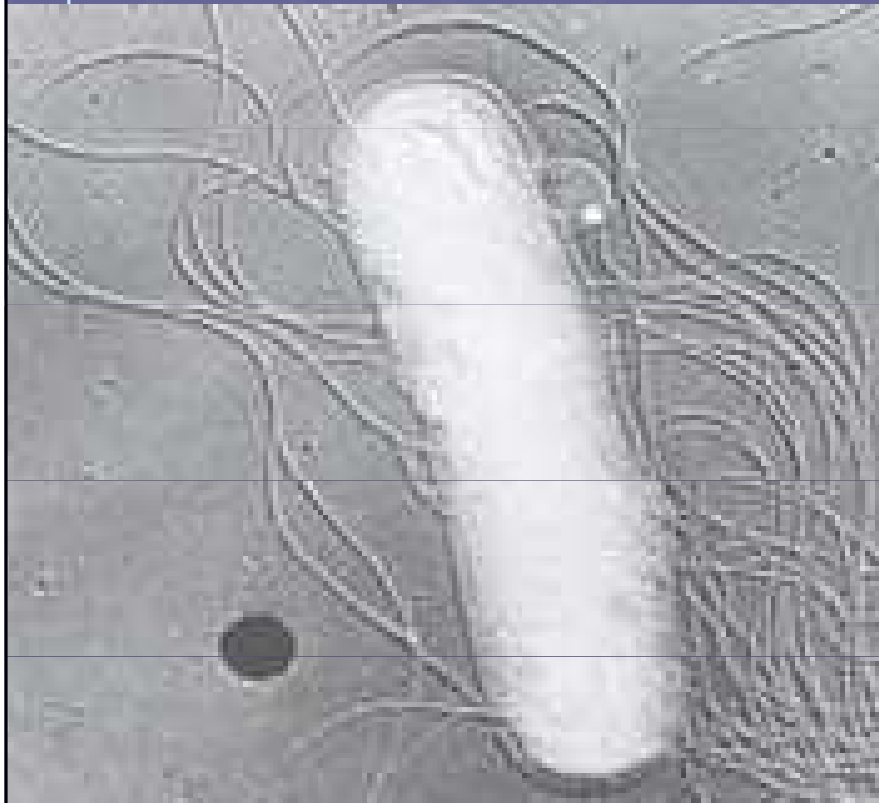
Proteus mirabilis



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



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	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	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								
+																		
-																		
?																		
?	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	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	2	4	1	2	4	1	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)*

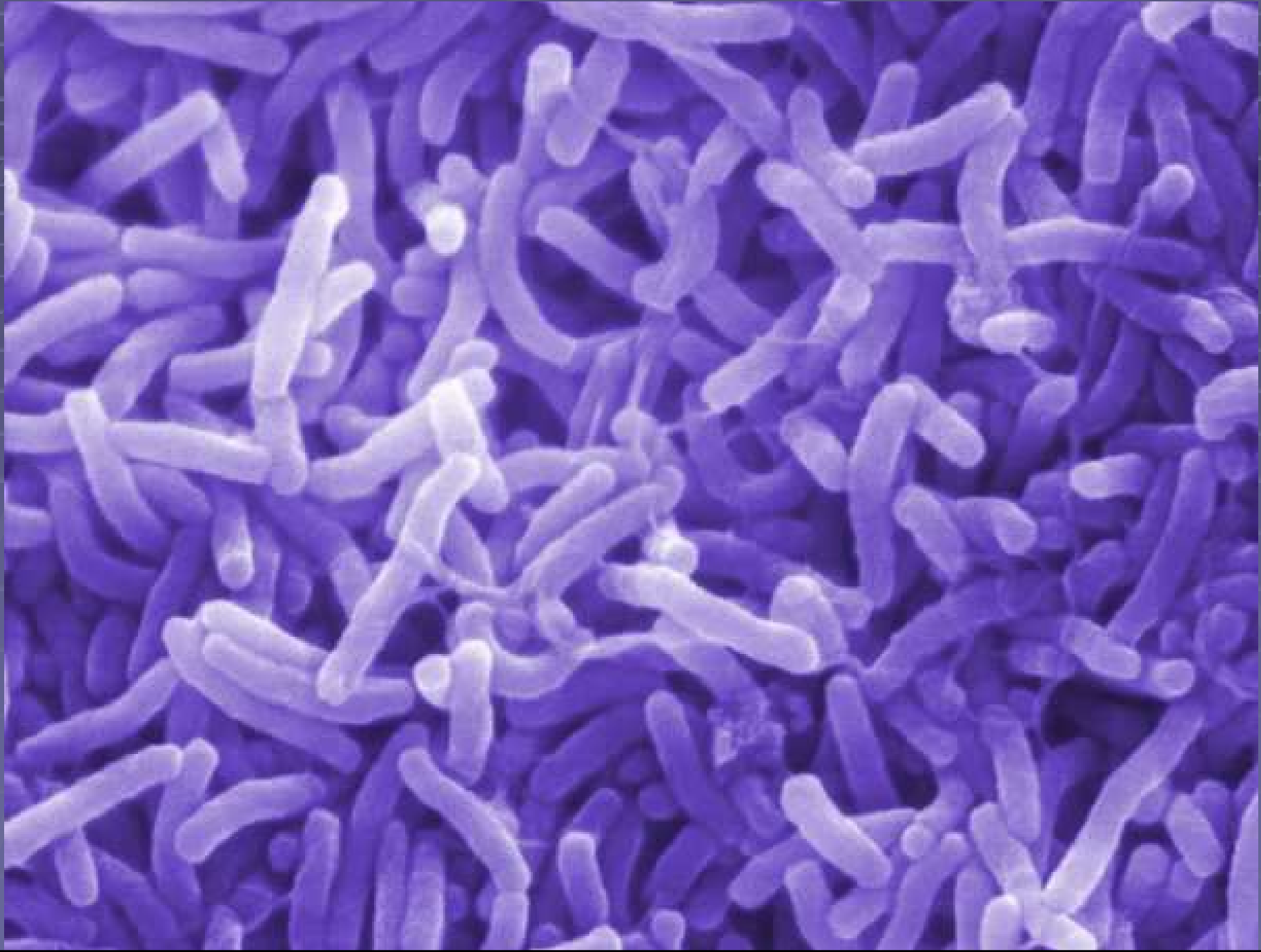
Některá rezervní antibiotika (při rezistenci na základní řadu)

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>



Základní charakteristika

- *Vibrionaceae* je čeleď gramnegativních tyčinek blízká enterobakteriím. Liší se od nich pozitivní oxidázou a tím, že morfologicky jsou často zahnuté a výrazně pohyblivé
- Rostou na běžných půdách, ale používají se i speciální půdy, na kterých vypadají charakteristicky
- V **antigenní struktuře** se uplatňují zejména O-antigeny (analogické O-antigenům enterobakterií)
- Mnohé z nich mají vztah k rybám a jiným vodním organismům

Klinická charakteristika

- ***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

Přenos infekce

- Přenos nejčastěji **fekálně orální**, případně infekce rány z kontaminovaného organismu
- U cholery jsou významné především kontaminované zdroje pitné vody

Léčba

- Léčba je **podobná jako u enterobakterií**, u cholery se ale antibiotika nepoužívají, je tam nejvýznamnější dodání vody a solí do těla. To může být problém hlavně tam, kde je pitná voda problémem (v současnosti např. hospodářsky rozvrácené Zimbabwe)

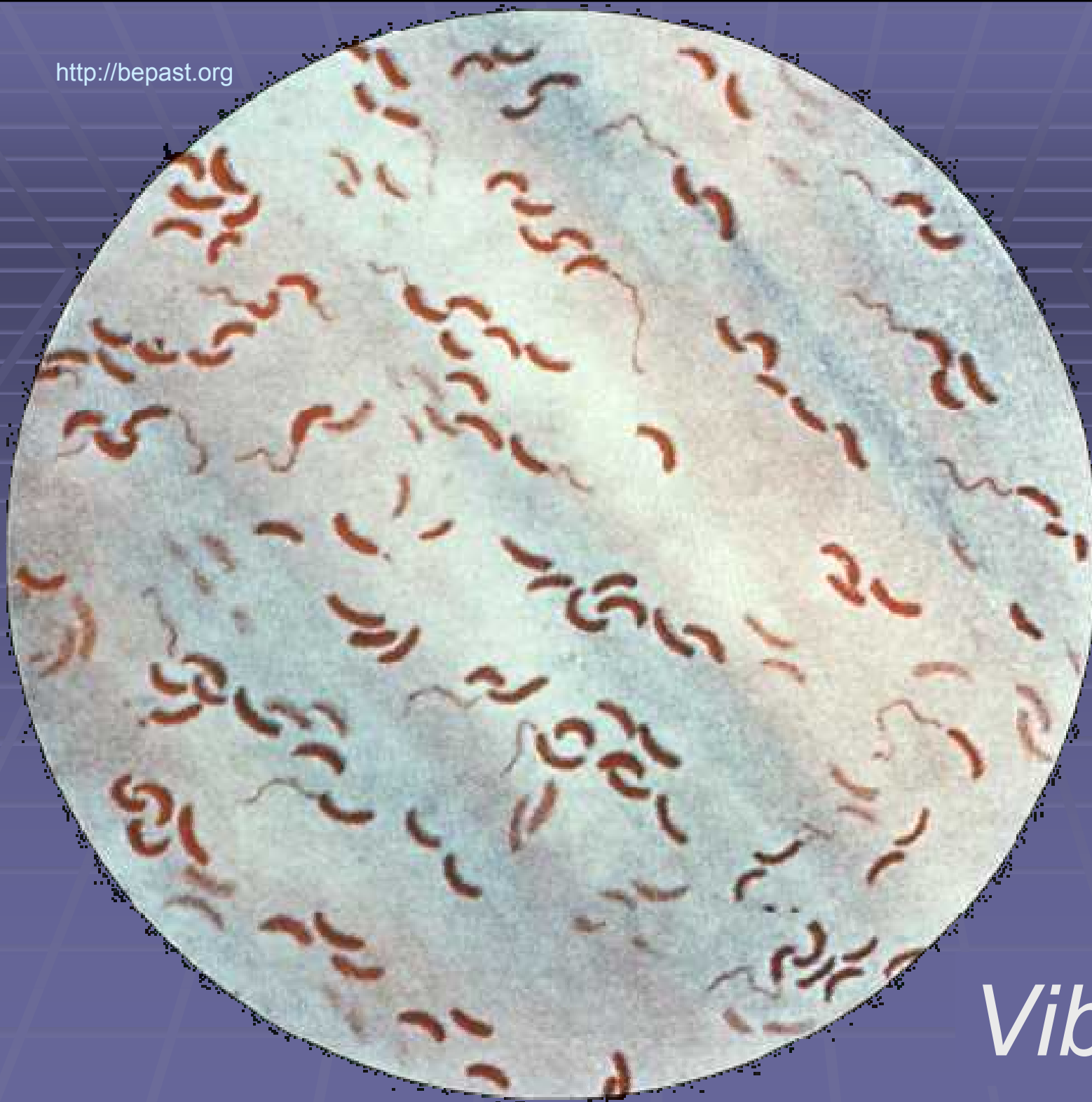
Příběh

- 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*.

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



Bylo nevlídno, že
by PSAE ven
nevyhnal...

(PSAE – zkratka pro
*Pseudomonas
aeruginosa*)

Základní charakteristika

- Je to taxonomicky nejednotná skupina **kultivačně nenáročných, většinou striktně aerobních gramnegativních tyčinek**
- **Většina z nich jsou tyčinky**, ale rod *Acinetobacter* jsou kokotyčinky až koky!
- Na rozdíl od enterobakterií **nefermentují glukózu** (Hajnova půda zůstává červená) a většinou ani jiné cukry. Štěpí je aerobní respirací. Potřebují tedy kyslík, ale ne moc živin
- Jsou to původně hlavně **patogeny rostlin**. Rostou pomalu a jejich teplotní optimum je nižší

Pár slov o metabolismu

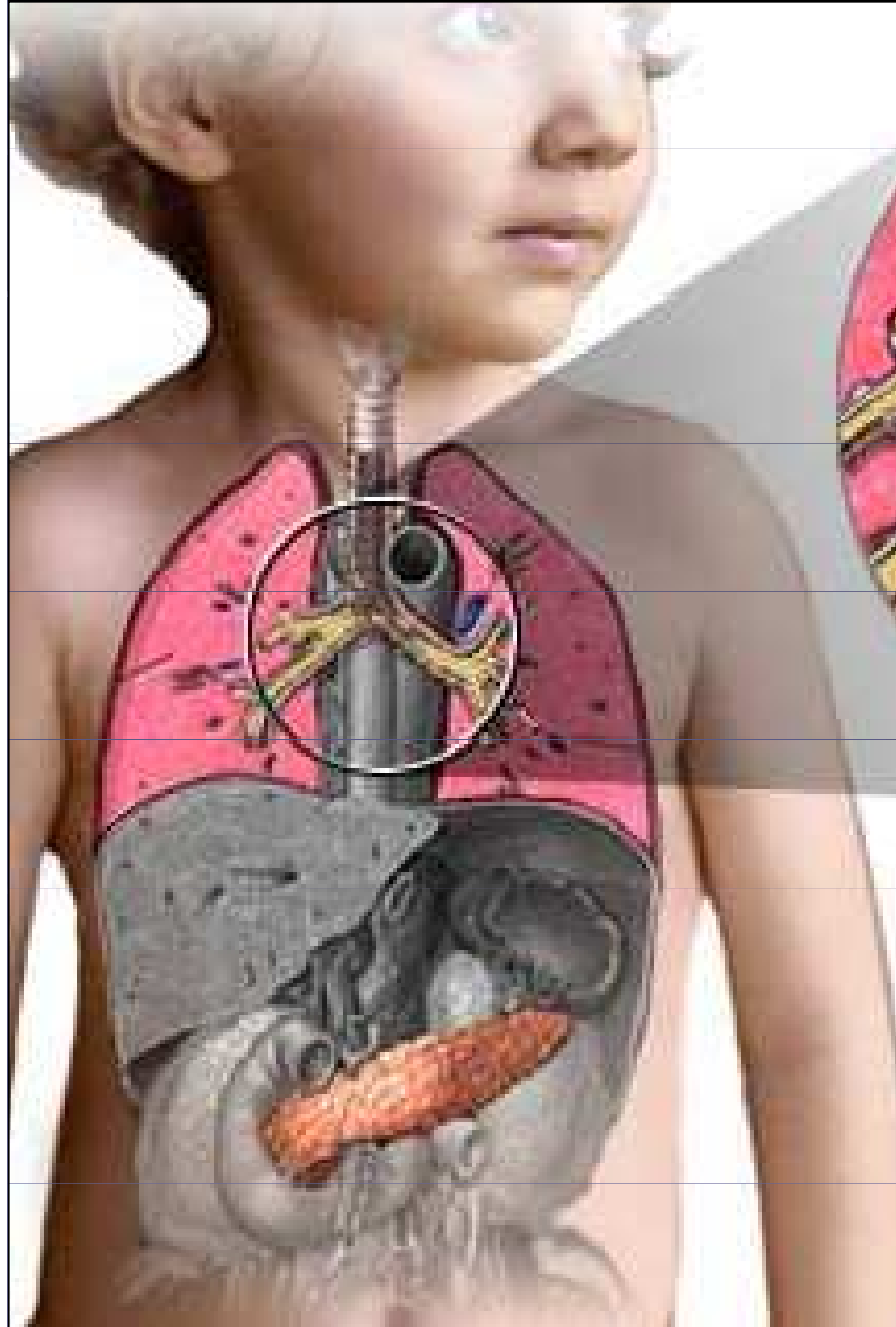
- Jak víte, klinicky významné bakterie používají zpravidla jeden ze dvou typů metabolismu: fermentaci a aerobní respiraci.
- *Escherichia coli*, která má dost živin, ale málo kyslíku (i když jiných plynů si užije dost 😊) preferuje fermentaci glukózy i jiných cukrů. **Je fakultativně anaerobní**
- Naopak 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 obrázky, které uvidíte za chvíli.

Klinická charakteristika

- Jsou to **oportunní** (sekundární, potenciální) **patogeny**. Jsou to tedy „**bakterie-zbabělci**“, které si netroufnou na zdravého člověka.
- Mezi typicky ohrožené jedince patří
 - lidé s **popáleninami**
 - lidé na **ARO, JIP**, transplantovaní, lidé se sníženou imunitou
 - děti s vrozenou chorobou – **cystickou fibrózou**
- Jsou **typickými původci nemocničních nákaz**. Pak bývají často velmi rezistentní na antibiotika a odolné vůči desinfekci

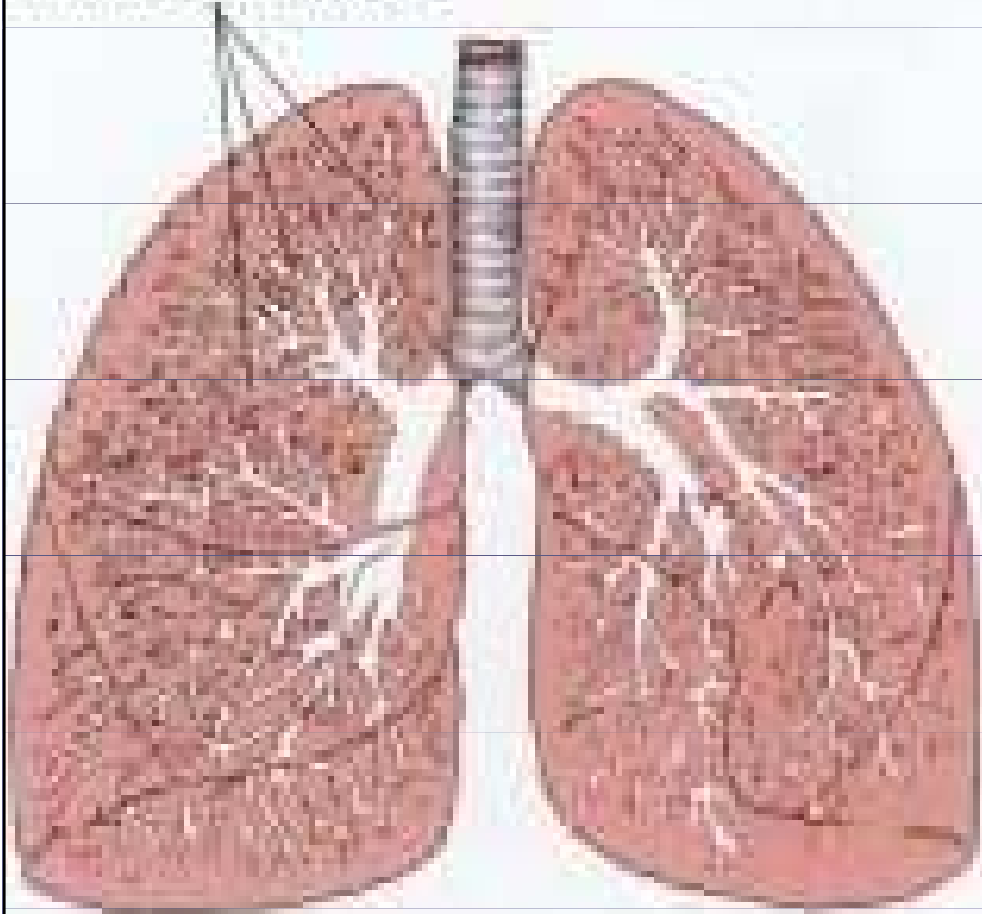
Nefermentující a cystická fibróza

- Cystická fibróza je těžké, **vrozené onemocnění plic** s poruchou produkce normálního plicního surfaktantu. To vede ke změně 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.



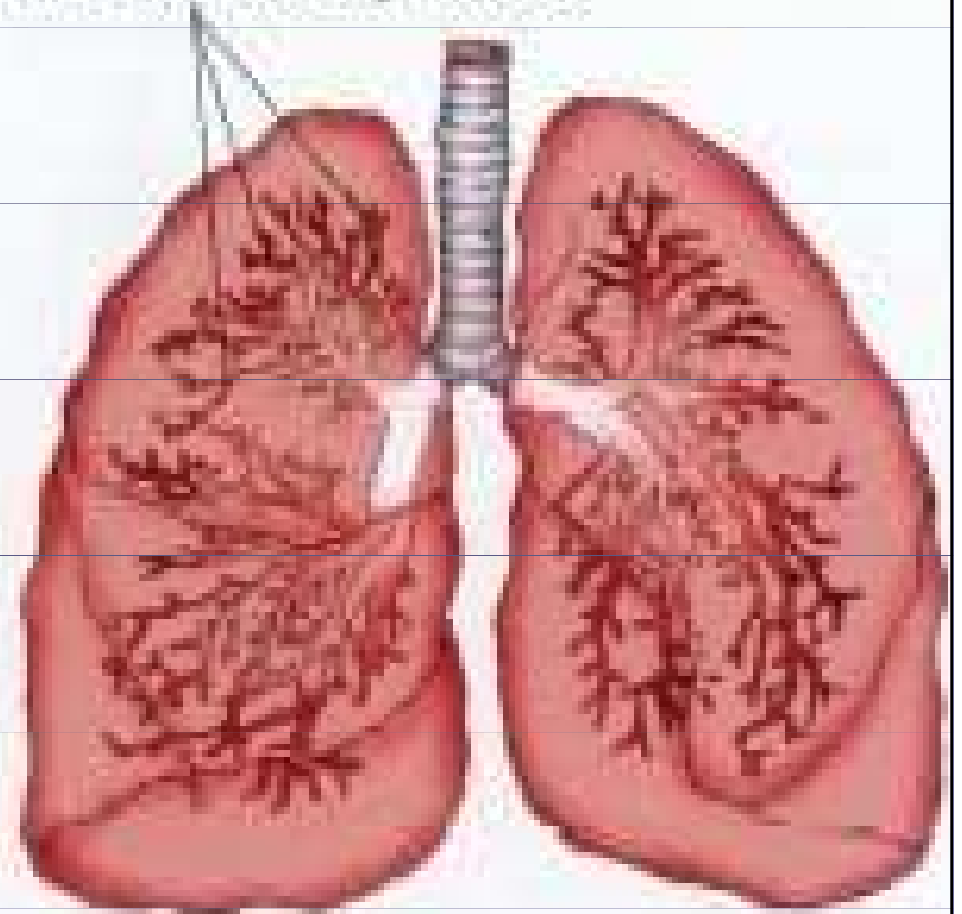
Cystic fibrosis is a hereditary disorder characterized by lung congestion and infection and malabsorption of nutrients by the pancreas

Unobstructed
bronchial tubes



Healthy lungs

Bronchial tubes
are blocked by mucus



Lungs with cystic fibrosis



Přenos infekce

- **Zdrojem infekce je často spíše vnější prostředí** než že by se dal v praxi dohledat konkrétní člověk nebo zvíře
- Přenášejí se poměrně snadno **přes předměty, případně i vzduchem**
- U některých bylo popsáno i **množení ve výlevce či dokonce v roztoku desinfekce**
- Je nezbytné, aby nemocniční infekce způsobené těmito bakteriemi byly sledovány, včetně rezistence na antibiotika

Léčba

- **Je nutno odlišit infekci od kolonizace.**
Samotná přítomnost těchto bakterií například na kůži není důvodem k léčbě
- **Cílená léčba** je nezbytná, protože vedle spousty antibiotik, na která jsou tyto potvůrky rezistentní primárně, jsou četné i sekundární rezistence

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*

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



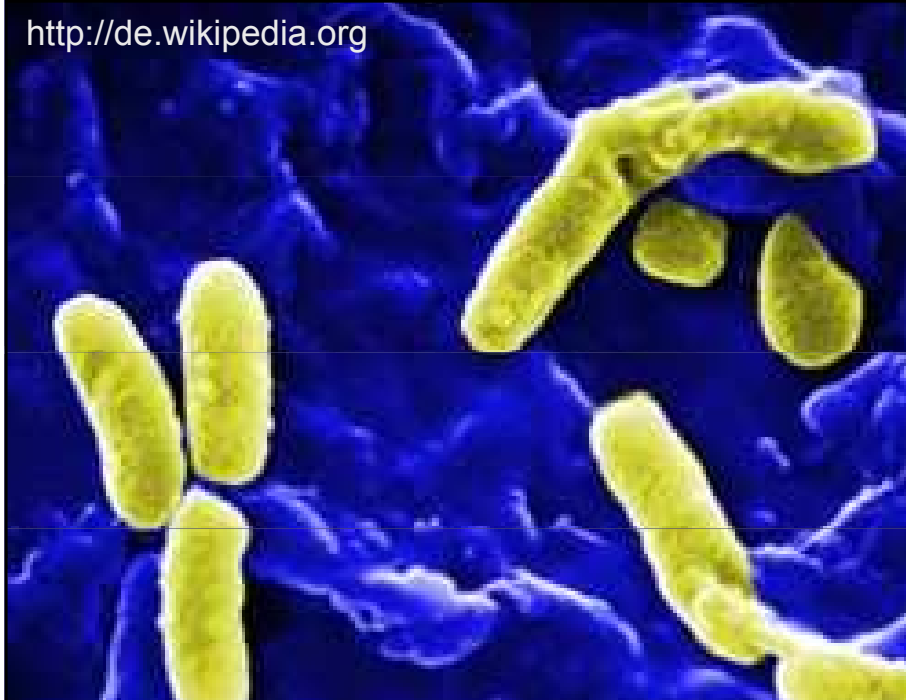
Pseudomonas aeruginosa na MH

www.medmicro.info
(stránky ústavu),
foto prof. Skalka



Pseudomonas aeruginosa

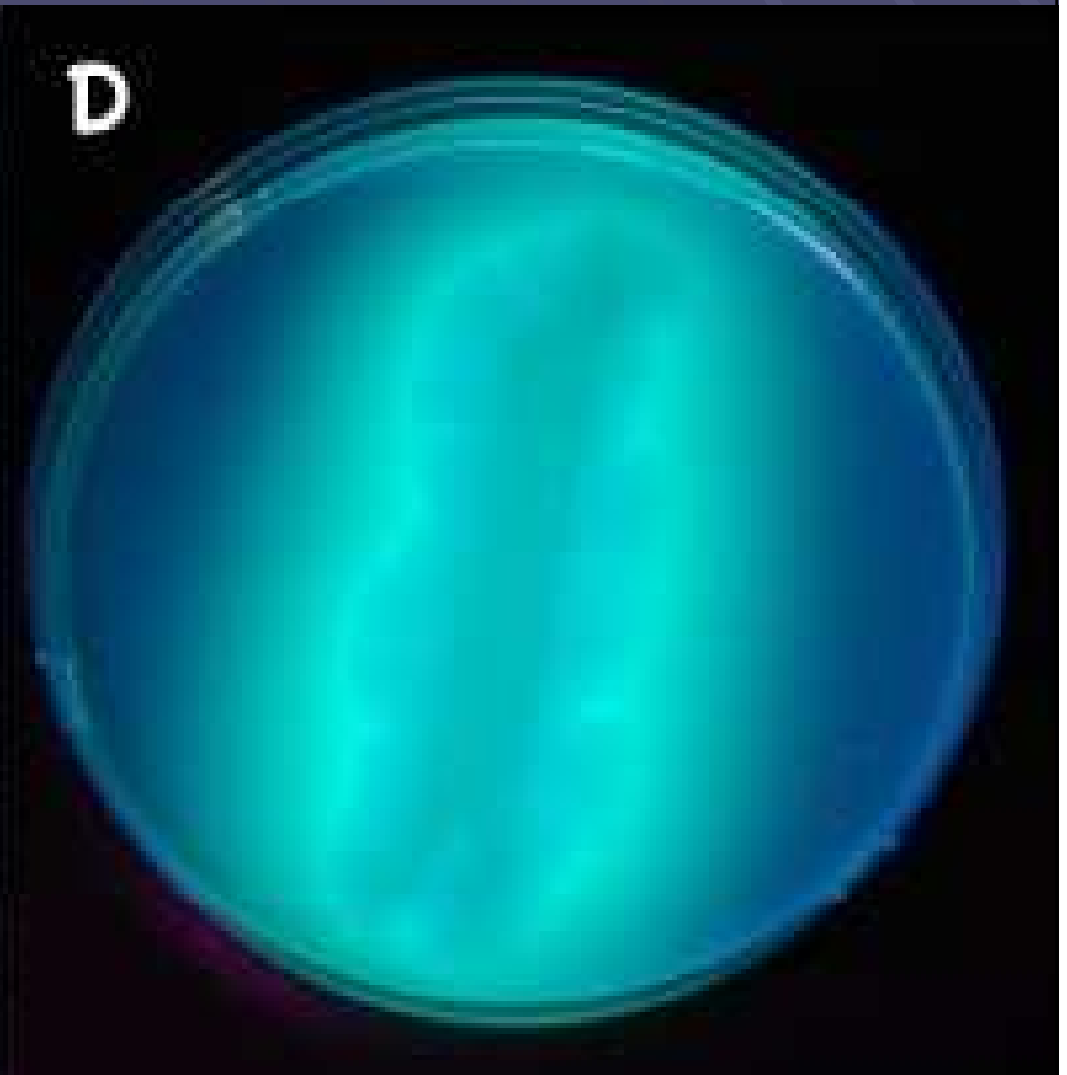
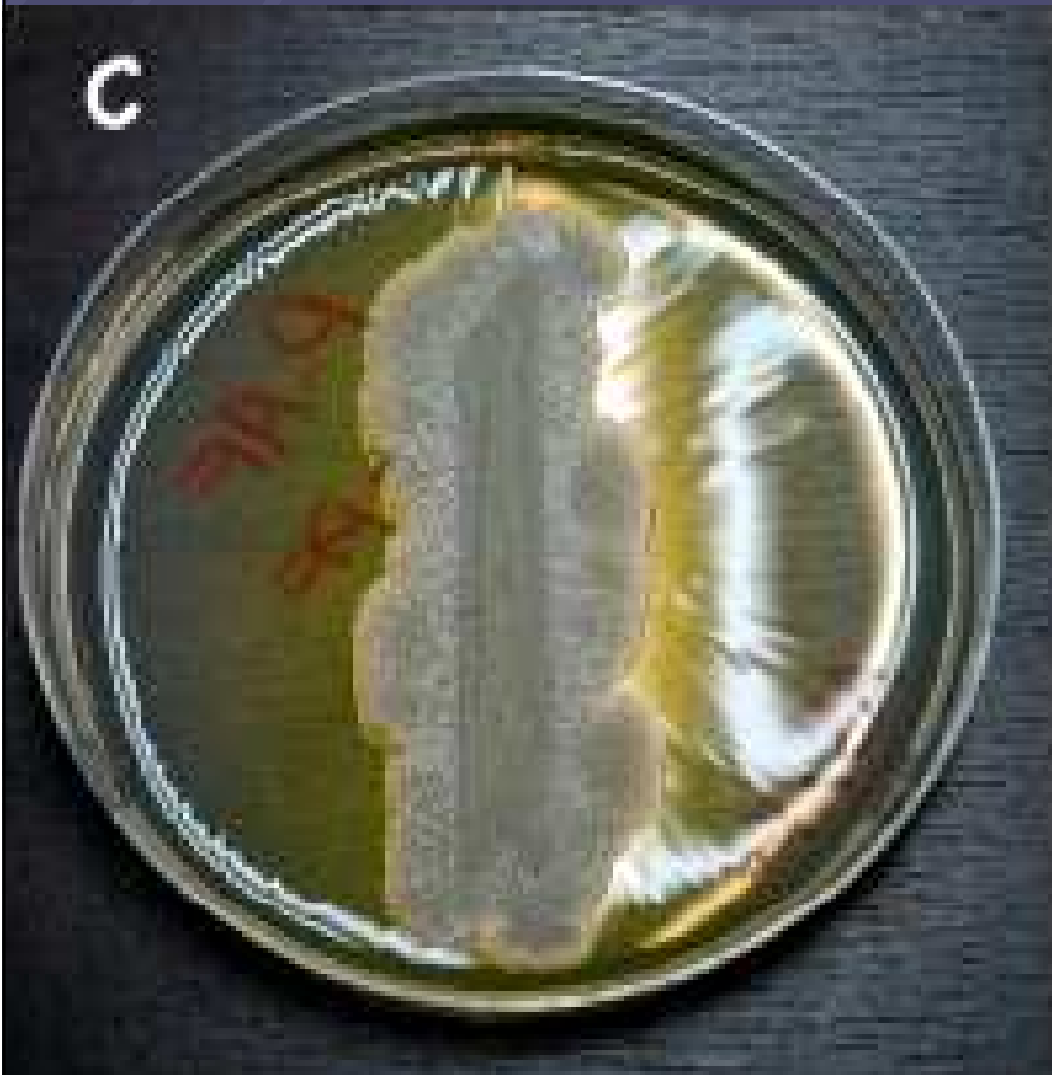




Výjimečný kmen
pseudomonády
s modrým
pigmentem

Další „nefermentující“: *Pseudomonas fluorescens*

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



Burkholderia cepacia

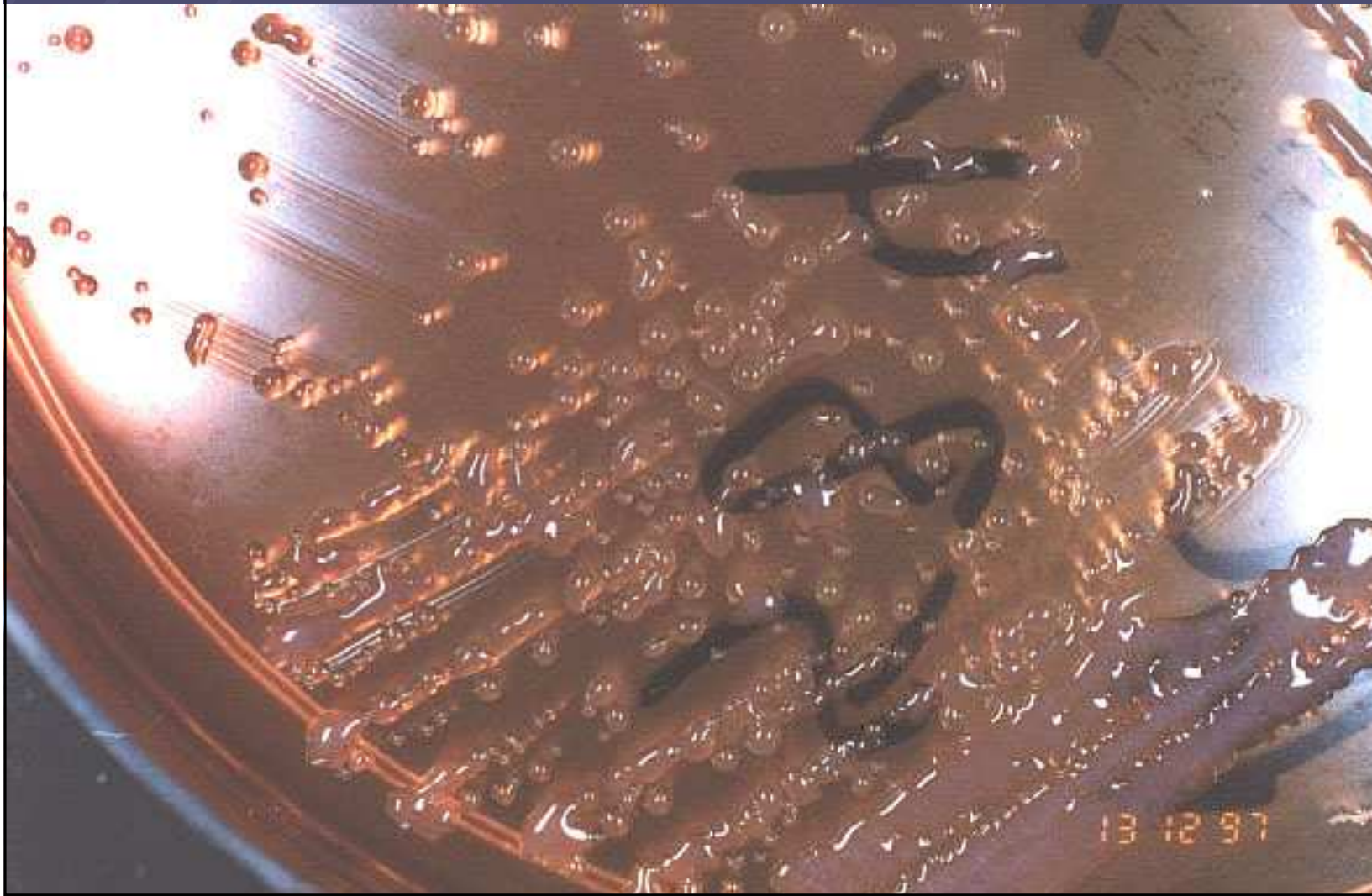


Burkholderia cepacia
způsobuje hnilobu cibule
(*Allium cepa*), je to tedy typický
rostlinný patogen



Burkholderia pseudomallei

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

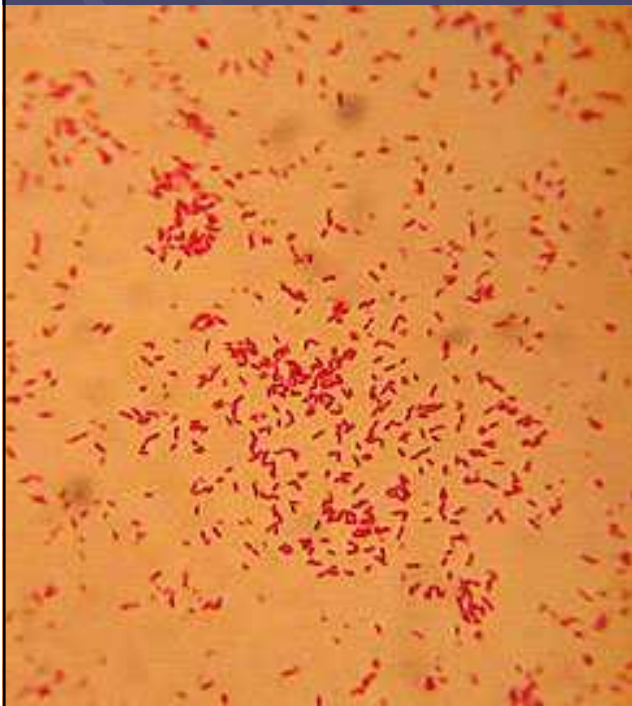


Stenotrophomonas maltophilia

<http://www.scielo.cl>

<http://clinicalmicrobiology.stanford.edu>

<http://www.microbelibrary.org>



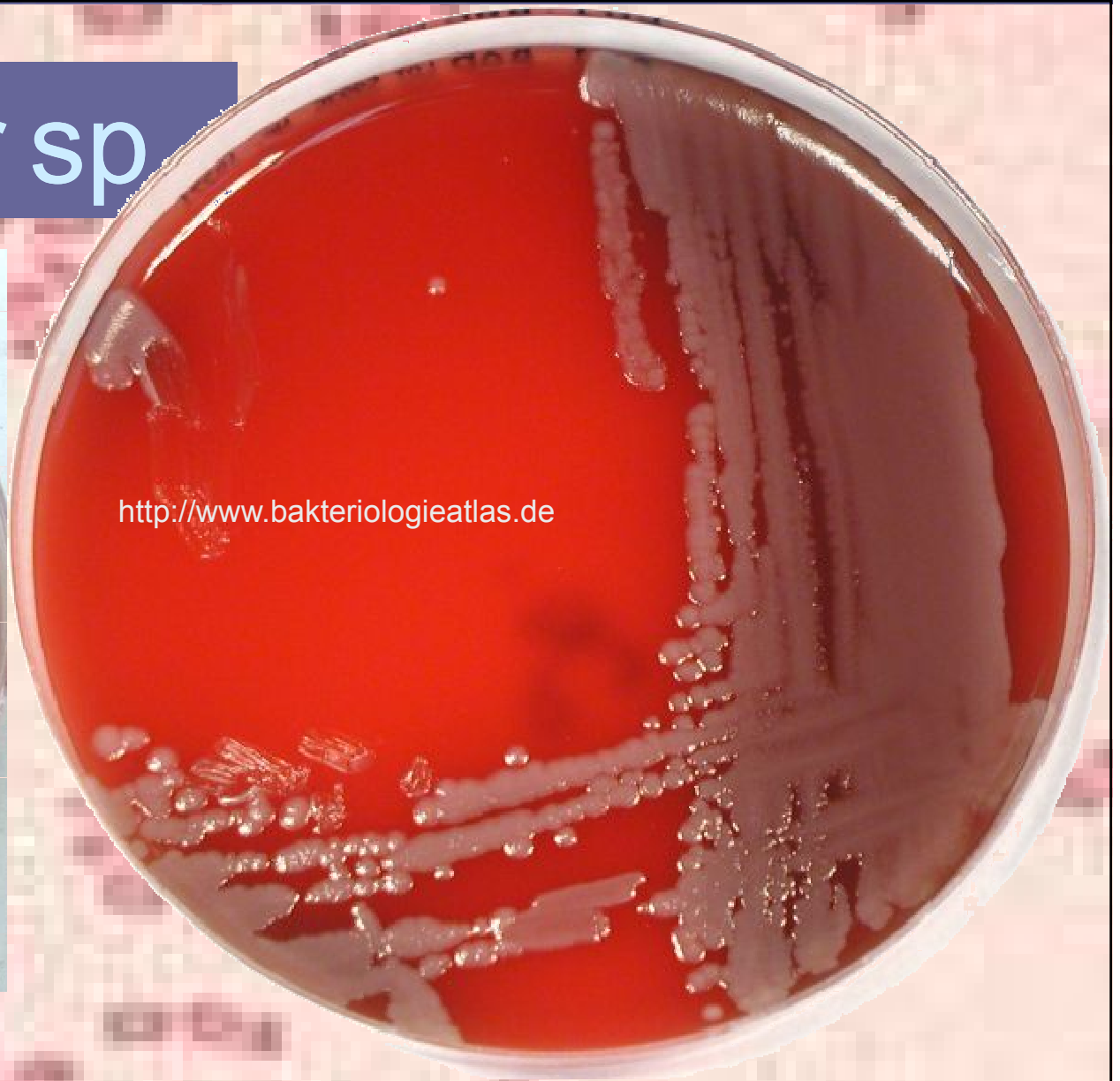
Stenotrophomonas maltophilia je dlouhé jméno, ale snadno si ho zapamatujete: je to „úzké-výživy-jednotka maltózu-milující, čili „bakteriální panda“, místo bambusu žvýkající maltózu 😊

Acinetobacter sp



<http://www.microbelibrary.org>

ASM MicrobeLibrary.org © Buxton



<http://www.bakteriologieatlas.de>

<http://www.buddycom.com>

Z řečtiny: a-kineto- = „nepohyblivý“

Diagnostika gramnegativních nefermentujících bakterií (GNFB)

■ 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

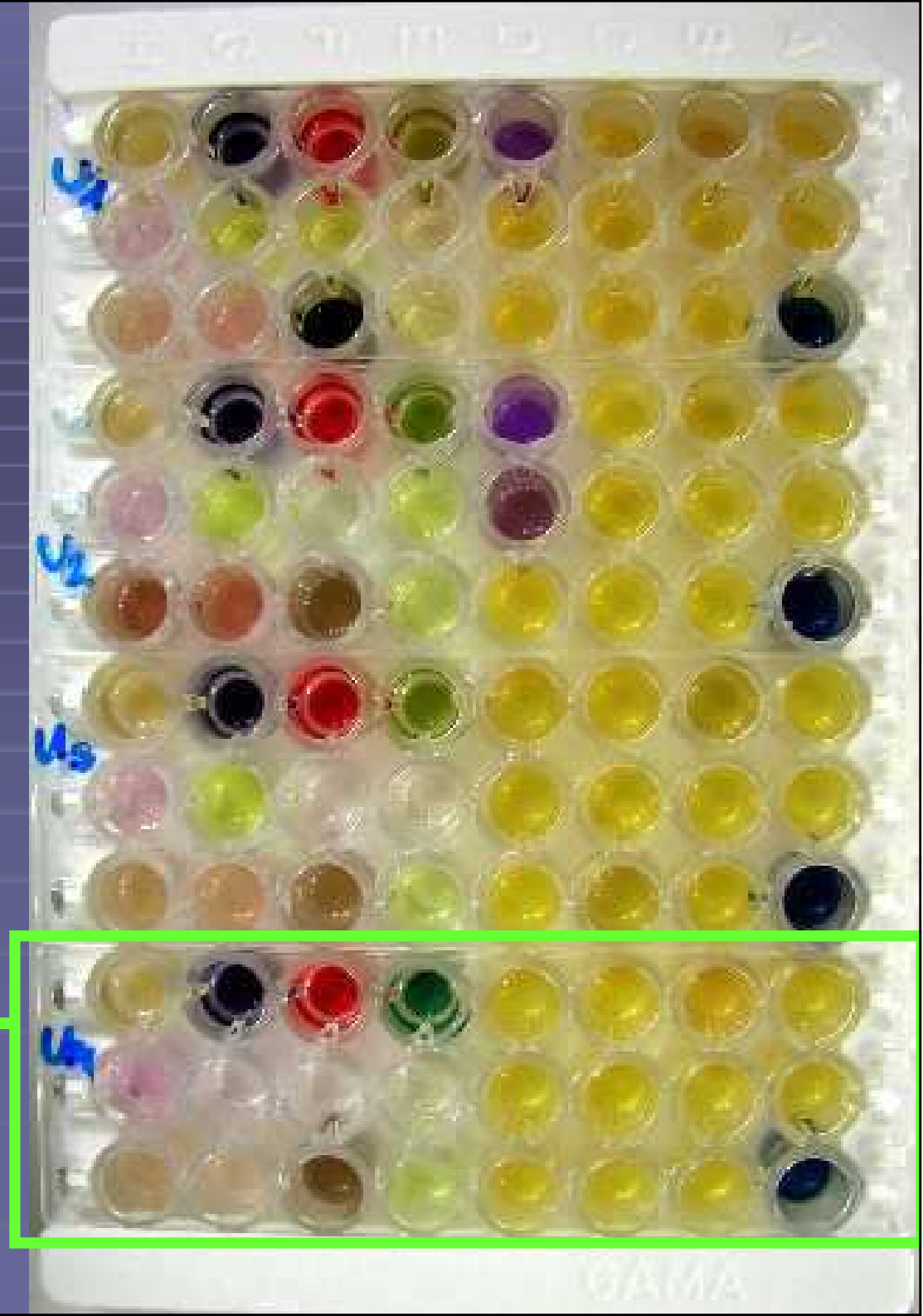
- Gramovo barvení odliší gramnegativní tyčinky od ostatních bakterií
- Endova půda: jak již víme, rostou na ní z klinicky významných jen enterobaktérie, příslušníci čeledi *Vibrionaceae* a gramnegativní nefermentující tyčinky
- Nefermentující odliší to, že nefermentují glukózu (např. Hajnova půda zůstává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



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

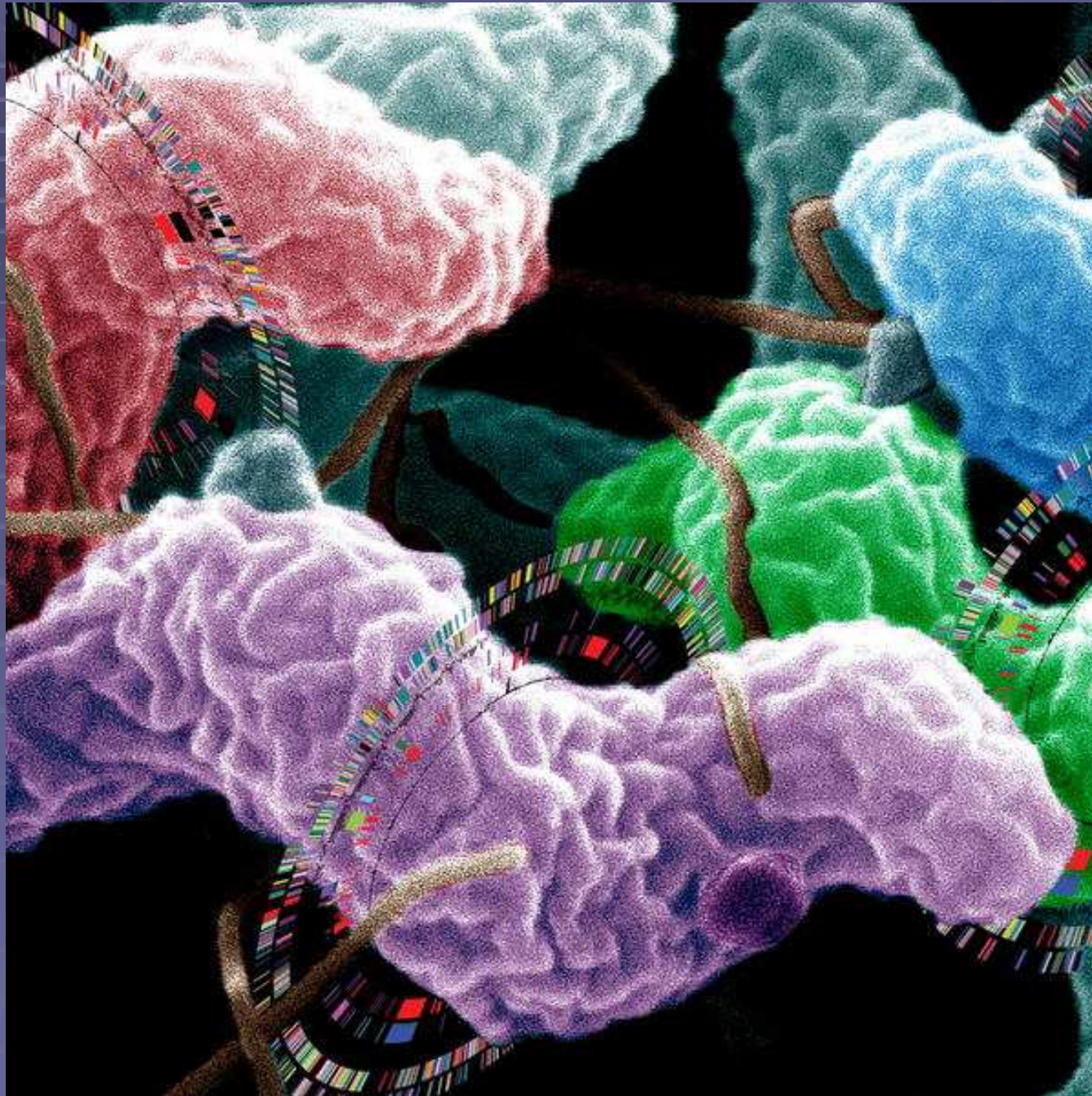
Antibiotikum	Zkratka	Referenč. zóna*
Piperacilin + tazobaktam	TZP	22 mm
Gentamicin (aminoglykos.)	CN	18 mm
Imipenem (karbapenem)	IMP/IMI	22 mm
Ciprofloxacin (chin 3 gen)	CIP	29 mm
Ceftazidim (CS 3 gen)	CAZ	16 mm
Colistin	CT	12 mm



Šlo by to i E-testem



4. Kamylobakter a helikobakter



Základní charakteristika

- *Campylobacteriaceae* jsou zahnuté, oxidáza pozitivní bakterie
- Jsou **růstově náročné**, nerostou na Endově, ale dokonce ani na krevním agaru
- Jsou **zahnuté** (*Campylobacter*) nebo dokonce **několikrát zprohýbané** (*Helicobacter*). Hrubá spirála helikobakterů se ovšem považuje za zvláštní případ tyčinky, nejde tedy o spirochetu
- Klinická charakteristika, přenos a léčba budou uvedeny u každé z obou bakterií zvlášť

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 kamylobakteri0za je sv0m pr0b0hem a z0važností srovnateln0 se salmonel0zou
- Počet p0p0ad0 u n0s je v posledn0ch letech p0bližn0 stejn0 jako v p0p0ad0 salmonel0zy. T0žko ř0ci, do jak0 m0ry kamylobakteri0zy skutečně p0ribylo a do jak0 je jen l0pe diagnostikov0na neř d0ive



Klinická charakteristika, přenos a léčba

- **Klinicky** jde o průjmové onemocnění, velmi podobné salmonelóze
- **Přenos** je fekálně orální. Na rozdíl od salmonelózy nebývají zdrojem vajíčka, ale spíše kuřata. Může dojít i k sekundární kontaminaci (skladování zákusků v krabici od kuřat například)
- **Léčba** je většinou symptomatická, antibiotika se používají výjimečně, ale přece jen častěji než u salmonelózy

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...



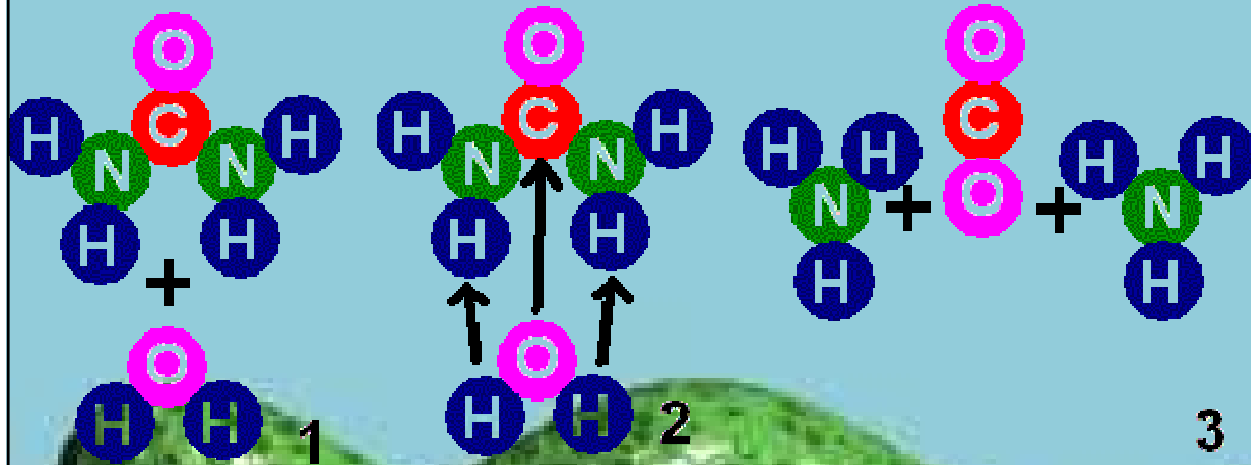
- Peptické (tedy gastrické či duodenální) vředy jsou onemocněním, které vzniká souhrou více příčin. Takovým onemocněním říkáme obvykle multifaktoriální.
- Dodnes se nejen mezi praktickými lékaři, ale i mezi odborníky liší názory na podíl bakterie *Helicobacter pylori* na vředové onemocnění. Jisto je, 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?

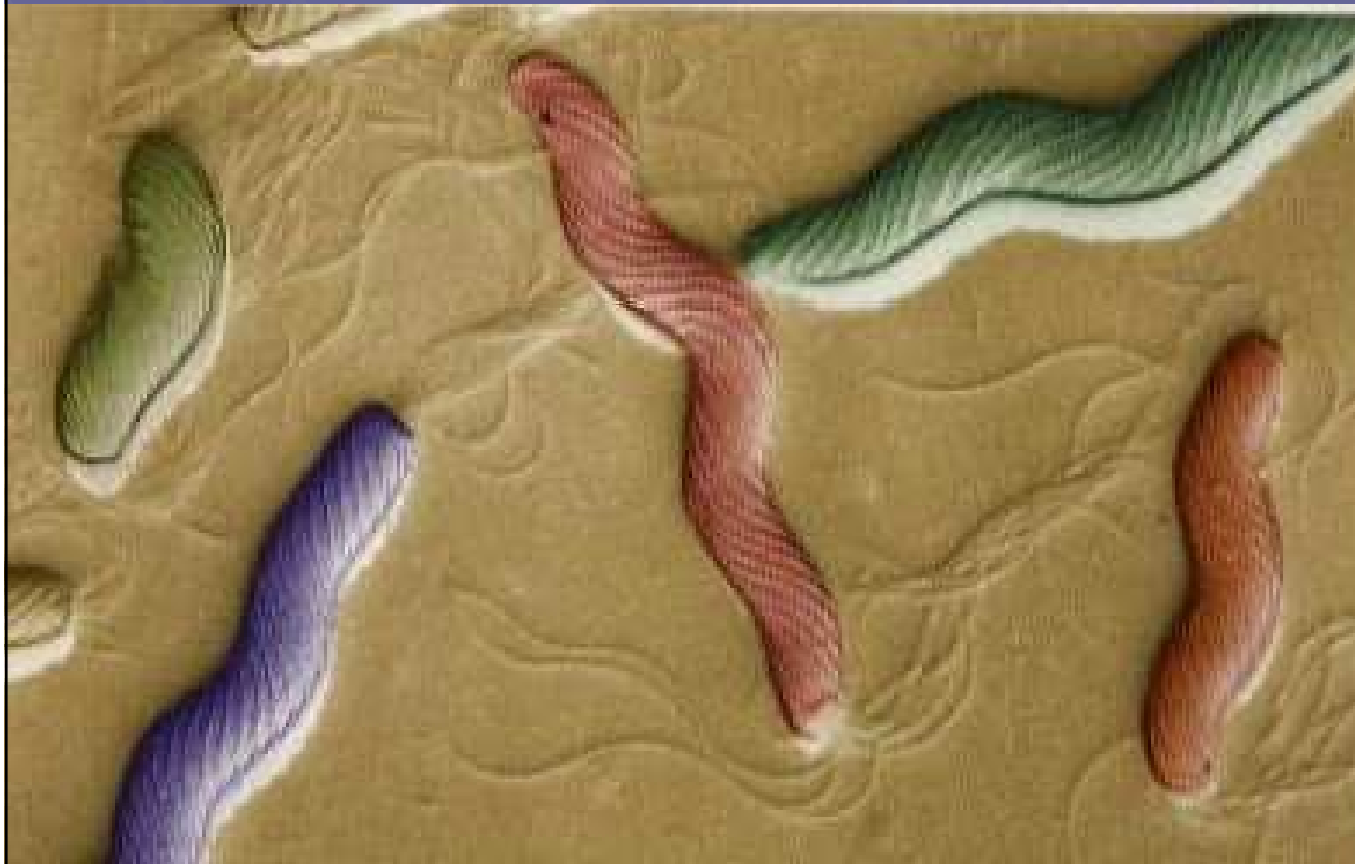
- Upravuje si své mikroprostředí – alkalizuje si ho, štěpě močovinu
- Močovina se rozštěpí na kyselý oxid uhličitý, který vyprchá, a zásaditý čpavek, který zůstane a alkalizuje prostředí
- Štěpení močoviny probíhá podle reakce:



Ještě jednou štěpení močoviny



(zde místo čpavku NH_4OH figuruje amoniak NH_3 , proto také do reakce vstupuje jen jedna molekula vody – NH_3 se ovšem jako plyn okamžitě slučuje s další molekulou vody na NH_4OH)



Komplikace helikobakterového onemocnění

Helicobacter-Infektion und die Folgen

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

Magengeschwür



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

Gastritis

Dadurch werden die Stoffwechsellvorgänge 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

Verschlebeschicht (Submucosa)

Ringmuskelschicht

Längsmuskelschicht (Bauchfell)

Querschnitt durch die gesunde Magenwand

Klinická charakteristika, přenos a léčba

- **Peptické vředy** (mohou být žaludeční nebo duodenální) jsou onemocněním charakterizované chronickým pálením žáhy, zvracením, často s krví
- O **přenosu** se toho mnoho neví, ale zřejmě je fekálně orální
- **Léčba** je kombinovaná, viz další obrazovka

Léčba vředového onemocnění

- Jde o komplexní záležitost
- **Doporučená je dnes trojkombinace dvou antibiotik + inhibitoru vodíkové pumpy:**
clarithromycin 500 mg každých 12 hodin po 7 dnů
- **amoxicilin** 1000 mg každých 12 hodin po dobu 7 až 14 dnů (nebo metronidazol 500 mg každých 12 hodin po dobu 7 až 14 dnů)
- **omeprazol** 20 až 40 mg každé 24 hodiny po dobu 7 až 14 dnů.

Používalo se také solí vizmutu.

Několik poznámek k diagnostice kamylobakterů

- Kamylobaktery vyžadují v zásadě čtyři věci:
 - Svoji černou půdu – říkáme jí většinou „půda pro kamylobaktery“, její název CCDA se běžně nepoužívá
 - Zvýšenou teplotu na cca 42 °C. Jsou to totiž primárně ptačí patogeny a ptáci mají vyšší tělesnou teplotu
 - Zvýšenou tenzi CO₂
 - Prodlouženou dobu kultivace – nikoli 24, ale 48 hodin

Několik poznámek k diagnostice helikobakterů

- V jejich diagnostice se používají speciality:
 - Mikroskopický a kulturační 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[®]

Patient: *EISHAM*

Datum/Date: 2005-09-09

Corpus Antrum

Befund/Result:

neg:

pos:

⊖

⊕

Ch.-B./Lot:

FJ2809A1

verw. bis/Exp.:

09-2005

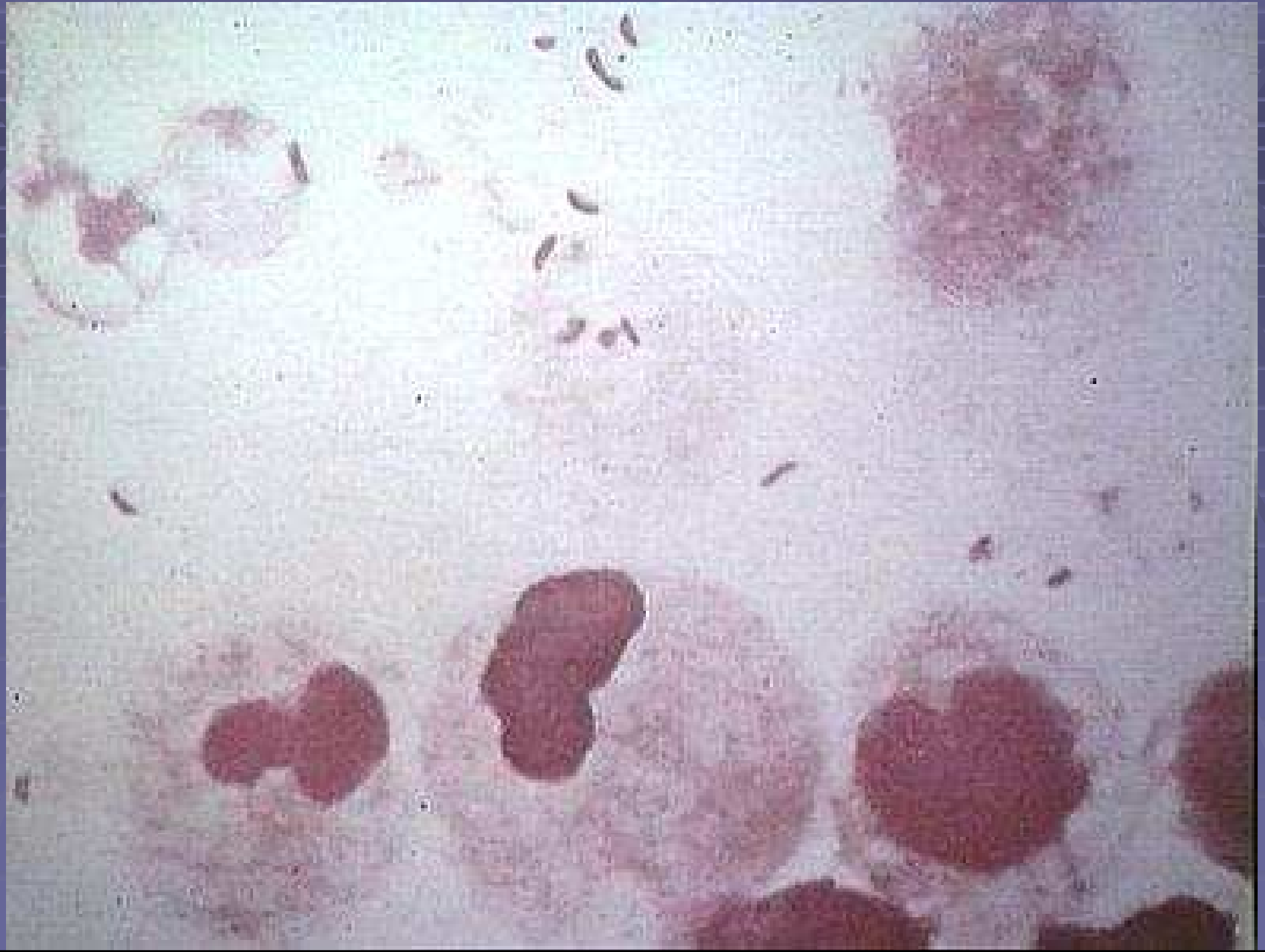
CE

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 helikobakter, rozštěpí se už v žaludku a značený CO_2 se objeví ve vydechaném vzduchu. Čím více značeného CO_2 , tím více helikobaktera
- Pojišťovna proplácí jen u dětí (pokud víme)

5. Čeled' *Pasteurellaceae*



Základní charakteristika

- ***Pasteurellaceae*** je další čeleď kultivačně náročných, na Endu nerostoucích bakterií
- Ze dvou nejvýznamnějších původců ***Pasteurella*** roste alespoň na krevním agaru, ***Haemophilus*** roste jen na čokoládovém agaru (ledaže mu poskytneme za společníka např. zlatého stafylokoka, viz dále)
- Pro diagnostiku je významný typický **zápach**
- Existují i další členové této čeledi, ti jsou však méně významní
- Další údaje uvedeme u každé potvrzky zvlášť

Příběh

- Kubík je hodný kluk, ale jeho rodiče jsou členy jakési sekty a nechtějí Kubíka nechat očkovat. Nejraději 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.
- Bylo nutno použít léčbu ceftriaxonem. Po několika dnech se Kubíkův stav začal zlepšovat.

Viníkem byl...

- ...*Haemophilus influenzae*, typ b.



Haemophilus influenzae I

- *Haemophilus influenzae* může být přítomen ve faryngu zdravých osob, ale může být i patogenem.
- Patogenní jsou zejména určité kmeny. Většina z nich patří k serotypu b (*Haemophilus influenzae* b, „Hib“).
- Serotypy jsou dány **pouzderným antigenem**. Hemofily mohou patřit k typu **a** až **f**, nebo nemusí patřit k žádnému z nich (pokud jsou neopouzdržené)



H

I

B

**U-
S-
-
M-
-
C-
-
U**

Haemophilus influenzae II

■ **Způsobuje**

- **meningitidy**, hlavně v batolecím věku (děti, které z rodiny přišly do jeslí nebo školky)
- **epiglottitidy** (izolované záněty příklopky hrtanové)
- případně i **jiné dýchací infekce** a vzácně infekce jiných orgánů

■ **Přenos** je většinou vzduchem

■ **Prevence** infekce Hib se dnes provádí očkováním, očkovací látka je součástí hexavakcíny.

■ V **léčbě** těžkých infekcí se uplatňují cefalosporiny třetí generace, u lehčích aminopeniciliny, ko-trimoxazol aj.

Jak přišel *Haemophilus influenzae* ke svému jménu

- *Haemophilus influenzae* dostal své jméno proto, že byl považován za původce chřipky. Často byl při pitvě nalézán v plicích osob, které na chřipku zemřely
- Pravděpodobně se tam ale dostal až po smrti z faryngu
- Infekce plic a dolních dýchacích cest způsobené tímto hemofilem jsou možné, ale nejsou časté, a když, tak jsou zpravidla druhotné po virové infekci

Jiné hemofily

- ***Haemophilus parainfluenzae*** se vyskytuje ve faryngu zdravých osob velmi běžně, v podstatě je součástí normální mikroflóry. Jen výjimečně se stává patogenem
- V podstatě totéž se týká ***H. aphrophilus*** a různých dalších
- Zvláštním případem je ***Haemophilus ducreyi***, což je původce **měkkého vředu**. To je jedna z klasických pohlavních chorob, vyskytuje se hlavně v tropech. (Neplést s tvrdým vředem u syfilis)

Diagnostika hemofilů

■ Přímé metody

- Mikroskopie – teoreticky, pokud by byla potřeba; jsou to gramnegativní krátké tyčinky
- Kultivace – hemofily rostou jen na čokoládovém, agaru, na krevním ani na Endově půdě neroste. Na krevním případně roste v přítomnosti *S. aureus*
- Biochemická identifikace – u nás není vhodná souprava, v zahraničí soupravy existují
- Test potřeby růstových faktorů – viz dále
- Antigenní analýza – latexová aglutinace (Hib)

Nepřímé metody se téměř nepoužívají

Ještě k hemofilům



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

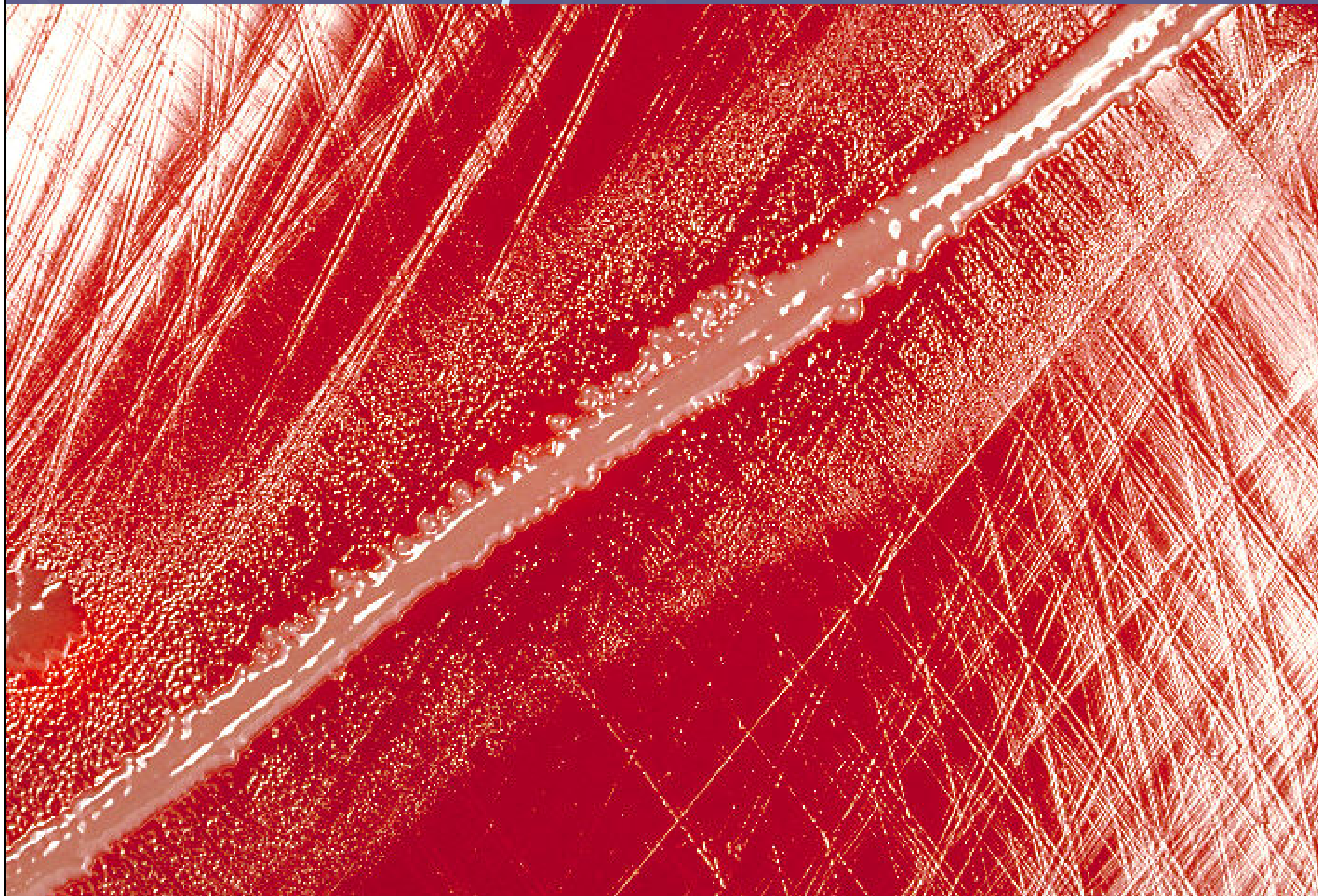
- Hemofily neumějí růst na krevním agaru, protože si neumějí „otevřít“ krvinku
- Rostou tedy na čokoládovém agaru
- Na KA rostou v přítomnosti takové bakterie, která jim krvinku „otevře“ (satelitový fenomén). Takovou bakterií je například zlatý stafylokok
- Mají droboučké kolonie, proto se používá disk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

Hemofily



Ještě jednou satelit

<http://phil.cdc.gov>

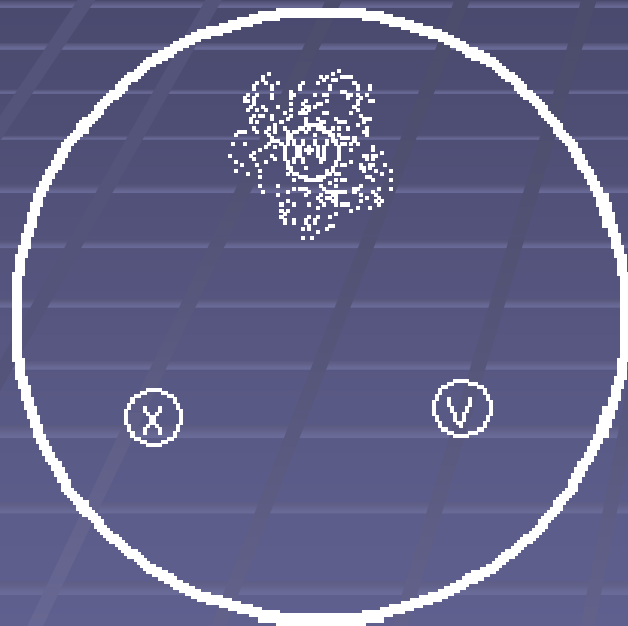


Hemofily a růstové faktory

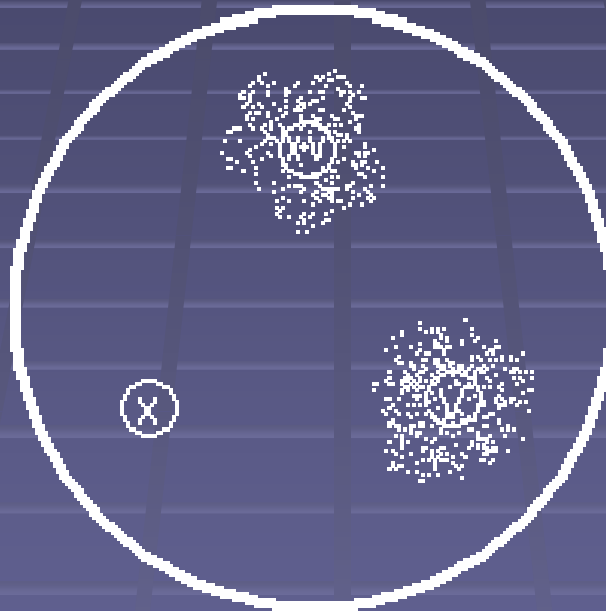
- Ne všechny hemofily potřebují stejné faktory.
- *H. parainfluenzae* potřebuje faktor V (NAD)
- *H. aphrophilus* faktor X (což je hemin)
- *H. influenzae* potřebuje oba. Používáme disky napuštěné těmito faktory.

Test růstových faktorů hemofilů

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



Haemophilus influenzae



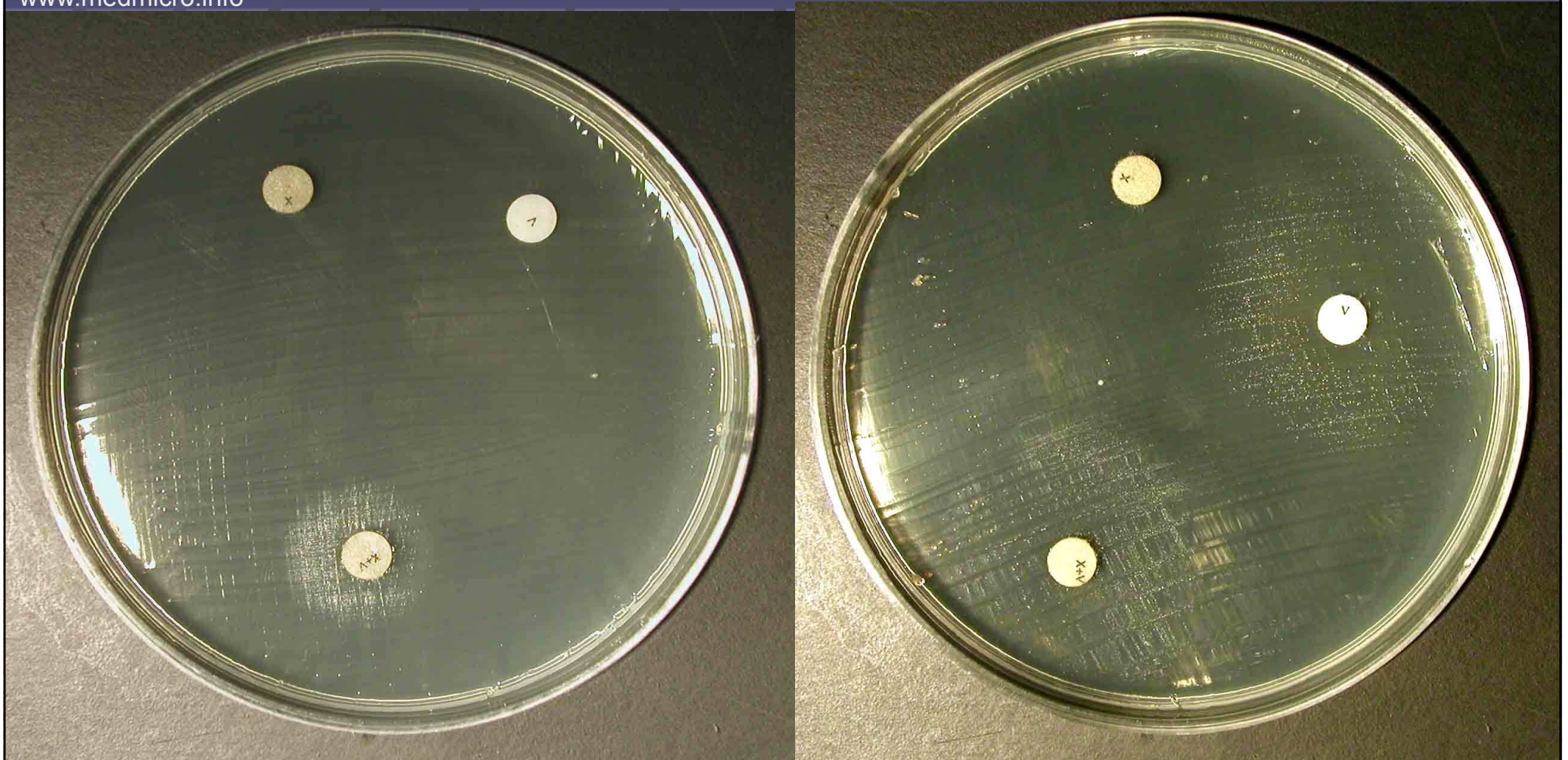
Haemophilus parainfluenzae



Haemophilus aphrophilus

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

www.medmicro.info



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

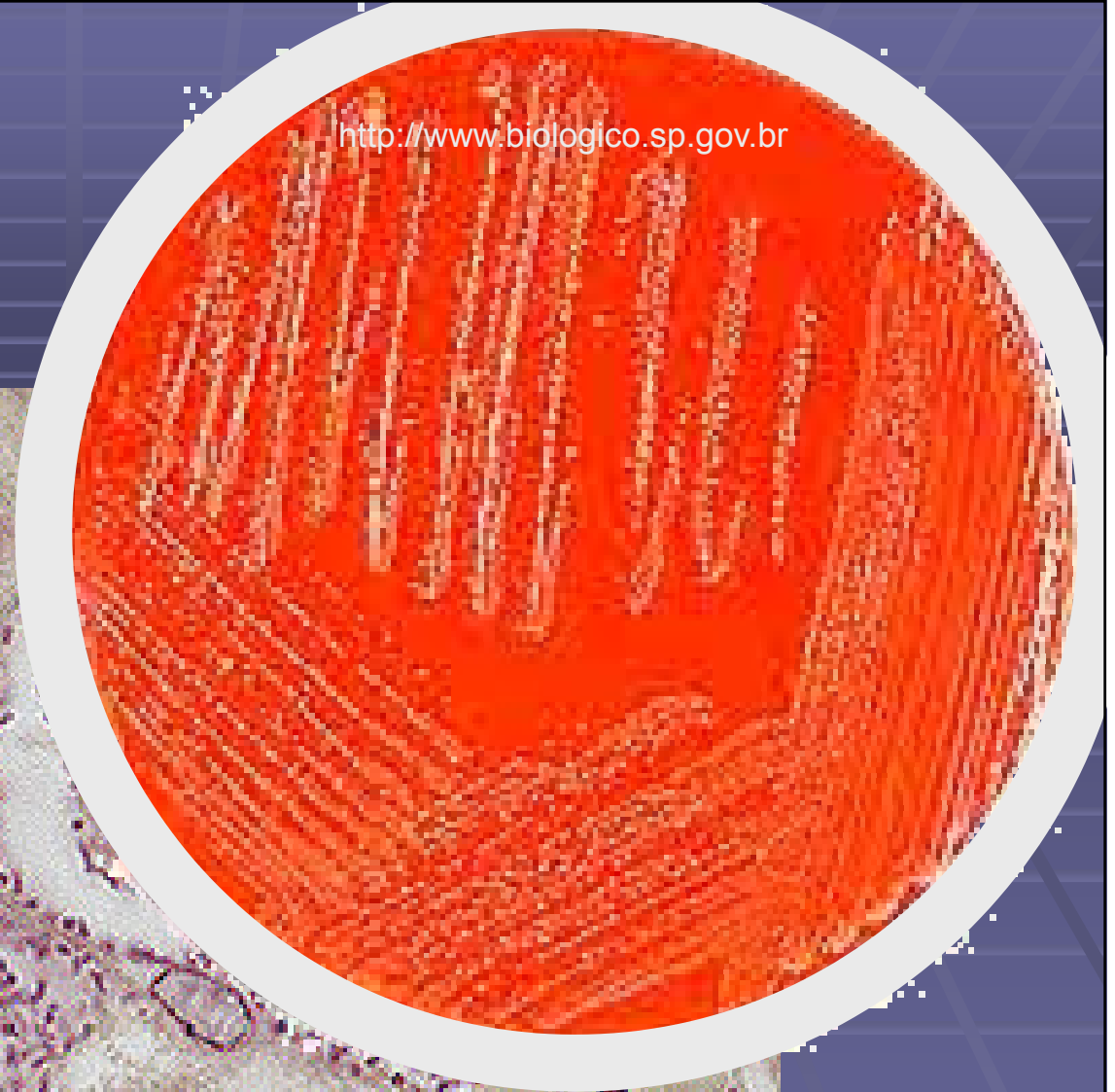
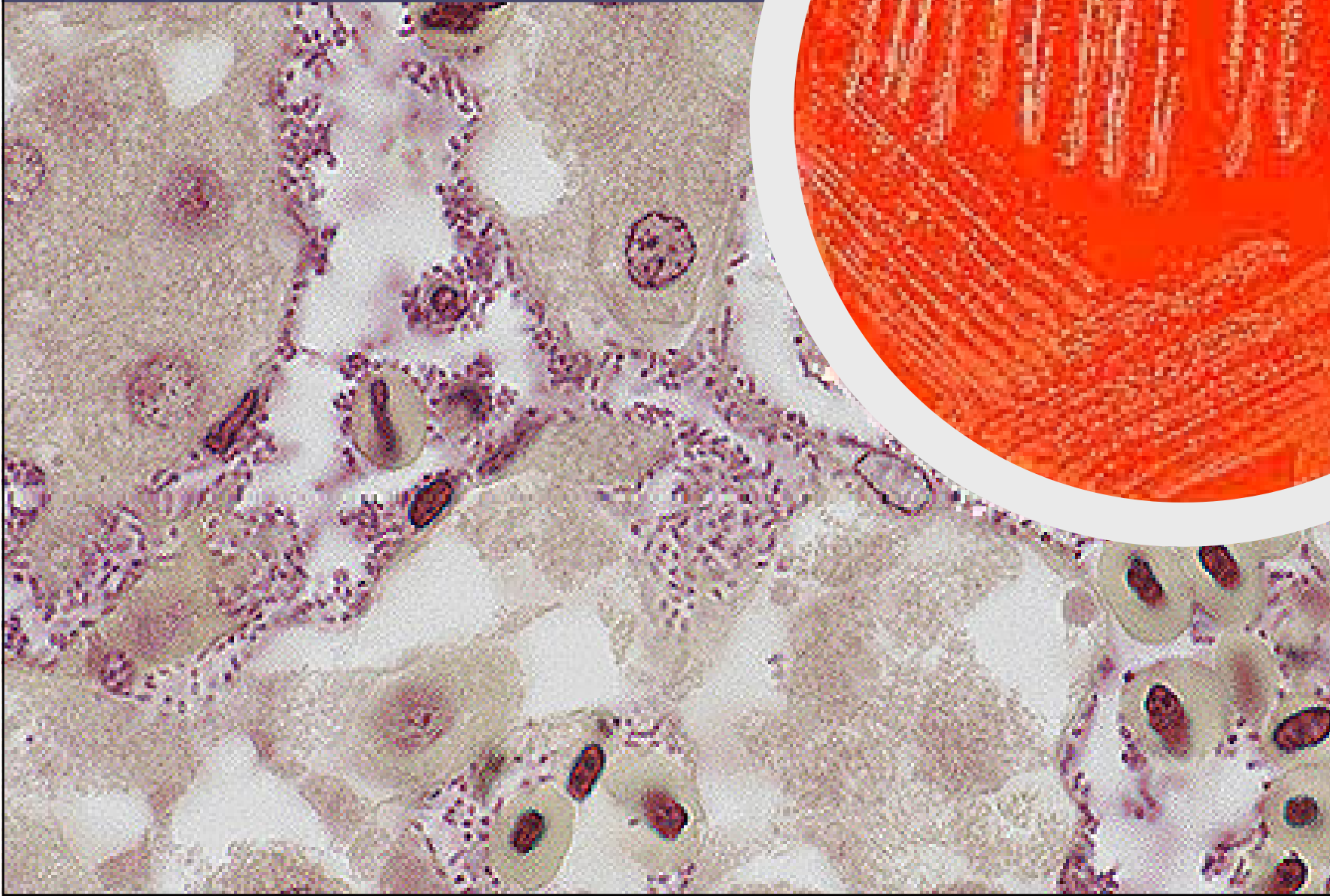
Pasteurella multocida

- *Pasteurella multocida* je běžnou flórou v psích tlamách.
- U člověka způsobuje zejména zhnisání ran po pokousání psem či jiným zvířetem.
- Může jít o rány, které byly například druhotně psem olízané
- Klinicky se onemocnění projevuje zhnisáním rány, tak jako při jiných původcích

Pasteurella multocida

<http://library.thinkquest.org>

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



Diagnostika pasteurel

- Roste na krevním agaru i sama. Neroste však většinou na Endově půdě
- Má podobný charakteristický pach jako hemofil, ale na rozdíl od něj roste na krevním agaru. Vypadá tam jako něco mezi streptokokem a enterokokem.
- Je rezistentní na vankomycin, což obvykle mikrobiologa „trkne“. Naopak na penicilin bývá citlivá – tato kombinace je typická
- V diagnostice je možné použít i některé zahraniční biochemické testy

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



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

Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

Základní charakteristika

- Bakterie probírané v této části jsou **kultivačně náročné**.
 - Na Endově půdě nerostou.
 - Pokud rostou na krevním agaru, jsou tam snadno zaměnitelné za jiné druhy, a proto raději pro jejich diagnostiku používáme speciálně půdy.
- U některých se používá spíše **nepřímý průkaz**
- Další charakteristika viz jednotlivé rody

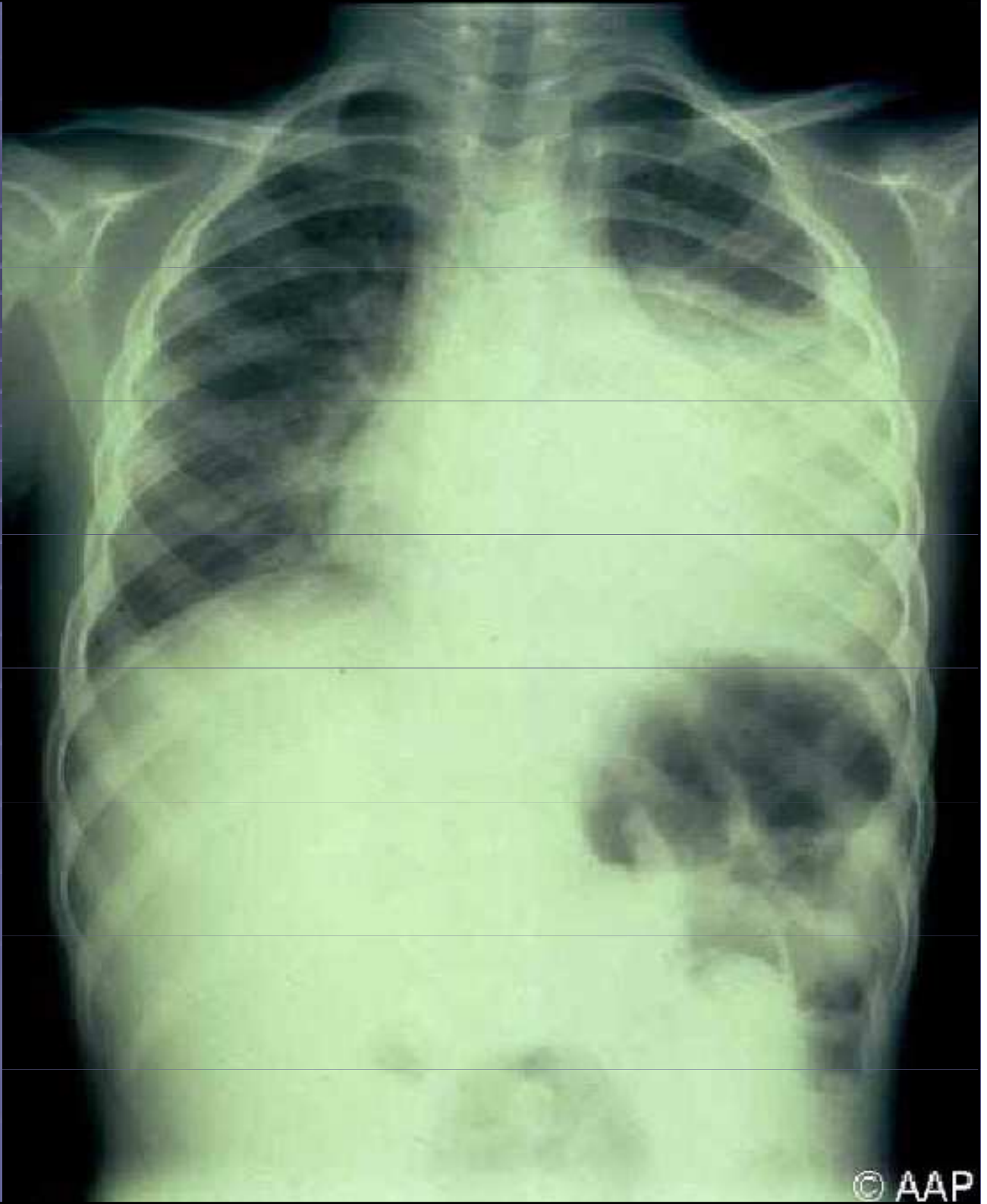
Příběh

- 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

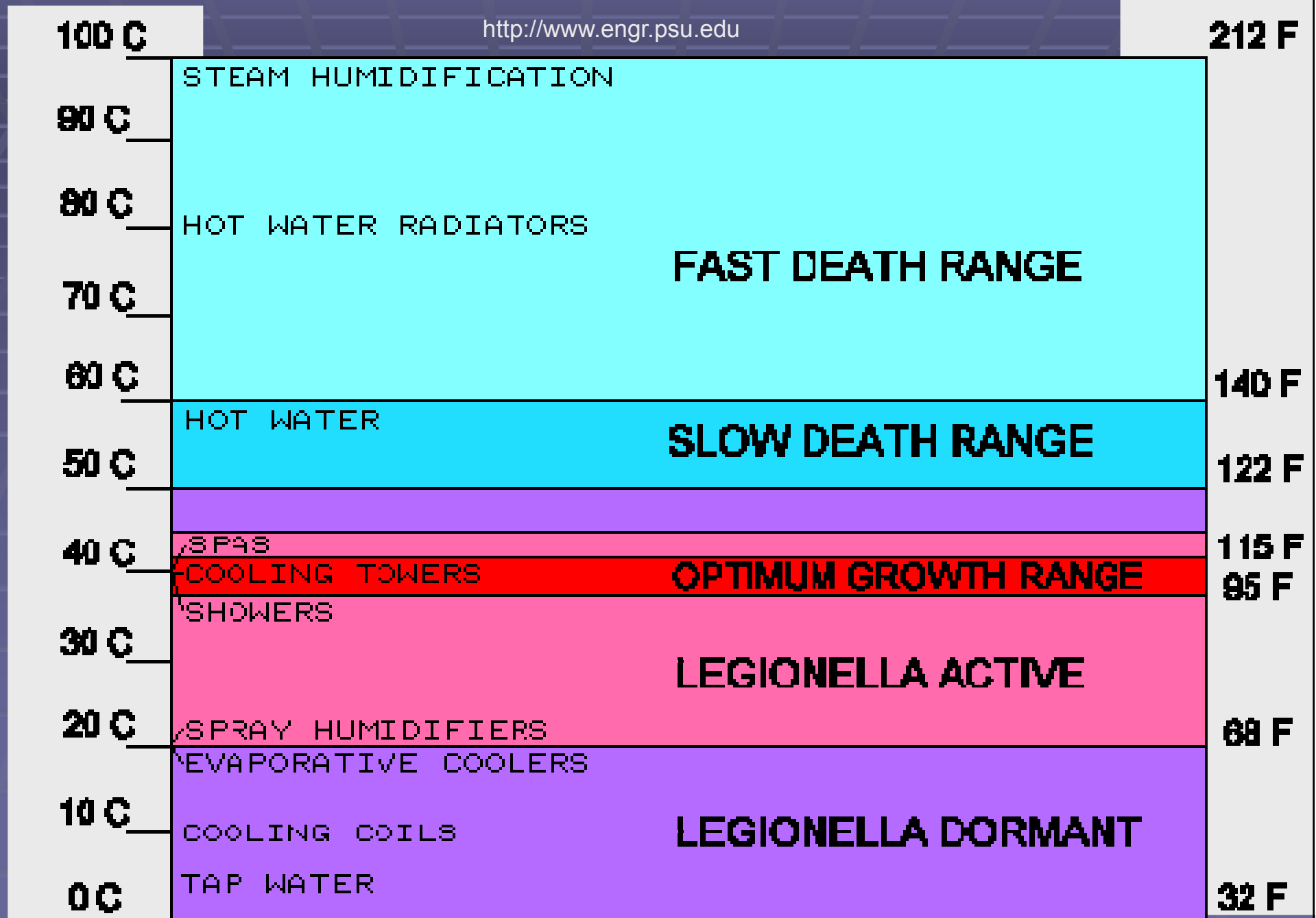
- Tuto nemoc působí *Legionella pneumophila*
- Legionářská nemoc je těžší variantou nemoci; existuje ještě mírnější varianta, **Pontiacká horečka**.
- Bakterie má často rezervoár ve **vodovodech, klimatizaci, atd.**
- Při stavbě nových částí nemocnic (ale i domovů důchodců, hotelů, lázní...) se musí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

Legionářská
nemoc
(anglicky:
Legionaire's
disease)



Legionella a teplota

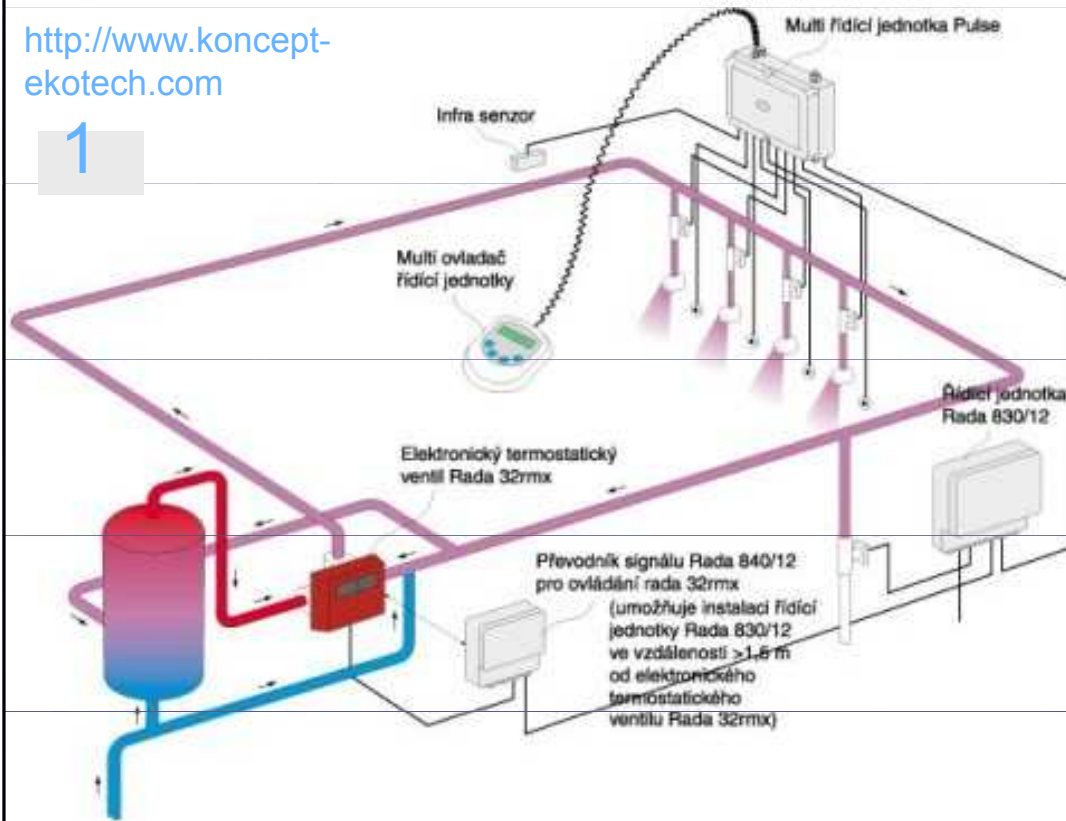
<http://www.engr.psu.edu>



Některé způsoby desinfekce vody

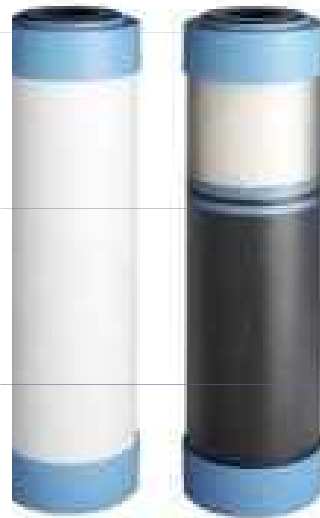
<http://www.koncept-ekotech.com>

1



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

3



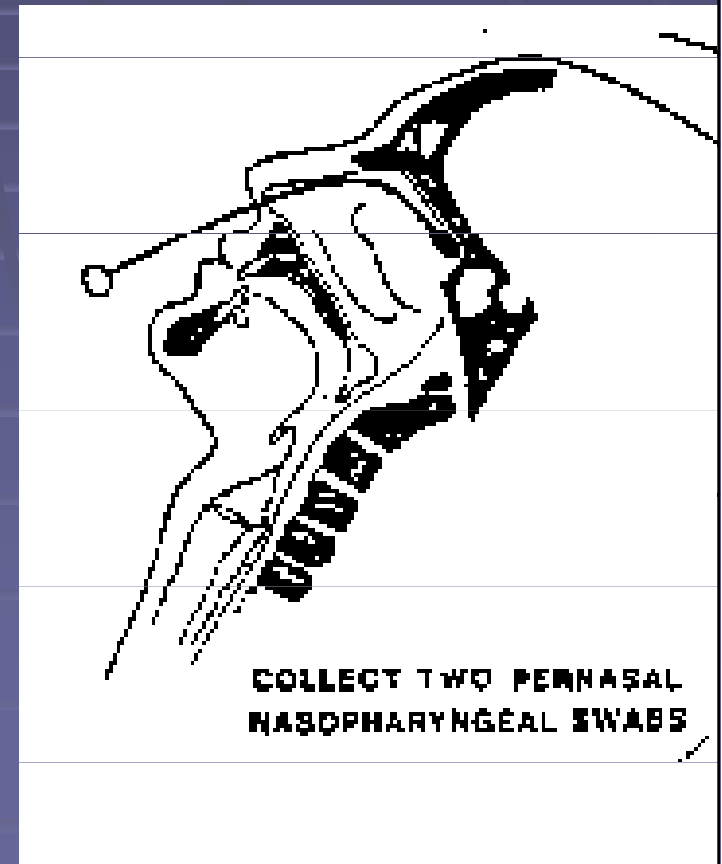
<http://www.awtwater.co.uk>

4



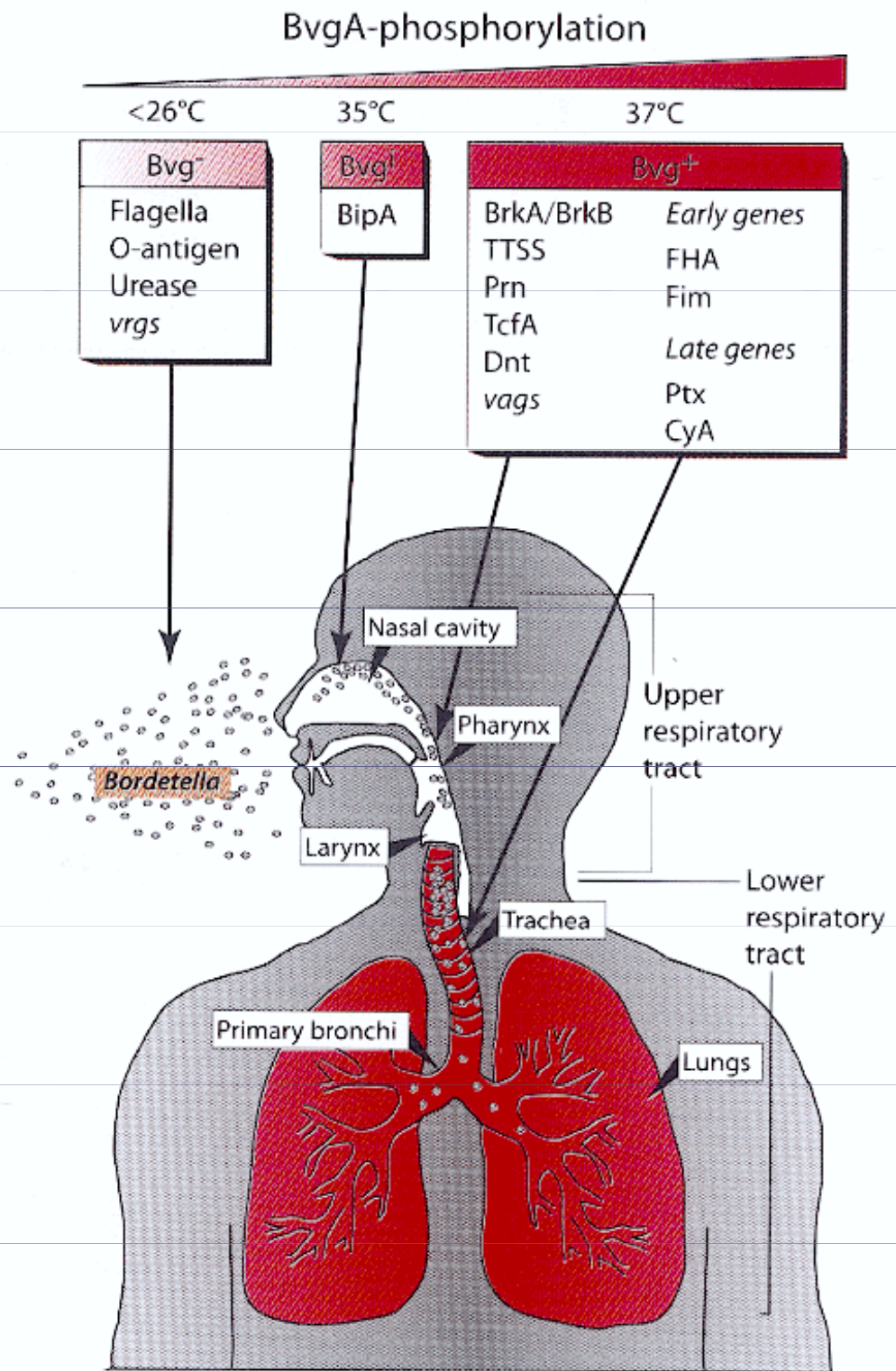
Rod *Bordetella*

- *B. pertussis* a *B. parapertussis* způsobují černý kašel. Začíná jako běžné nachlazení, ale pak přicházejí mučivé záchvaty kašle s vykašláváním hlenů. U parapertuse jsou příznaky podobné, spíše doba trvání je kratší
- *B. bronchiseptica* způsobuje totéž, navíc někdy i sepse
- Černý kašel je velmi vzácný díky očkování
- **Pernasální výtěr** (viz obrázek) se používá v případě potřeby



Bordetella a teplota

- Při různých teplotách se u bordetel aktivují různé geny. To bordetelám umožňuje přizpůsobit se situaci, ve které se zrovna nacházejí.

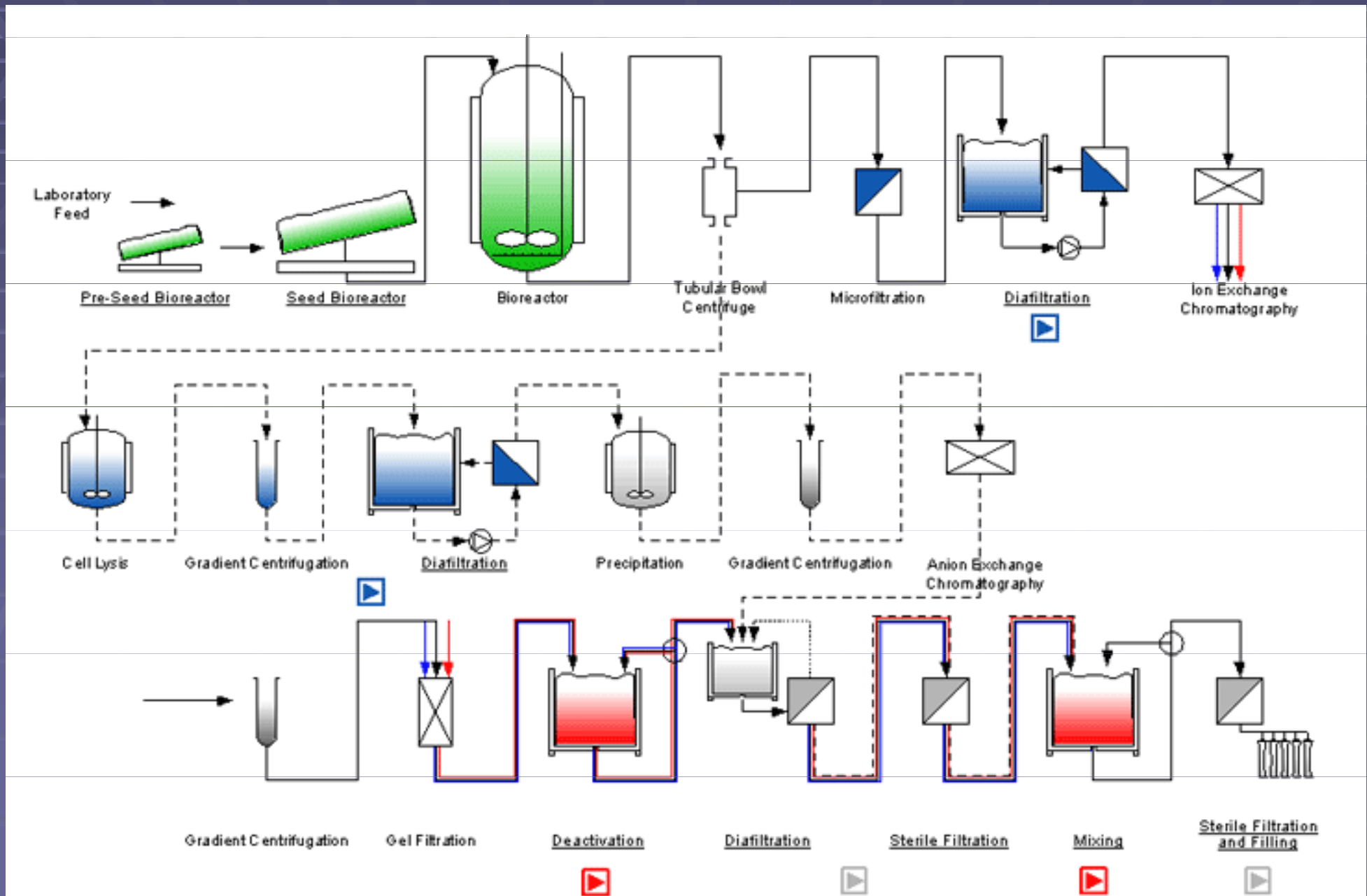


Bordetella
byla
izolována
1906 a
podíleli se
na tom
Jules
Bordet a
Octave
Gengou



Jak se dělá pertusová vakcína

www.stedim.com



Bordetella bronchiseptica: infekce kočky

Rod *Brucella*



www.poslovniforum.hr

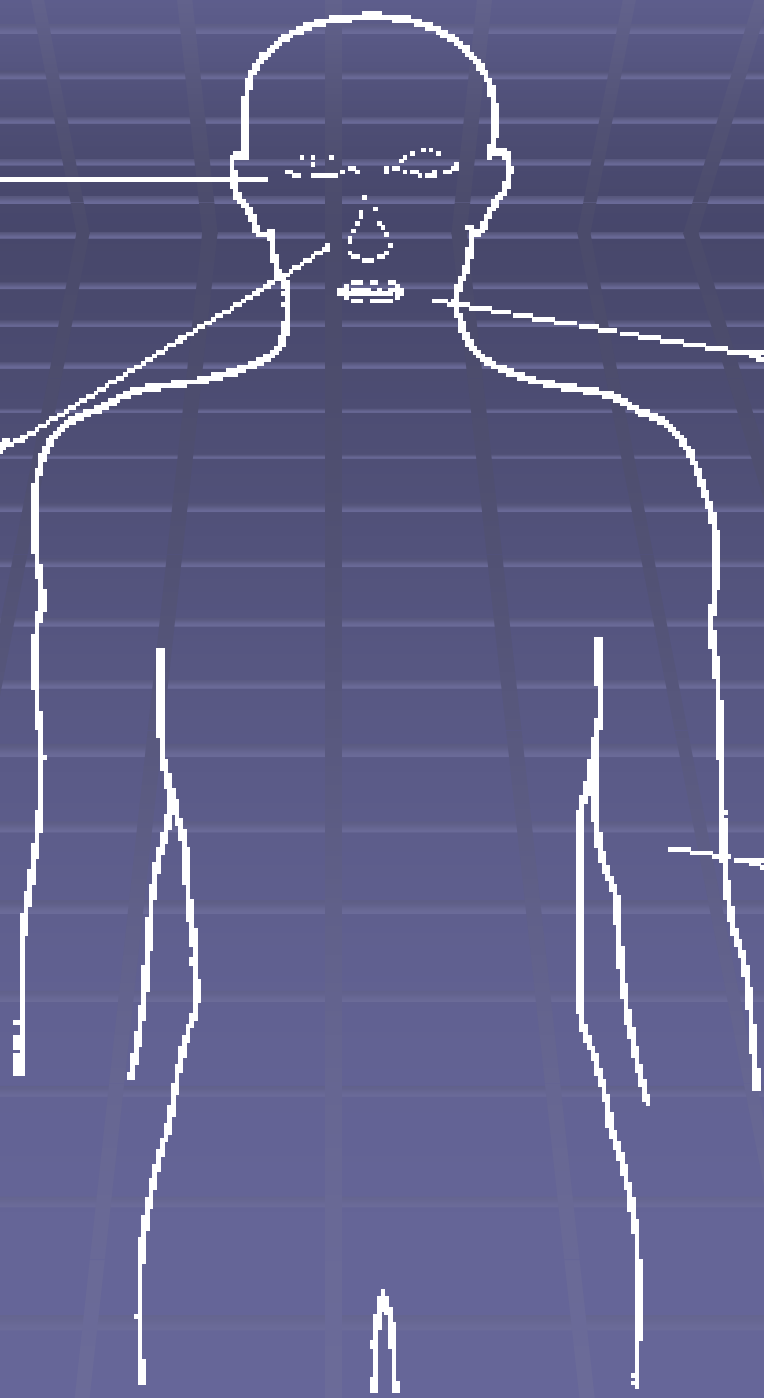
- Je to původce zoonóz
- *Brucella abortus* je kraví patogen. Často napadá hovězí placenty, způsobujíc zmetání (potraty) skotu. U lidí způsobuje **Bangovu nemoc** (horečka, orgánová postižení atd.)
- Dalšími brucelami jsou *Brucella suis* z prasat, *Brucella mellitensis* z ovcí a koz (původce **maltské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



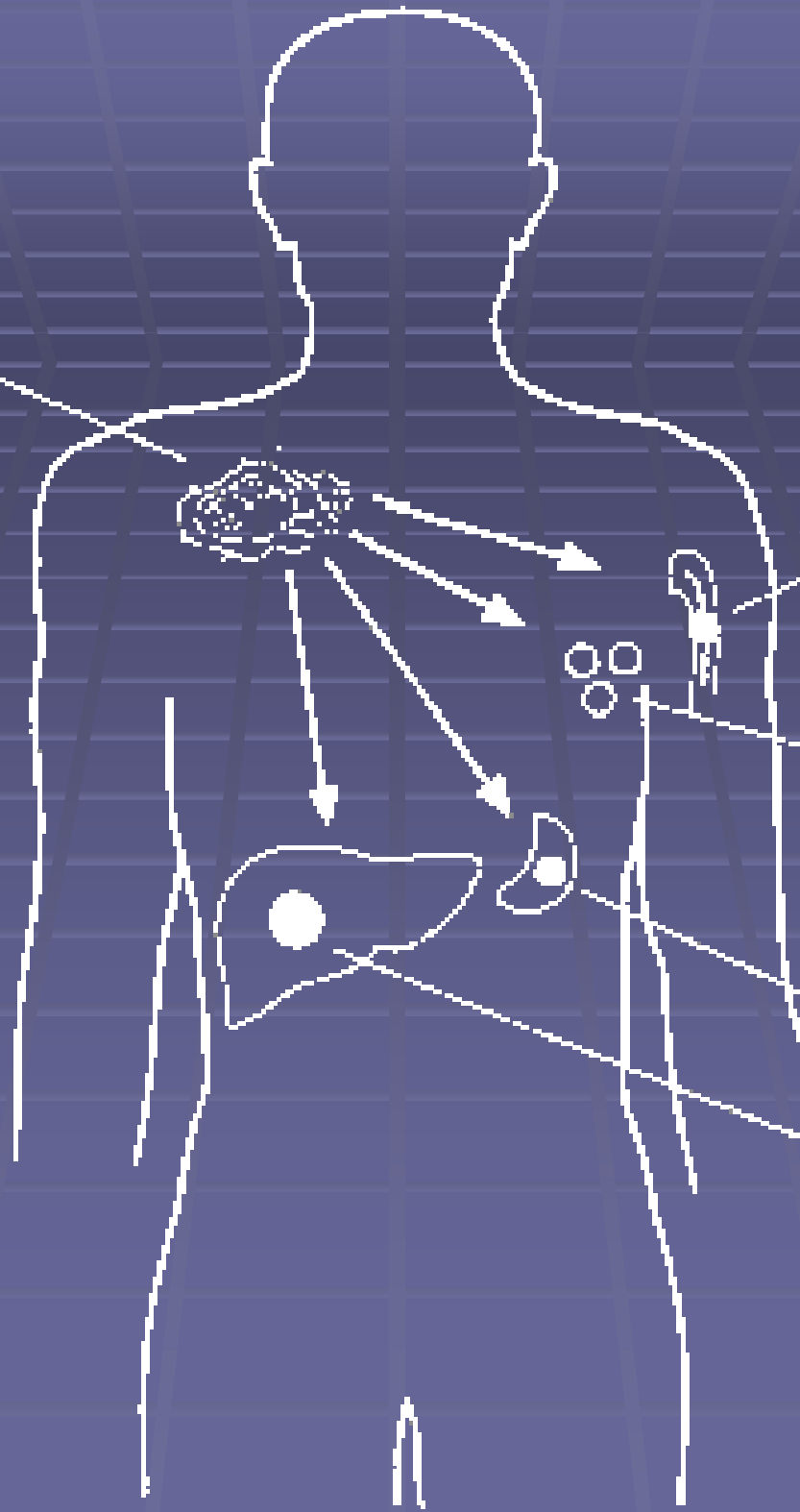
Brucella-infected
phagocytic cell

Bone marrow

Lymph nodes

Spleen

Liver

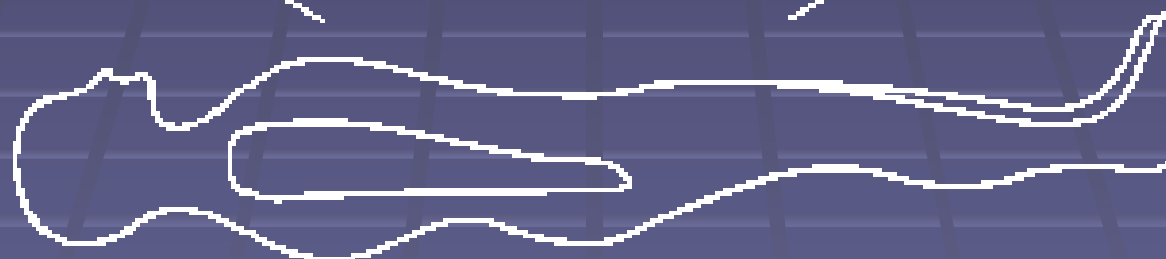
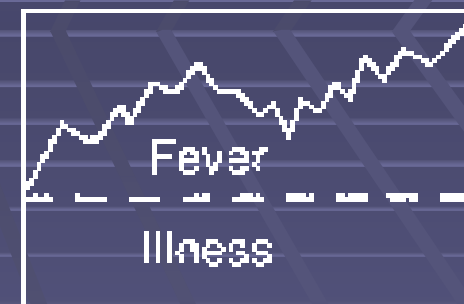


History and Physical Exam

Clinical

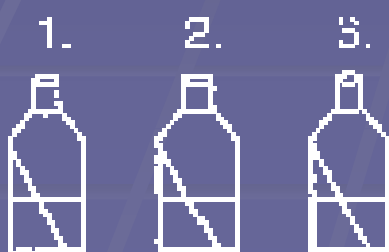
Occupation
Raw milk
Fresh cheese
Travel
Symptoms
Signs

Course of disease

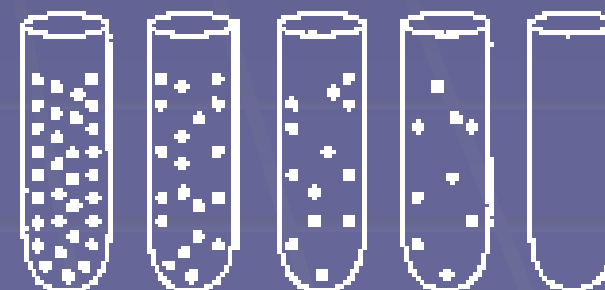


Laboratory

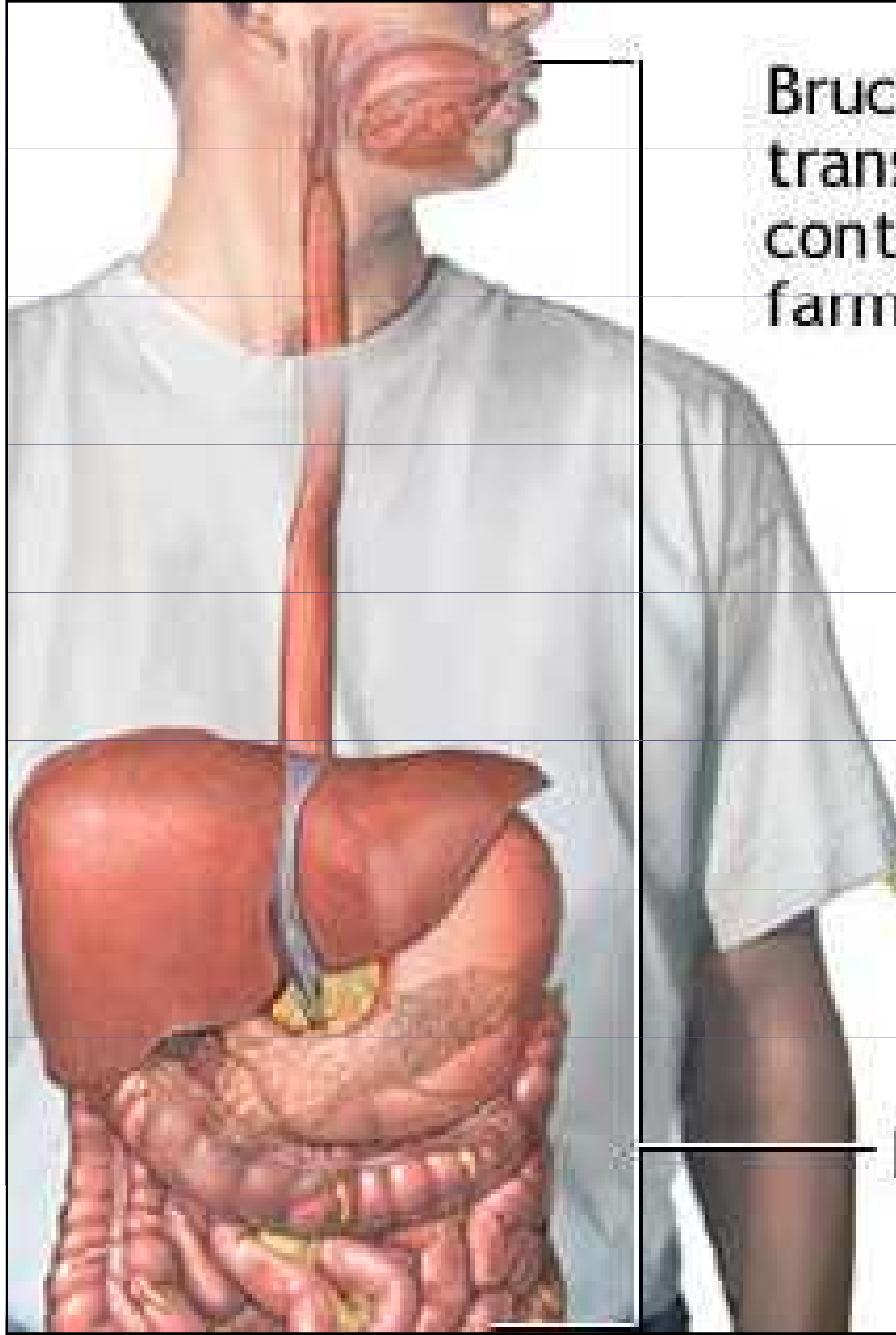
Blood cultures



Quantitative serology



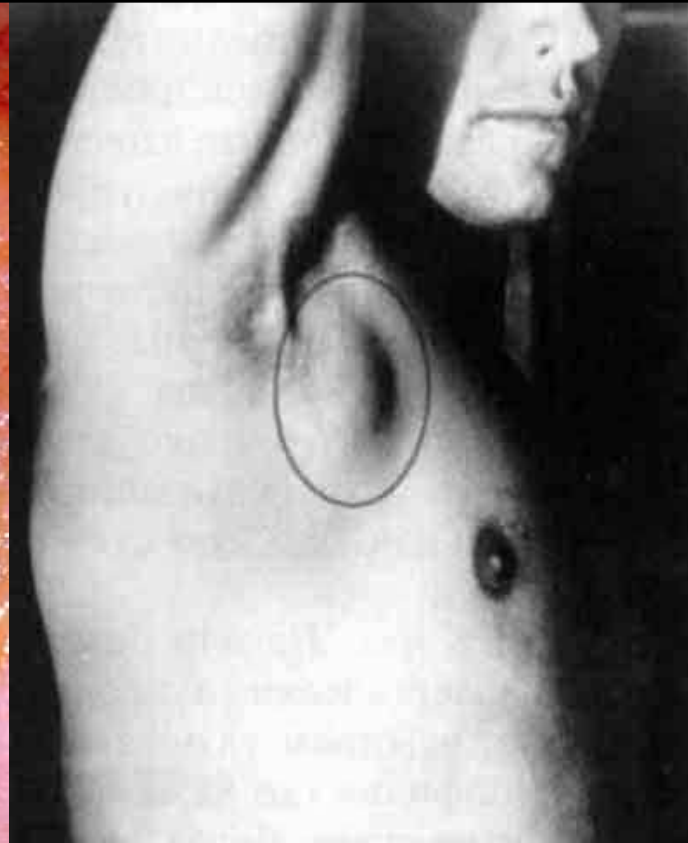
Brucella bacteria is usually transmitted to humans by contact with infected farm animals.



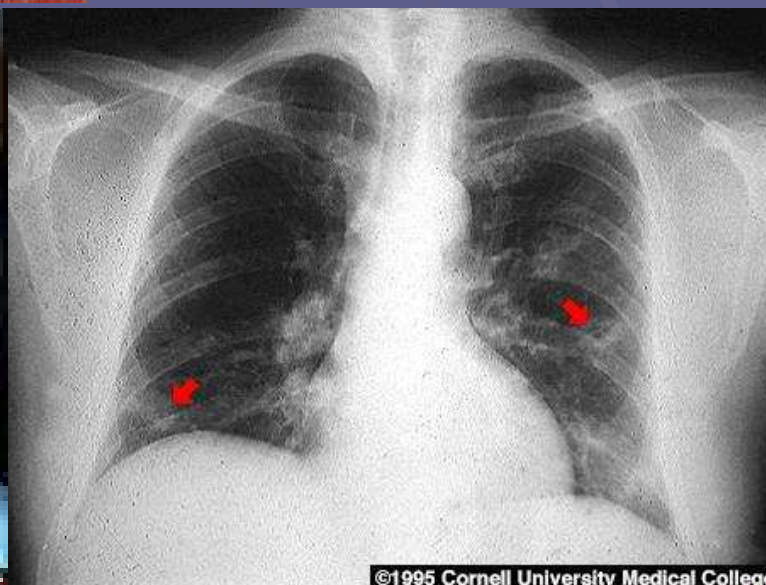
Digestive system

Rod *Francisella*

- Nejdůležitějším druhem je *F. tularensis*
- Způsobuje tularémii – „zaječí mor“
- Tento organismus může napadat rány, často s následným uzlinovým syndromem. Ránou, ale také např. dýchacími cestami, se může dostat do krevního řečiště a napadat různé orgány. Při masivním vniknutí do plic dojde k zápalu plic
- V riziku infekce jsou myslivci, ale ještě více kuchaři připravující zvěřinu

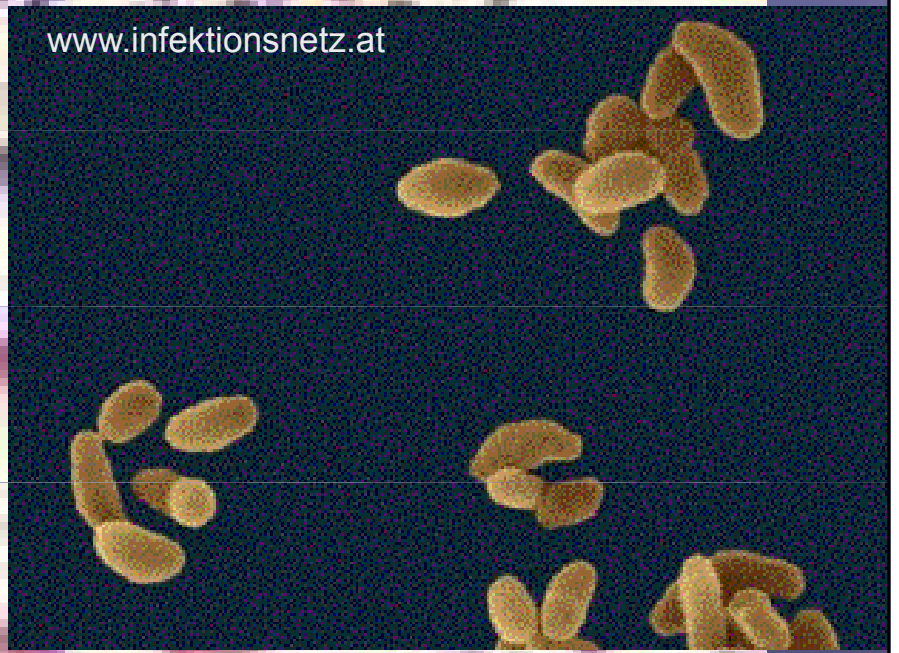
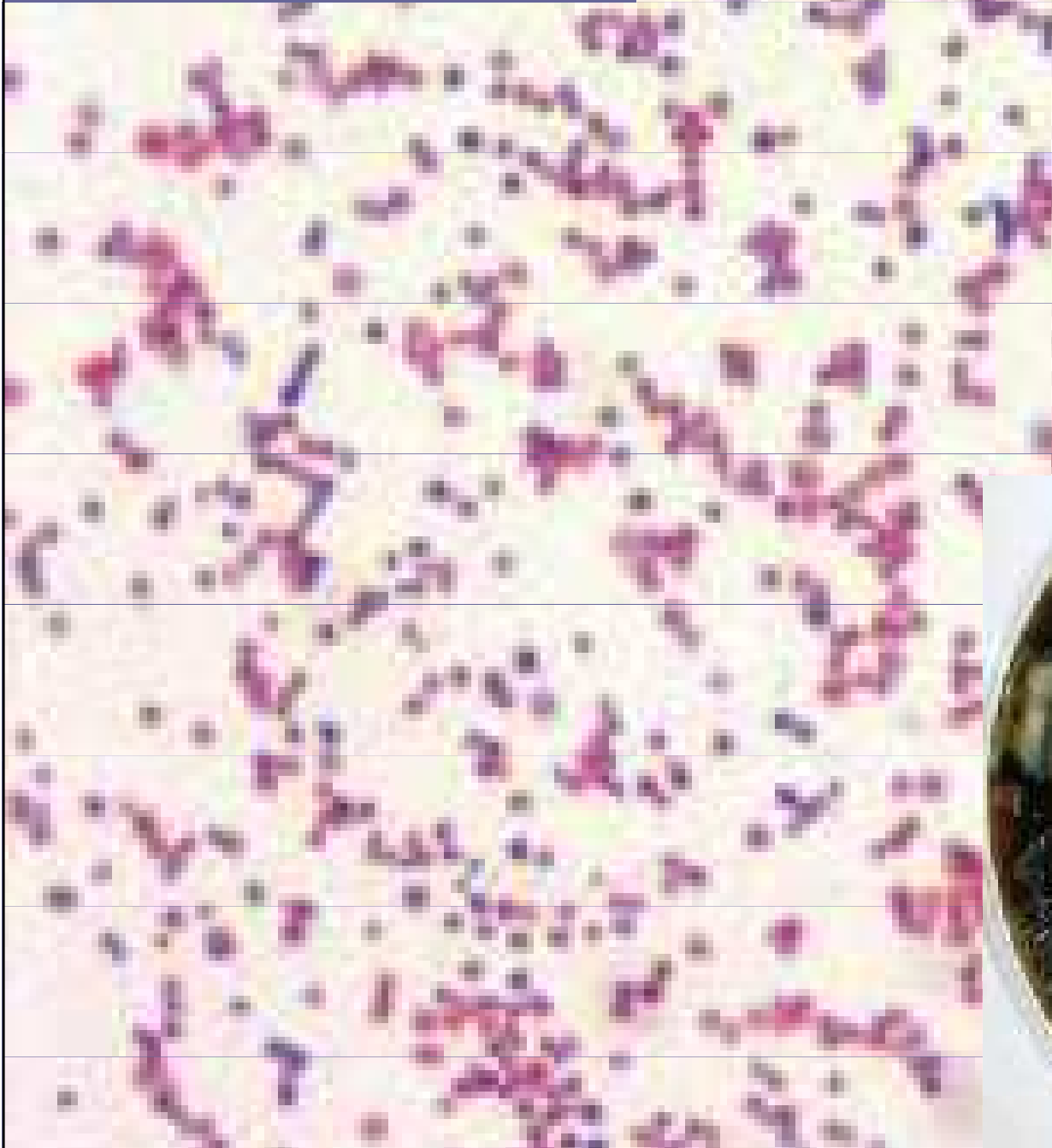


<http://www.antropozoonosi.it> (4x)



Francisella

www.infektionsnetz.at

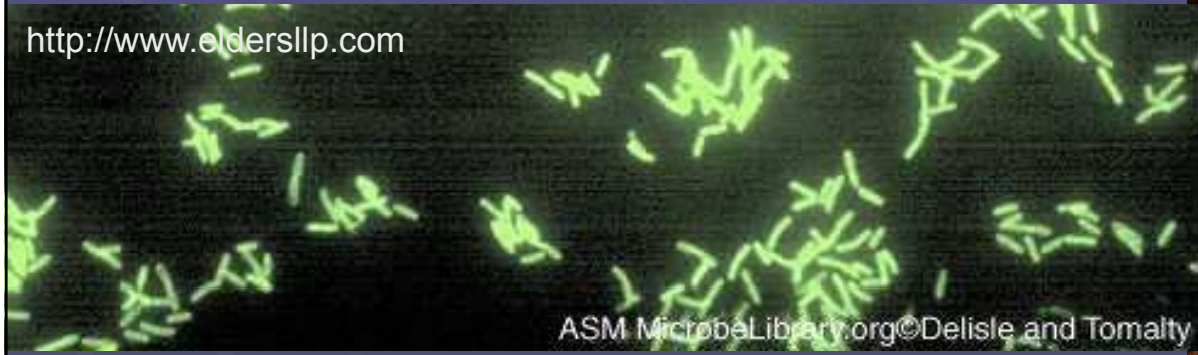


www.stedim.com

www.wnysmart.org/tularemia

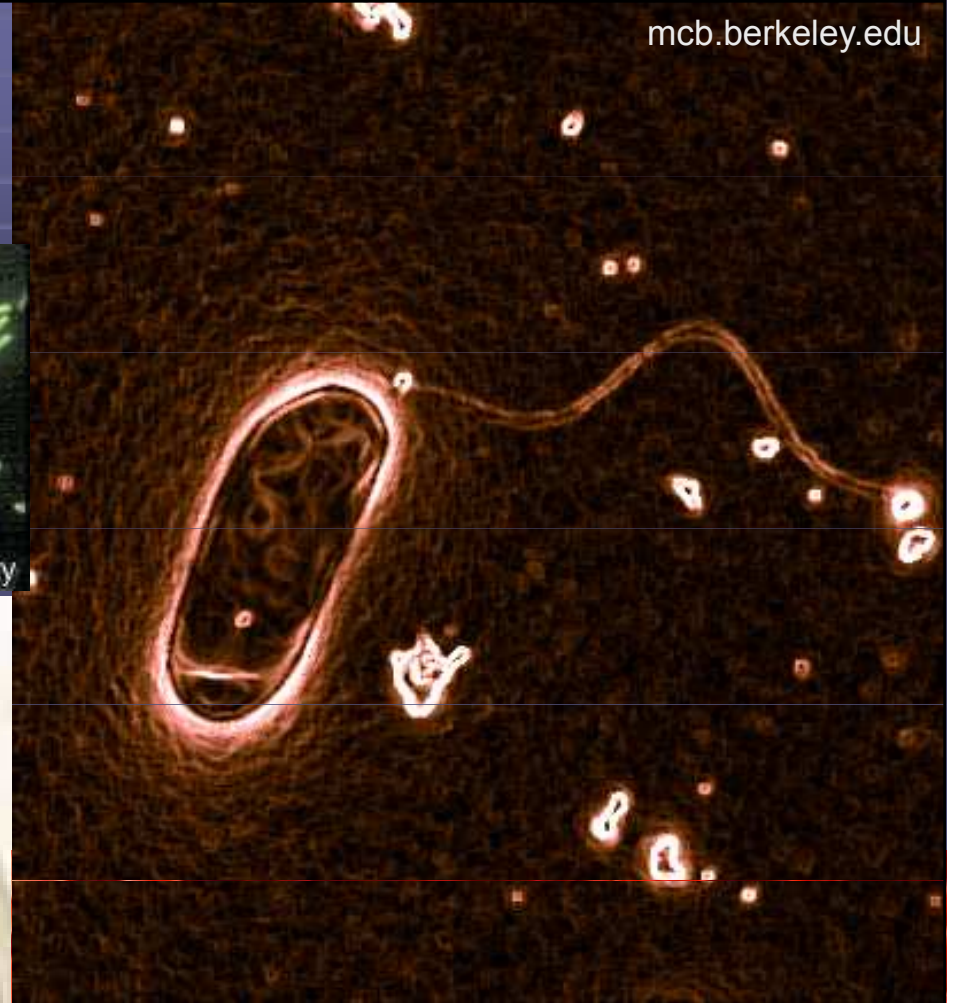
Legionella

<http://www.eldersllp.com>



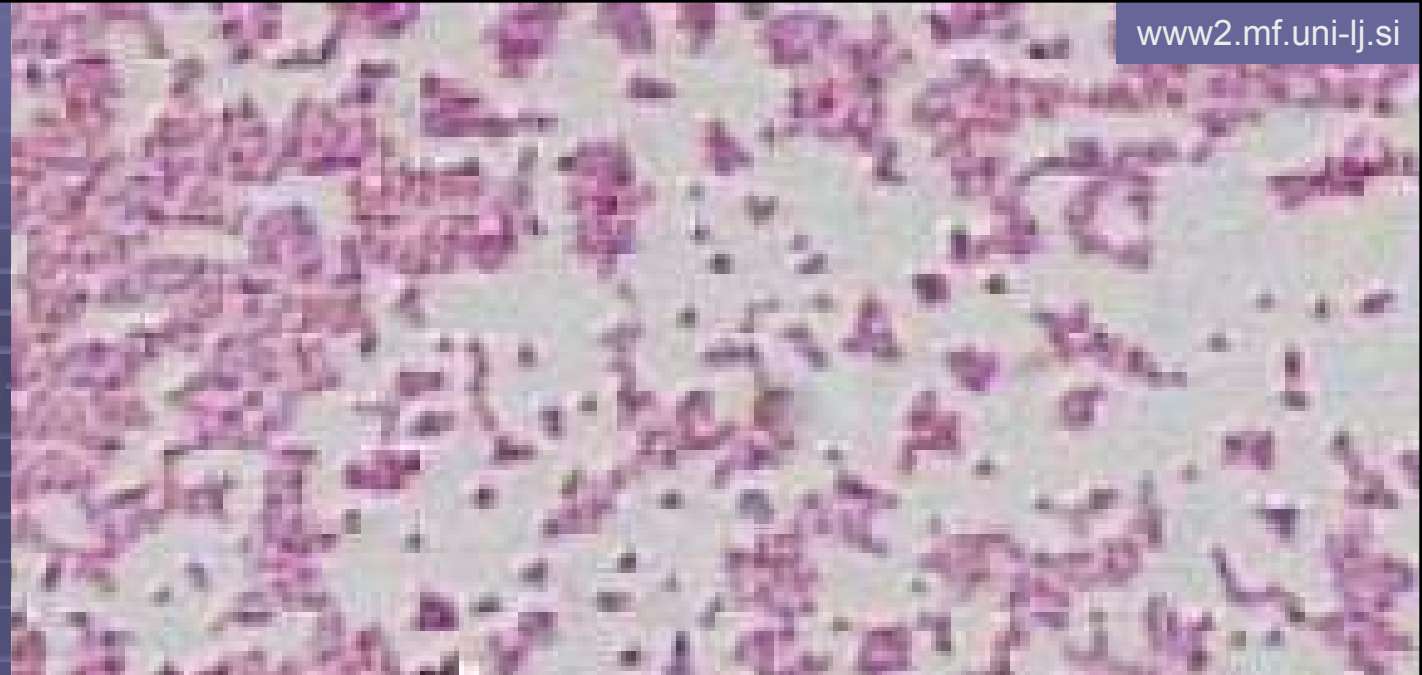
ASM MicrobeLibrary.org © Delisle and Tomalty

www.rivm.nl/infectieziektenbulletin



www.chemistryquestion.com

Bordetella

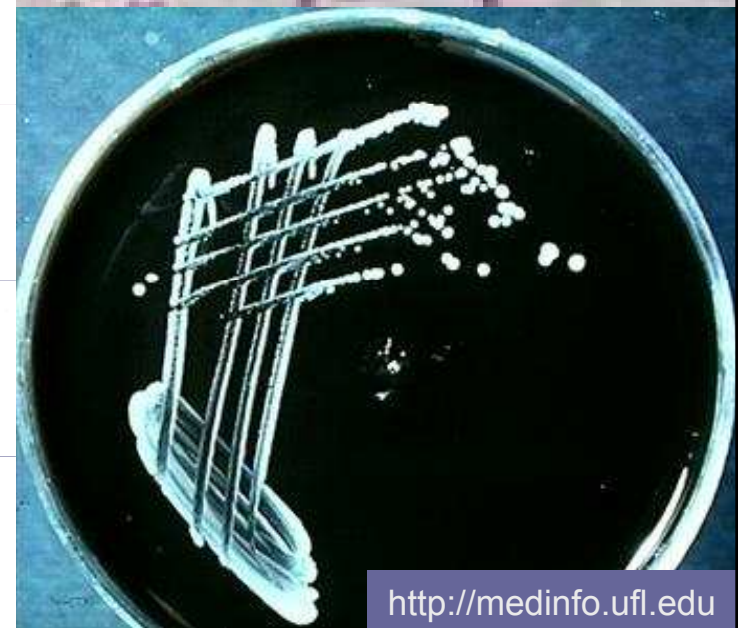
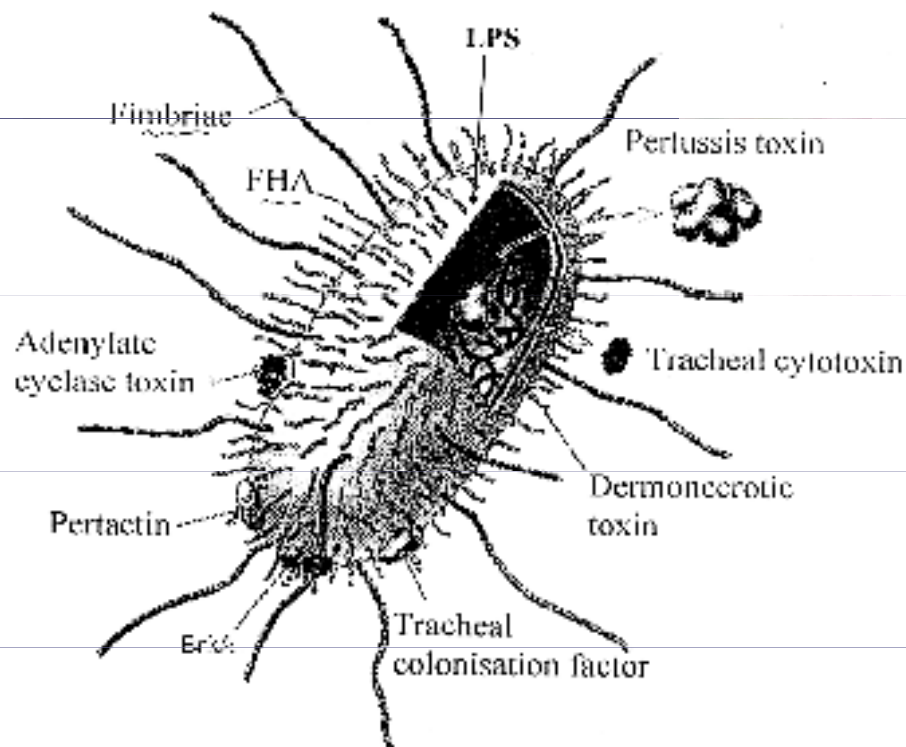


Bordetella pertussis

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>

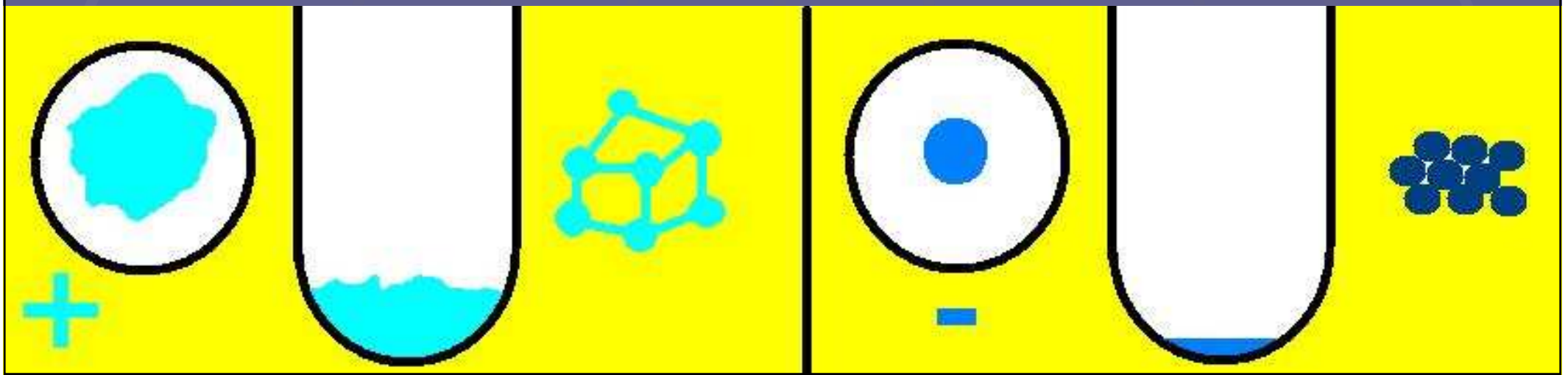
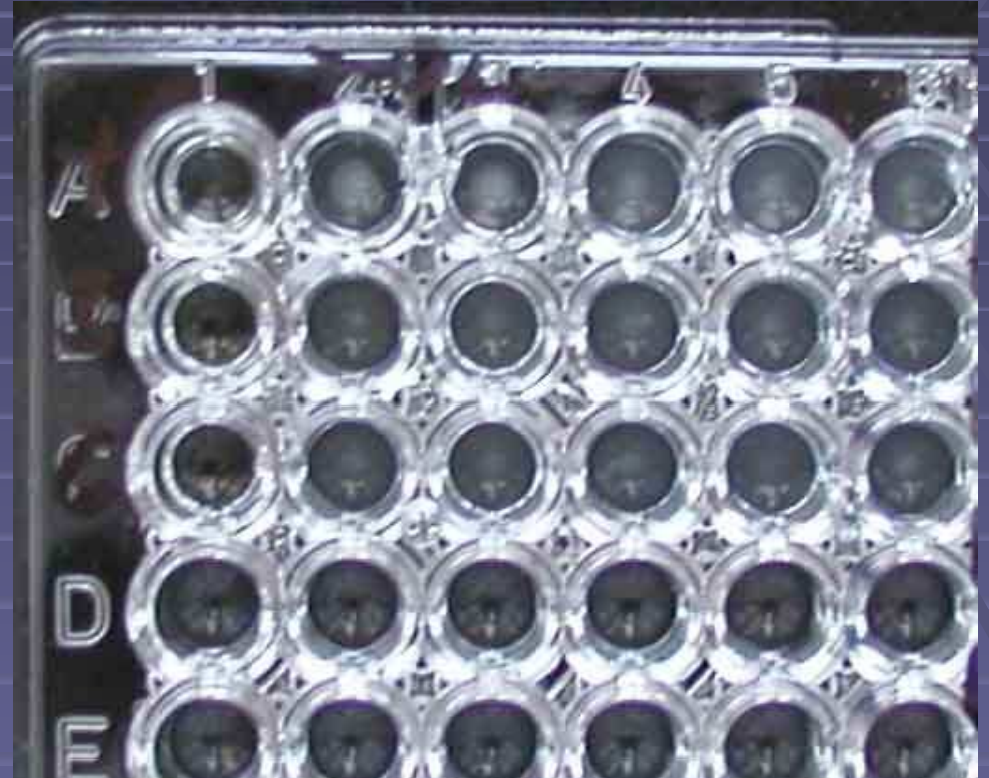
Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

„Další G- bakterie“ – charakteristika

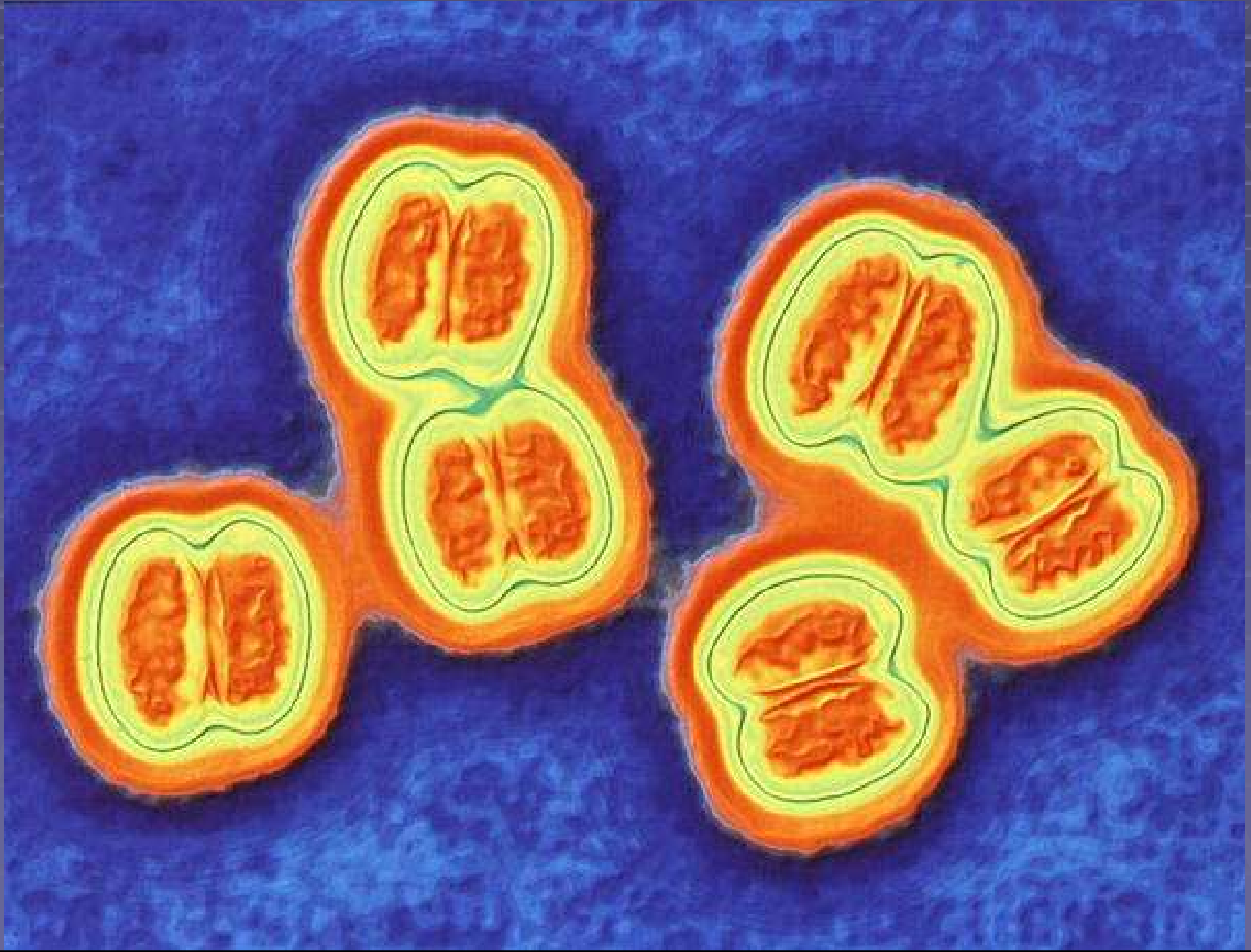
- Mikroskopie: G – tyčky, často krátké
- Kultivace: zpravidla speciální půdy (BG pro bordetely, BCYE pro legionely atd.)
- Biochemická identifikace: v diagnostice se může uplatnit např. při rozlišení druhů
- Antigenní analýza: někdy užitečná
- Nepřímé metody se využívají hlavně u tularémie (aglutinace k průkazu protilátek)

Odečet aglutinačního setu u francisel

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



7. Neisserie a moraxely



Základní charakteristika

- Jsou to **gramnegativní koky**, i když v některých případech může jít i o kokobacily nebo dokonce krátké tyčinky
- Často jsou nalézány ve dvojicích (diplokoky)
- Mají **pozitivní katalázu a oxidázu** (zajímavá je příbuzná *Kingella*, která má oxidázu pozitivní, ale katalázu negativní)
- Jsou **růstově poměrně náročné**. Nerostou na Endově agaru a jen některé rostou na krevním agaru. Některé rostou jen na agaru čokoládovém.

Klinická charakteristika

- **Ústní neisserie** jsou jednou z hlavních součástí mikroflóry v ústní dutině a faryngu
- ***Neisseria meningitidis*** („meningokok“) je původcem zánětů mozkových blan, často probíhajících bleskově. Mimo to může způsobovat sepse a pneumonie. Nález meningokoka v krku paradoxně nemusí znamenat nic zlého: deset procent lidí má meningokoky bezpříznakově v krku
- ***Neisseria gonorrhoeae*** („gonokok“) je původcem kapavky, tedy hnisavého zánětu močové trubice a případně krčku děložního
- ***Moraxella catarrhalis*** je normální nález ve faryngu, ale původce zánětů dutin a středního ucha

Přenos infekce

- **Ústní neisserie a moraxely** jsou nejméně choulostivé, a proto se snadno přenášejí vzduchem
- **Meningokoky** se mohou přenášet kapénkami či kapkami např. při kašli, avšak pouze na krátké vzdálenosti
- **Gonokoky** se přenášejí pouze kontaktem pohlavních sliznic

Léčba

- **Invazivní meningokokové infekce** je nutno léčit širokospektrými antibiotiky (např. ceftriaxon). Jinak ale meningokoky jsou citlivé i na penicilin
- U **kapavky** záleží na tom, zda je komplikovaná či ne. U jednodušších případů může stačit i penicilin
- **Moraxelové** infekce se léčí amoxicilinem nebo ko-amoxicilinem (AUGMENTIN)

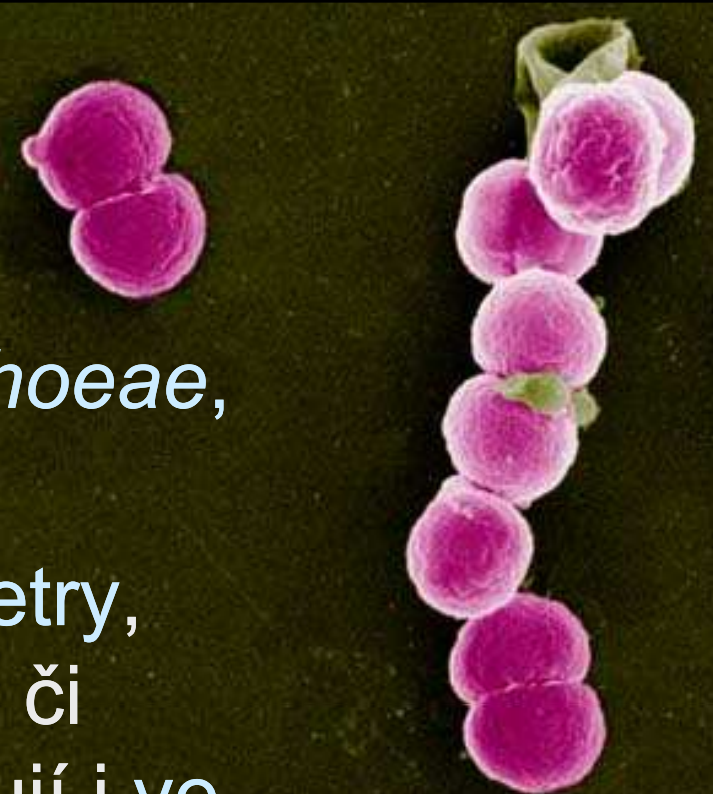
Příběh první



- 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

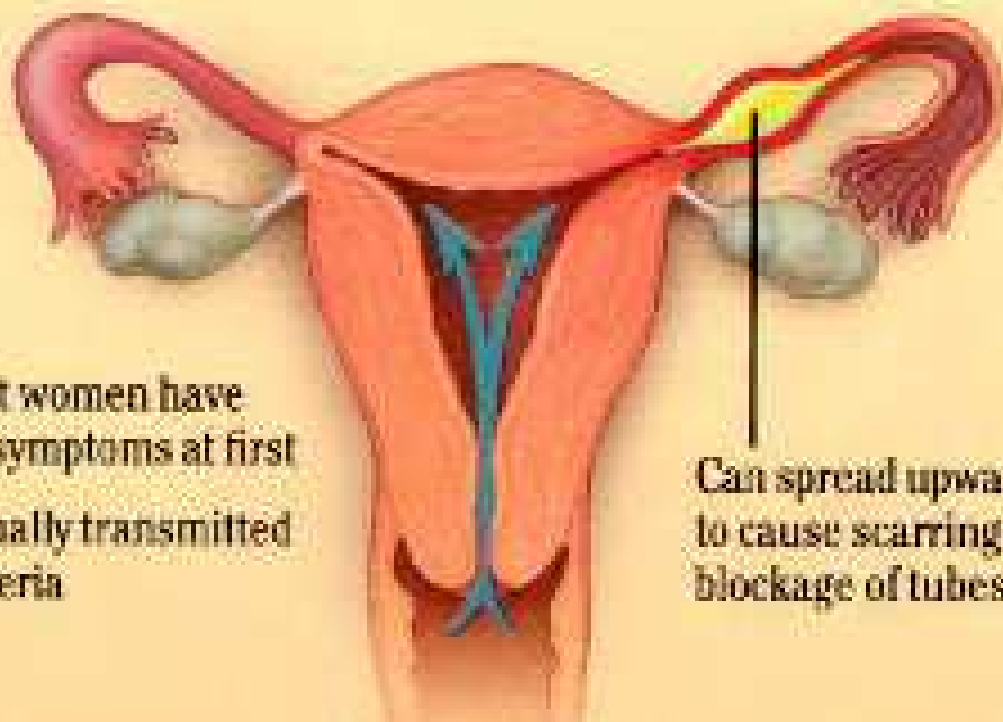
- Samozřejmě, je to *Neisseria gonorrhoeae*, (gonokok) původce kapavky.
- Kapavka se projevuje jako zánět uretry, u žen také cervixu; asymptomaticky či symptomaticky se gonokoky vyskytují i ve faryngu a v rektu.
- U žen naopak nejde o kolpitudu (zánět pochvy) a proto pochva není místem, odkud by bylo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



Honzova partnerka z oné noci...

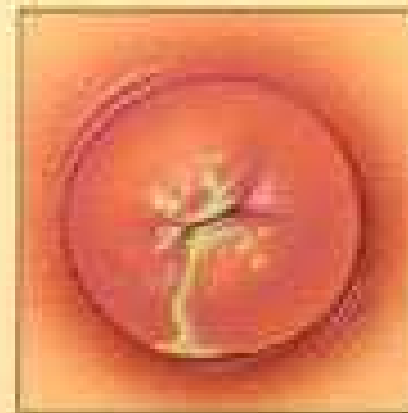
nova.medicina.cz



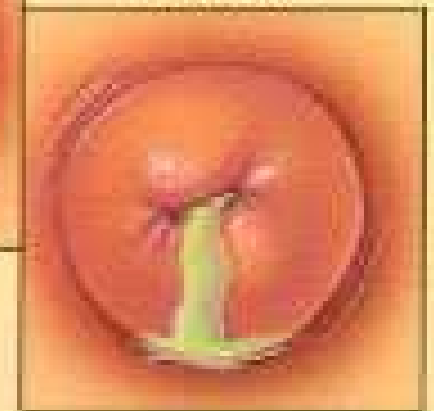


- Most women have NO symptoms at first
- Sexually transmitted bacteria

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...

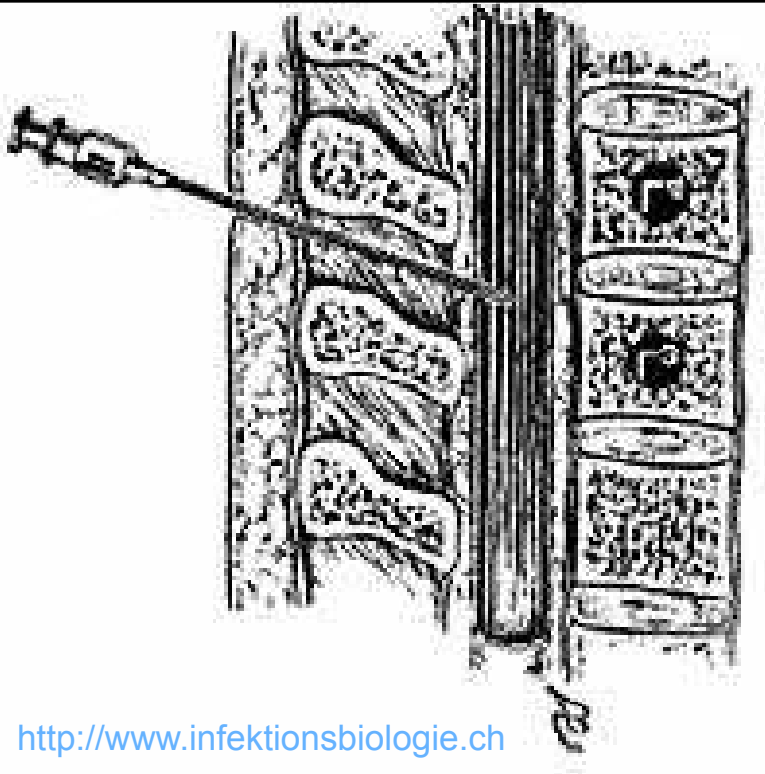
A tímto viníkem je...

- ... *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



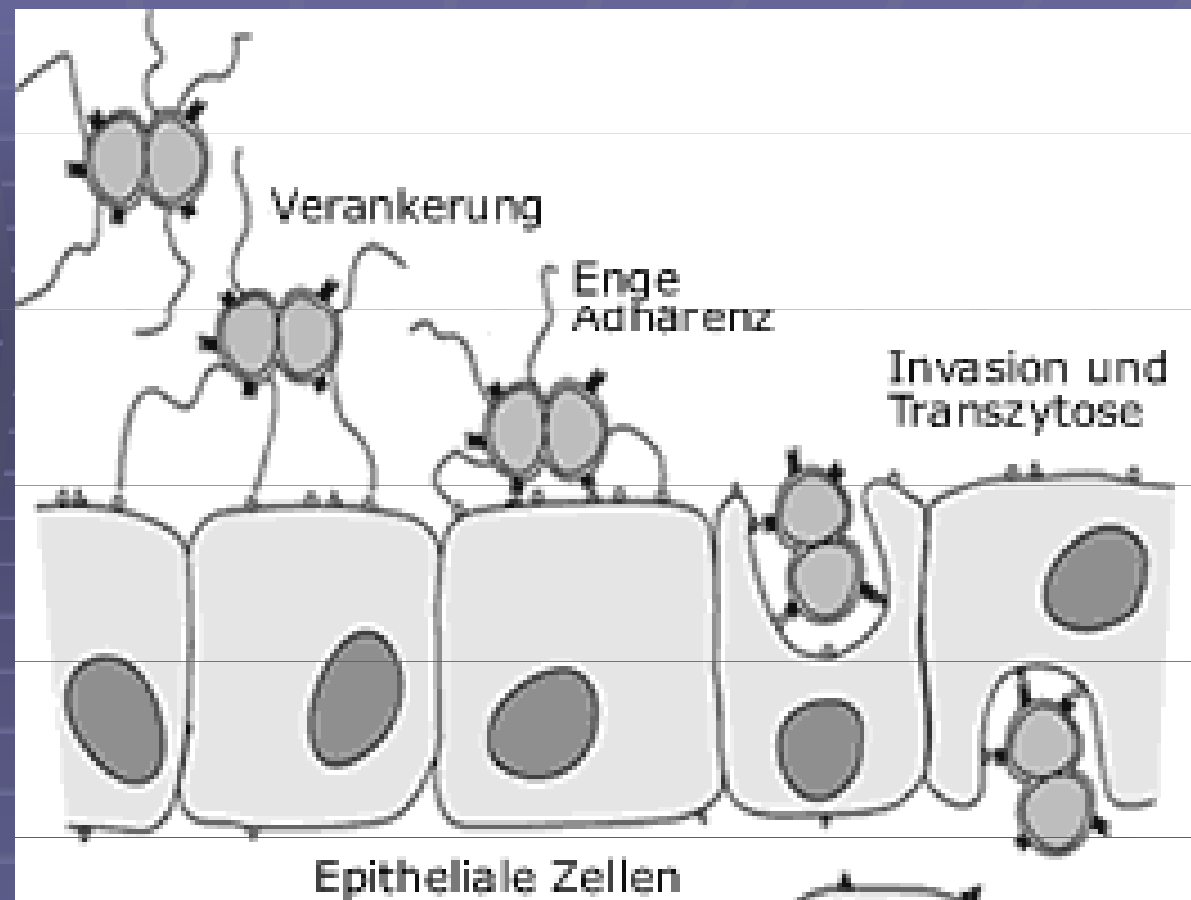
Proč někdy infekce nastane a jindy se nic nestane

- 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



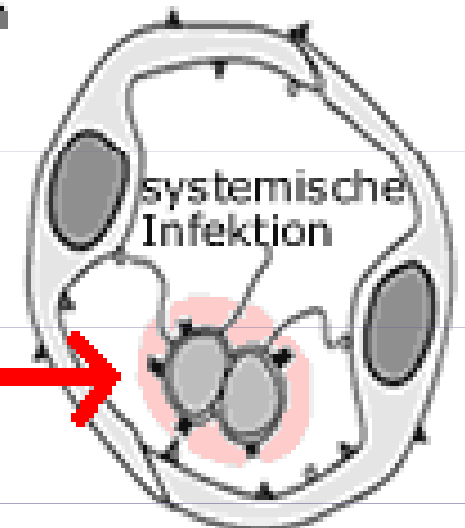
Odběr likvoru

Takto pronikají
do tkání



<http://www.infektionsbiologie.ch>

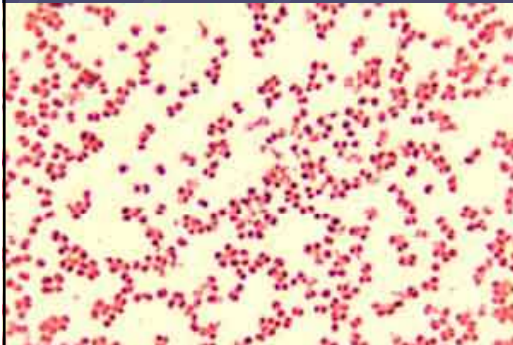
Kapsel →



Endotheliale Zellen

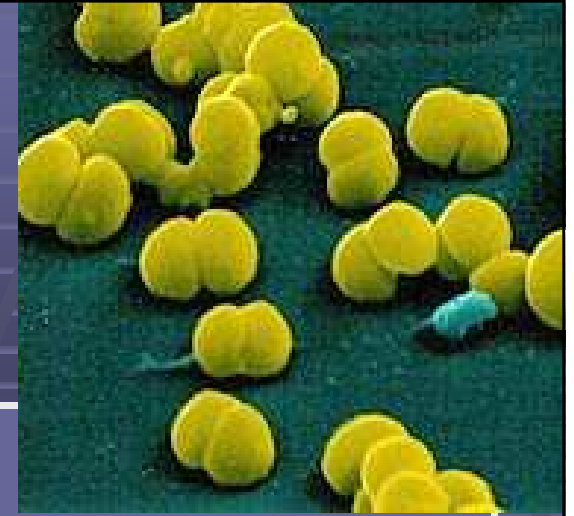
Mit freundlicher Genehmigung
© Dehio

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

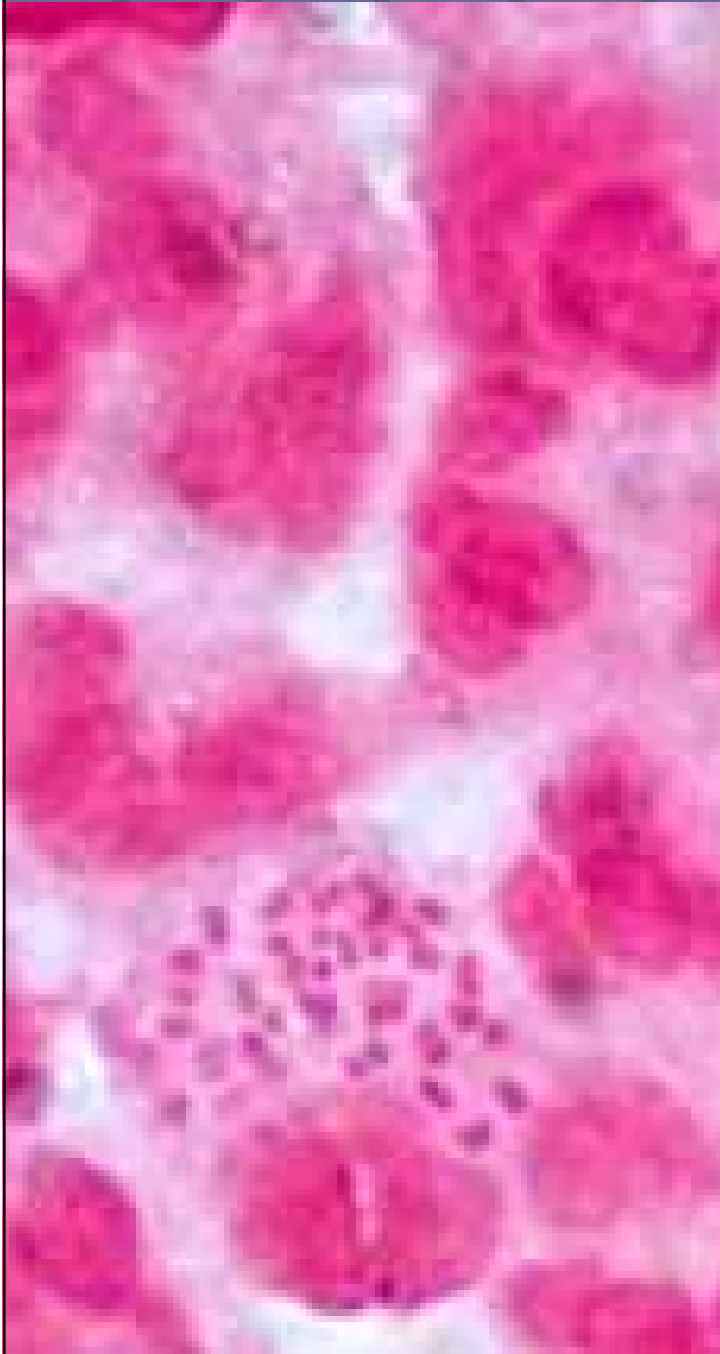
Příběh třetí

- 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 vykultivován **citlivý patogen**

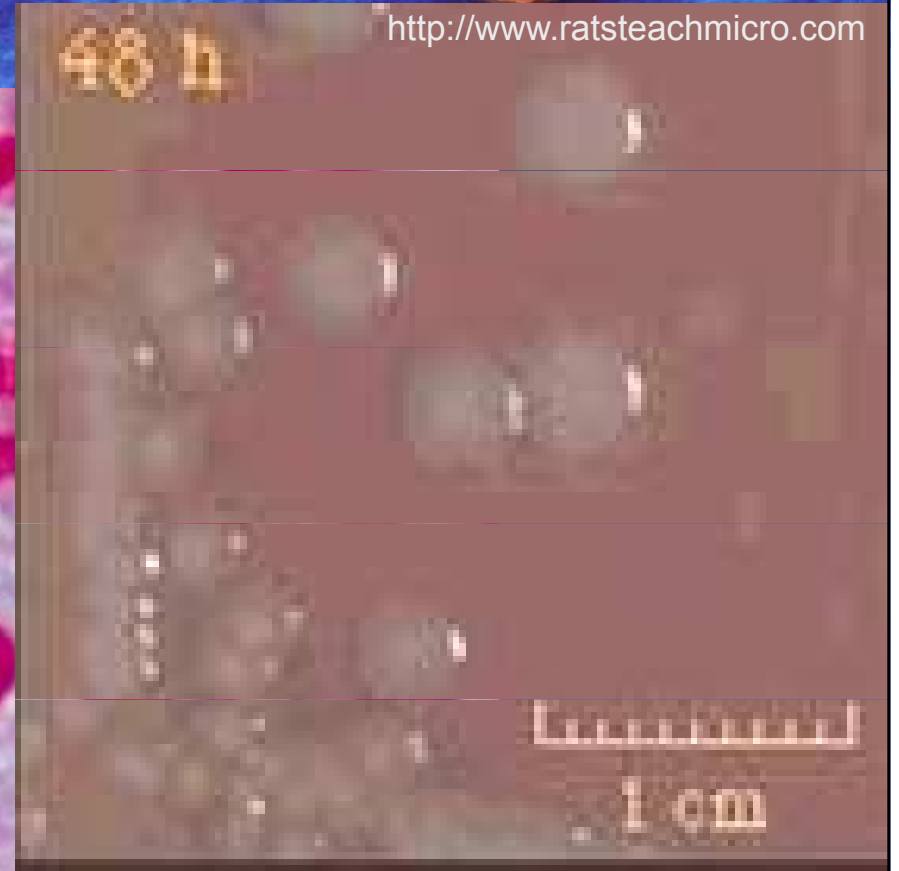
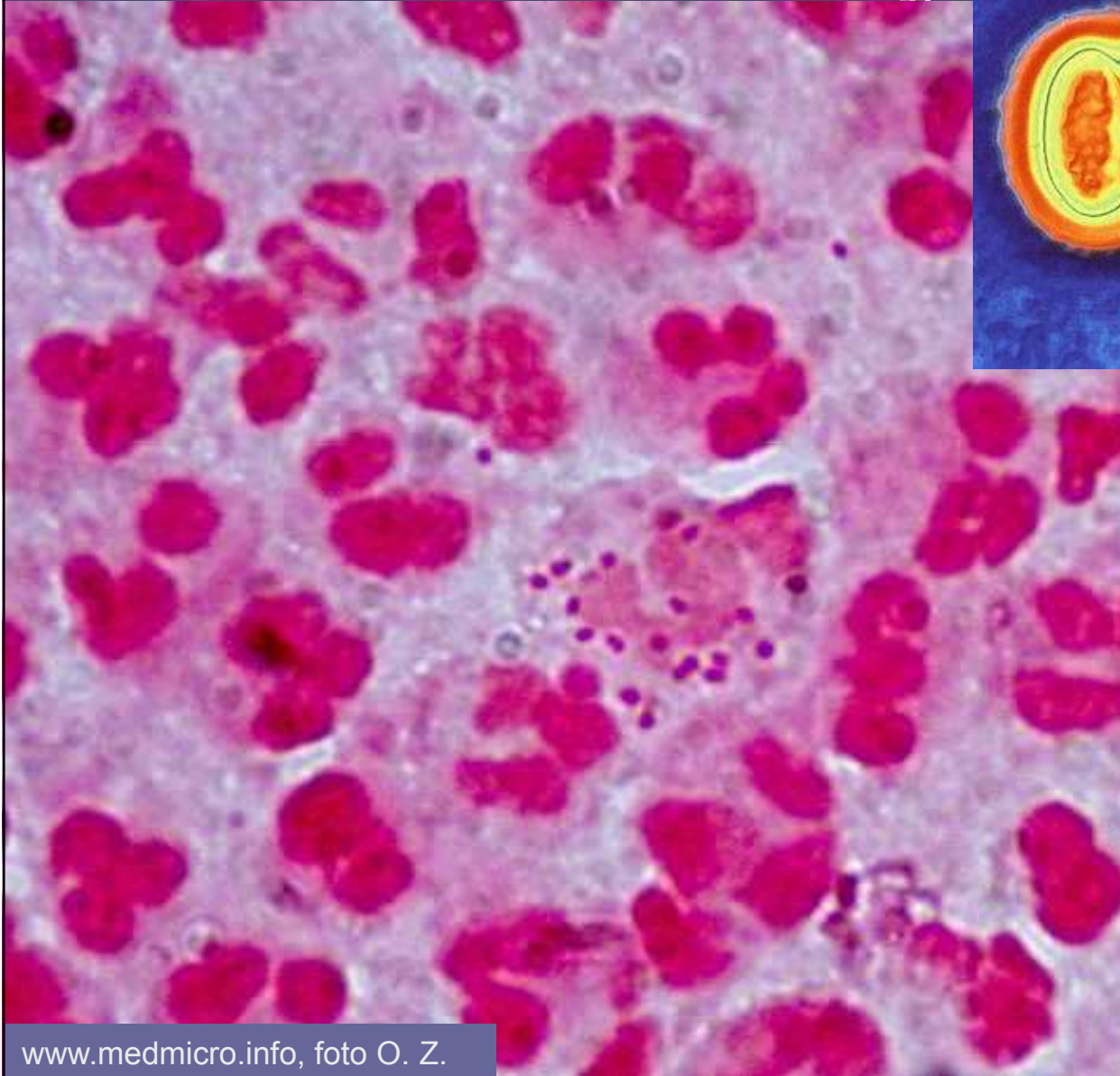
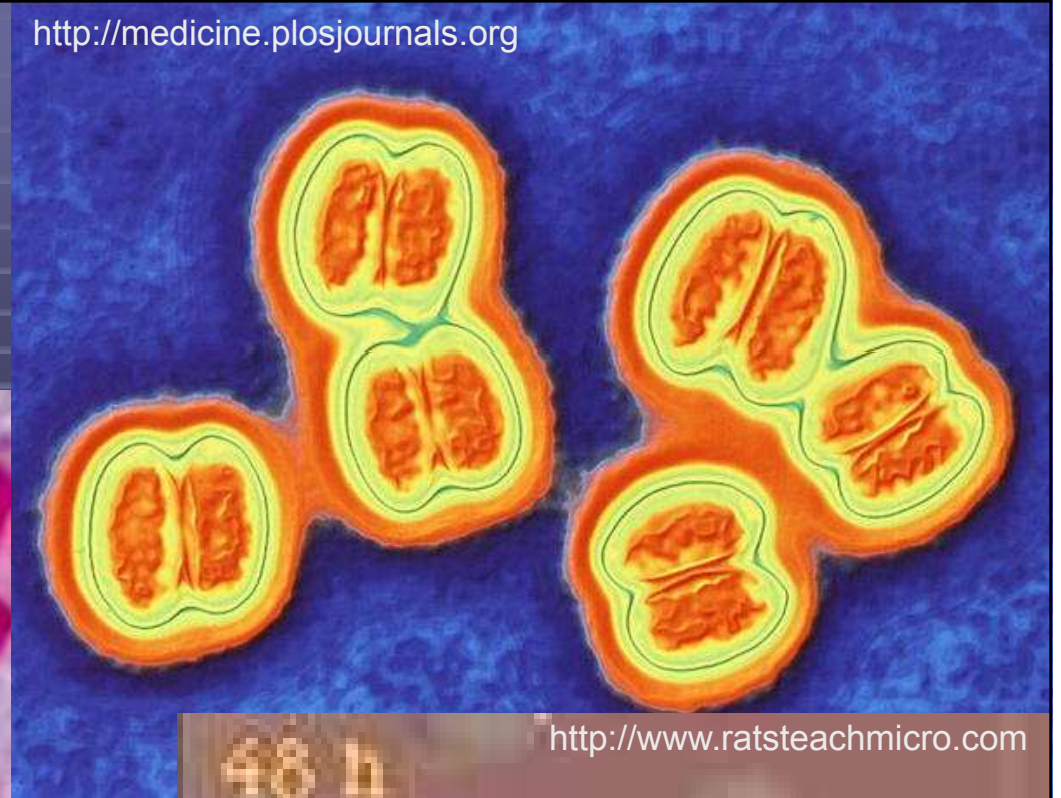
A tím patogenem byla

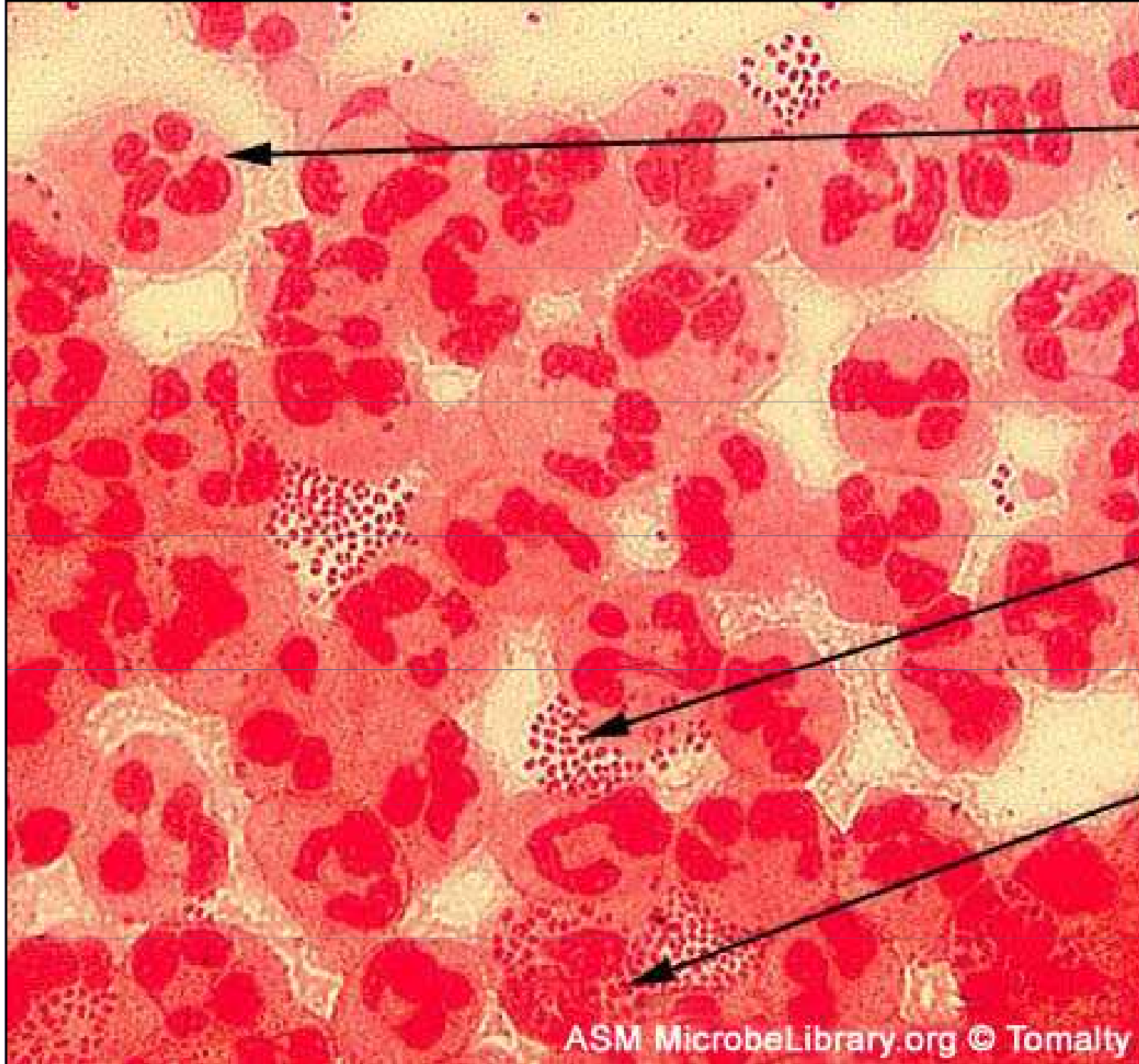
- ***Moraxella* (dříve *Branhamella*) *catarrhalis***
- Tento organismus bývá přítomen u zdravých osob v malém množství ve faryngu
- V čisté kultuře způsobuje **sinusitidy, otitis media, faryngitidy** a podobně.
- Její původní jméno *Branhamella* je odvozeno od Sáry Branhamové, jedné z prvních žen-badatelek.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

Obrázky neisserií



Gonokoky





polymorphonuclear leukocyte

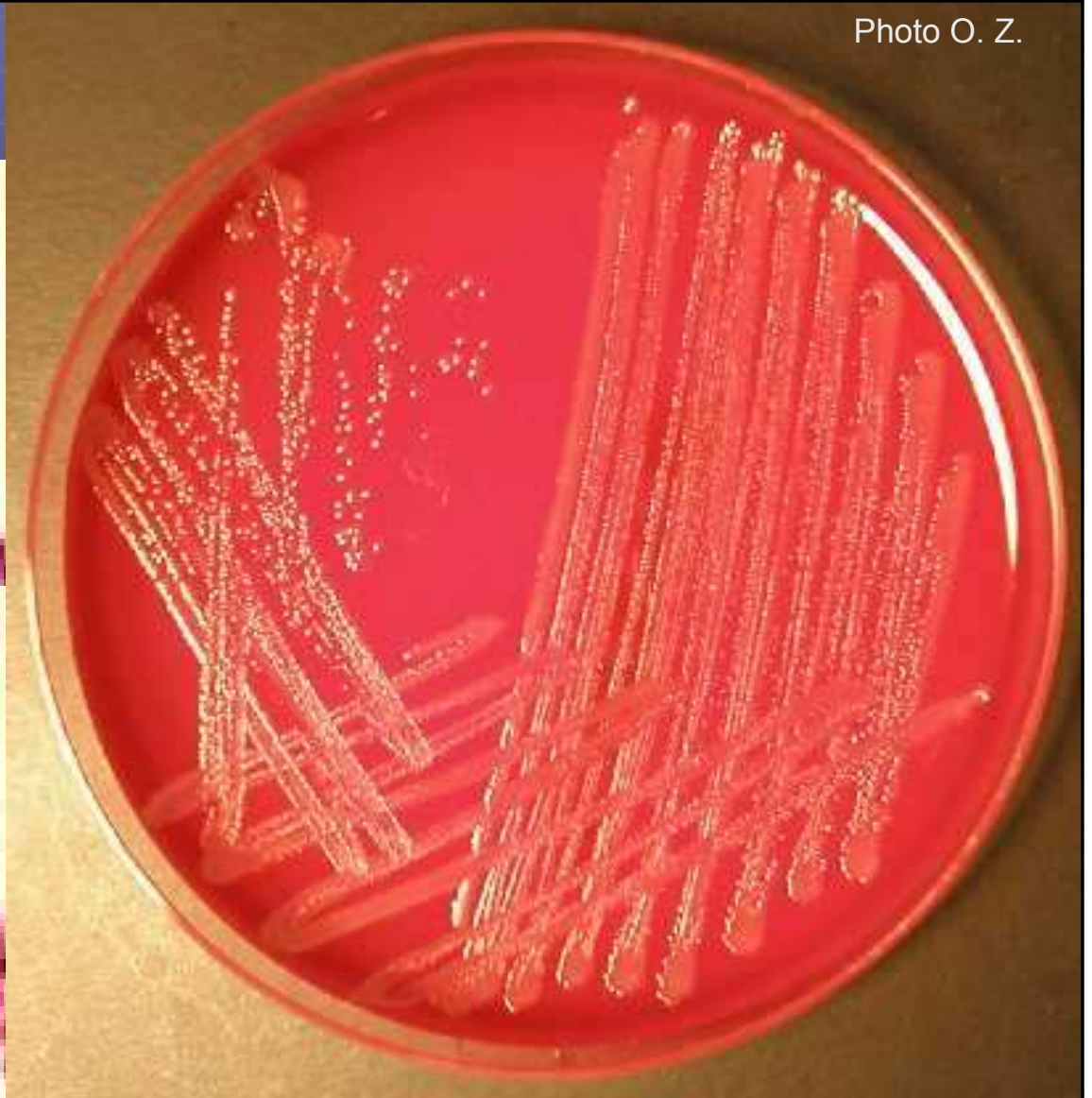
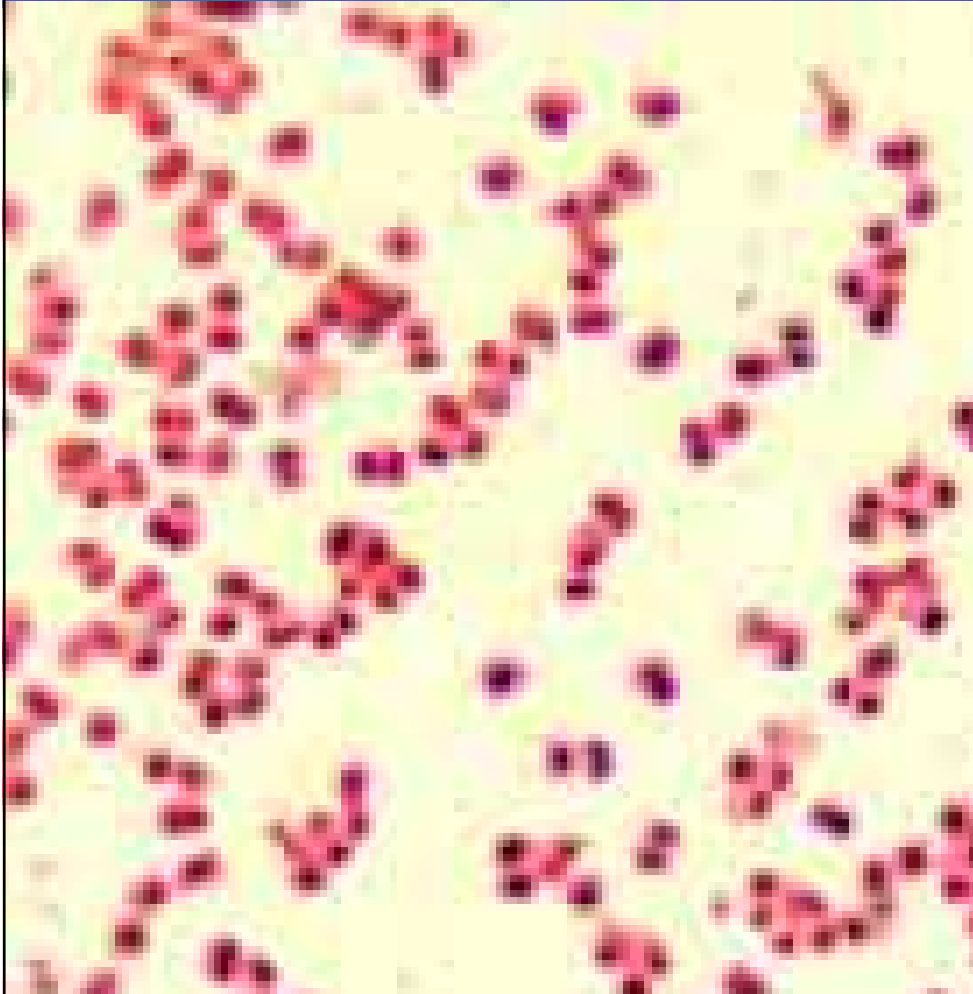
Extracellular gram-negative diplococci

Intracellular gram-negative diplococci

ASM MicrobeLibrary.org © Tomalty

Meningokoky

Photo O. Z.



Microscopic Pictures Of Neisseria (Gram-negative Diplococci)

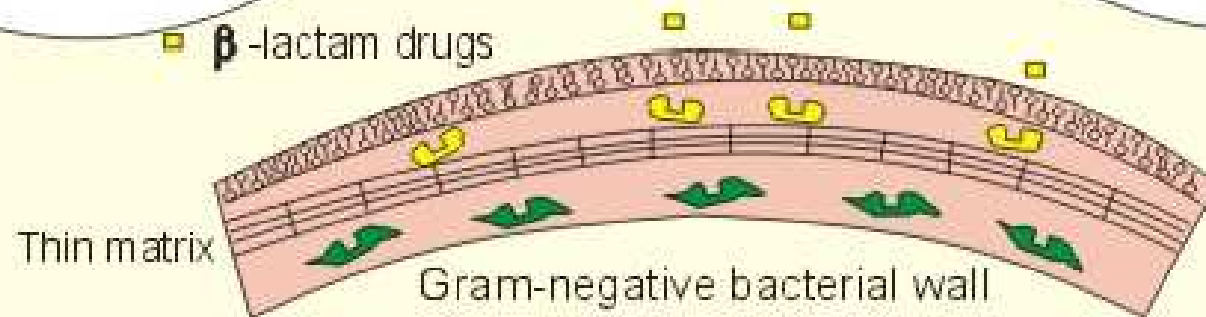
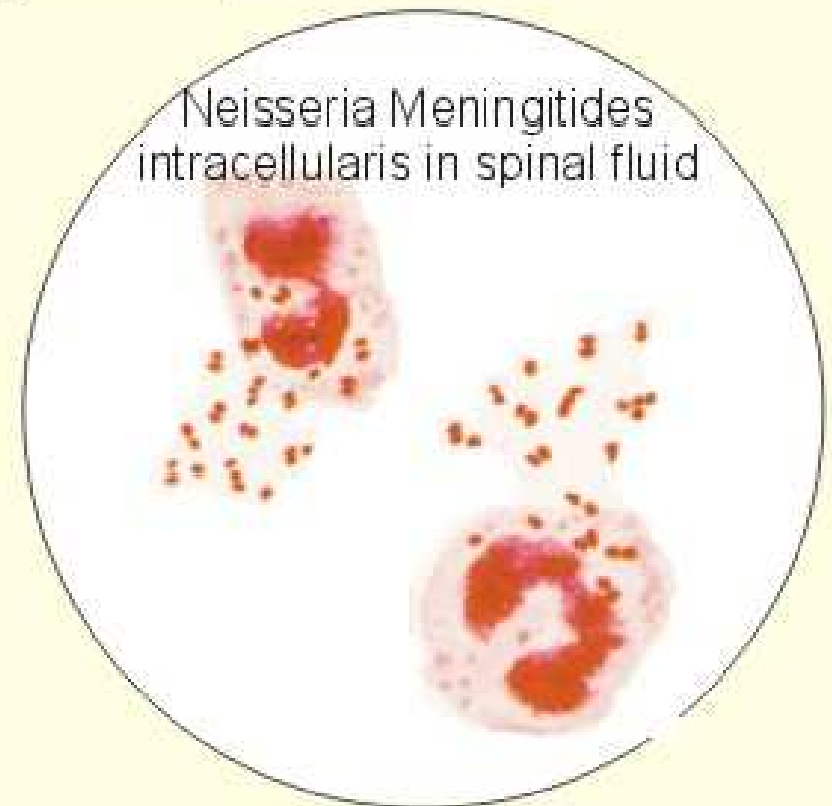
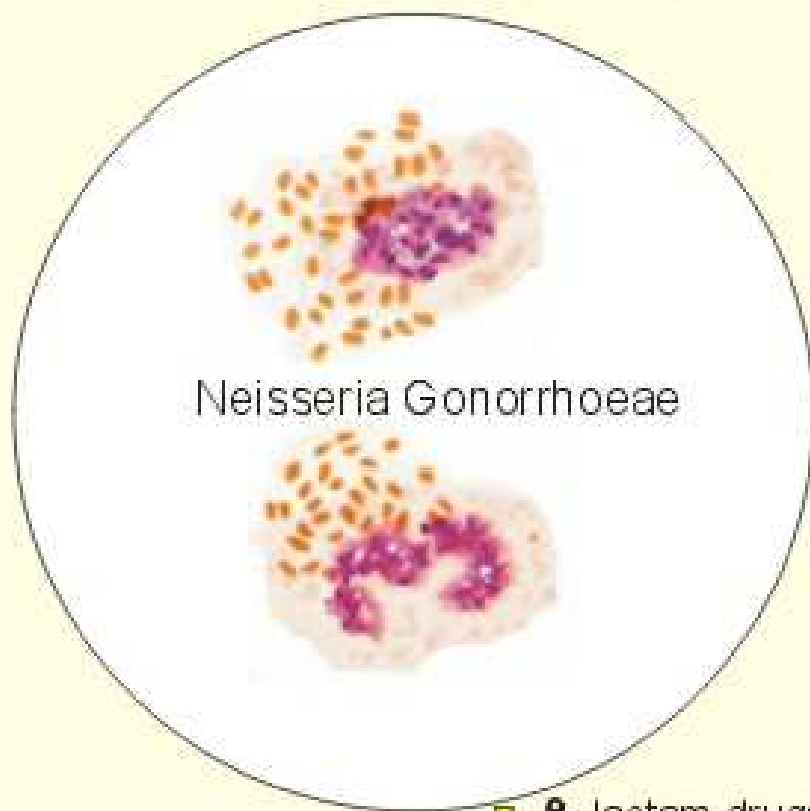
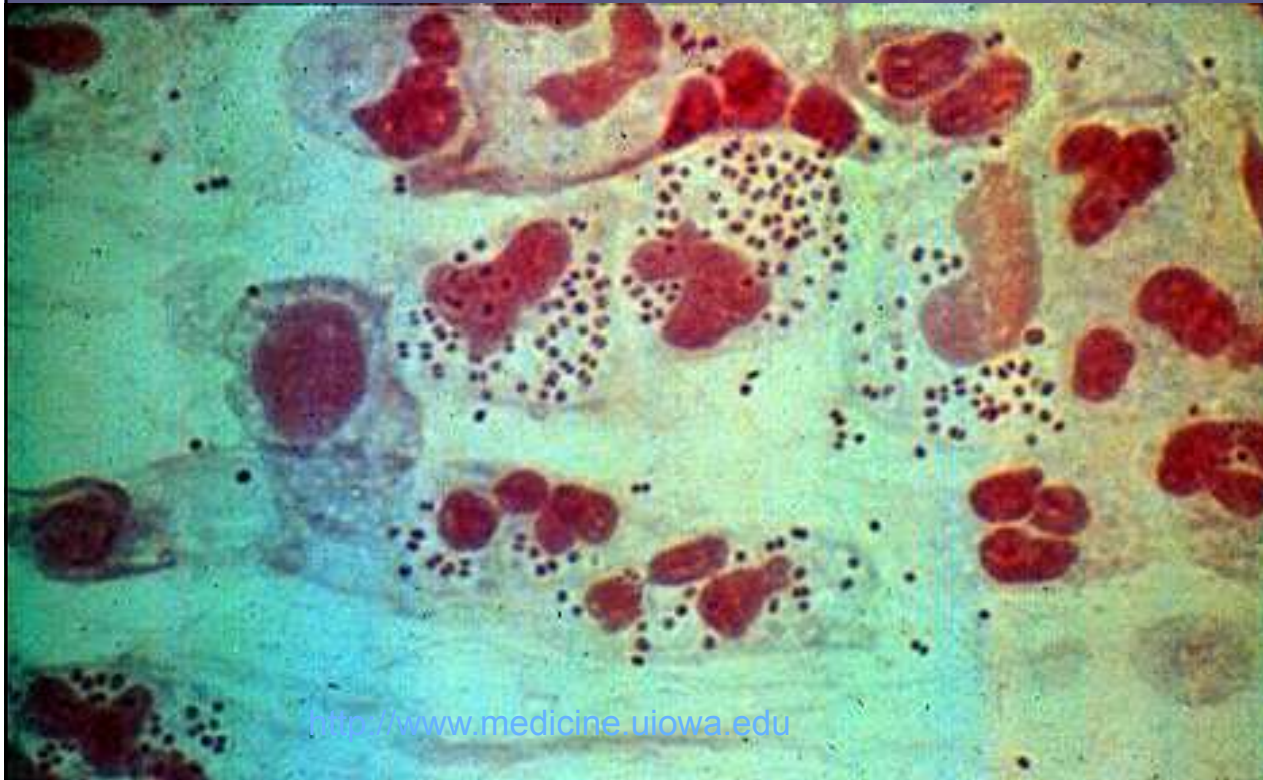


Fig. 33-3

Moraxella (Branhamella) catarrhalis

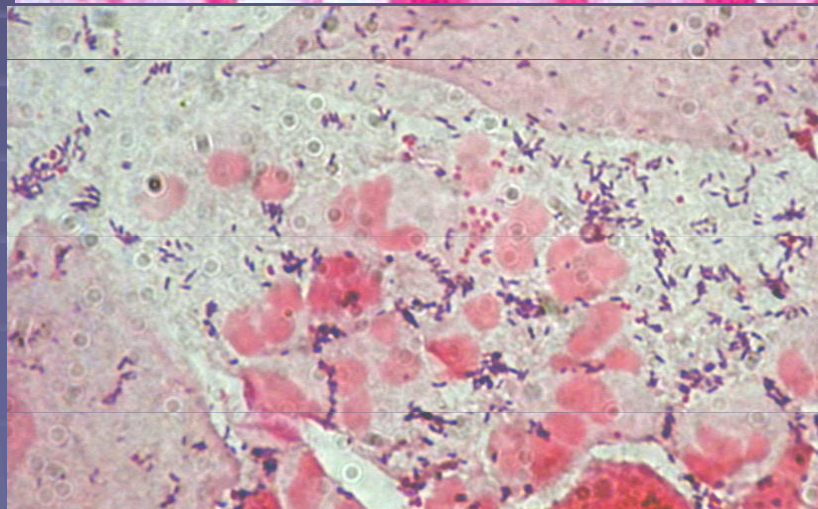
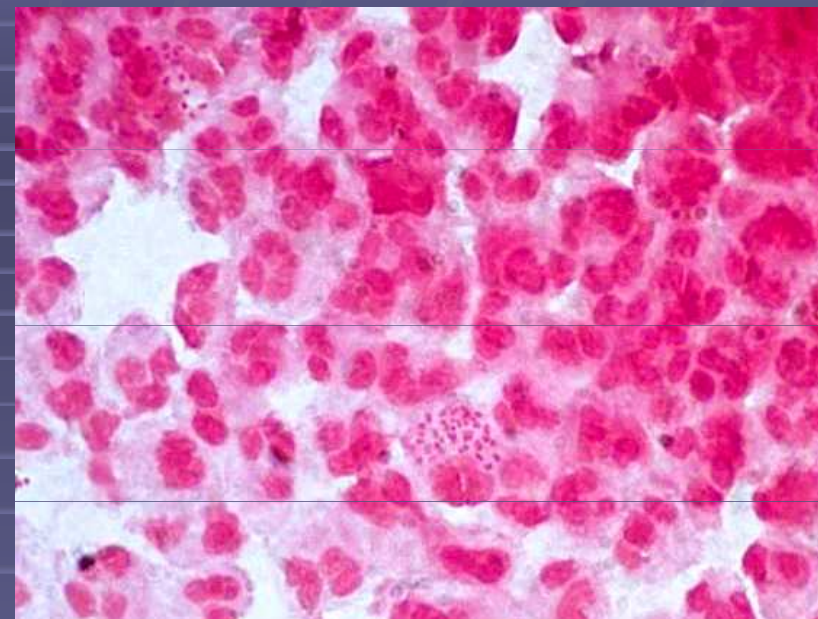


Neisserie – charakteristika

- 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

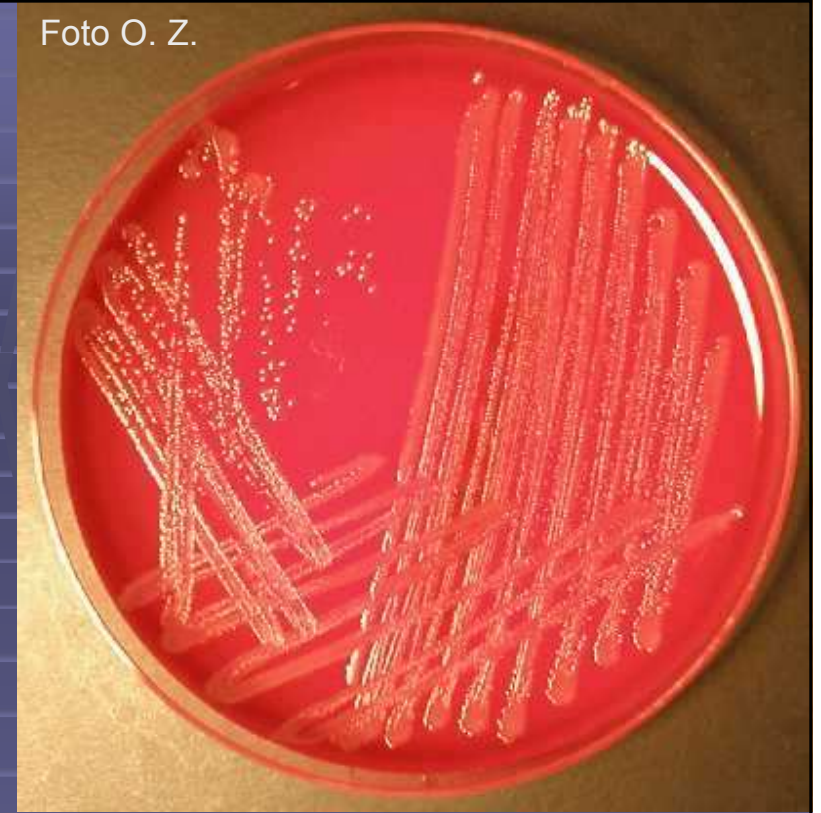
leukocyt s gonokoky



Kultivace

- Popisujeme kolonie gramnegativních koků na různých půdách, a hlavně si všímáme, 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 β-Lac</p>	 <p><i>N. gonorrhoeae</i></p> <p>C G M L S ENase β-Lac</p>
Yol! Glucose and M altose for MC .	G lucose only for GC .



NEISSERIA 4H

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

Antigenní analýza

- Existuje soupravu na aglutinaci mozkomíšního moku. Dá se použít k přímému průkazu antigenu ve vzorku (nejčastěji likvoru), ale také k antigenní analýze už vypěstovaného kmene meningokoka (určení seroskupiny)

Foto O. Z.



Poznámka k praktické diagnostice

- Při podezření na purulentní (hnisavou) bakteriální meningitidu musí lékař jednat a **začít léčbu i bez diagnostiky**. Prvotní je přitom udržet pacienta při životě (acidobazická rovnováha apod.), boj s patogeny je až na druhém místě
- Odebírá se **mozkomíšni mok. Mok vytéká pod tlakem a je zakalený**
- V laboratoři se provede **mikroskopie a průkaz antigenu**, a výsledek se obvykle hlásí telefonicky. Kultivační výsledek má tu nevýhodu, že je hotov až následující den.

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.

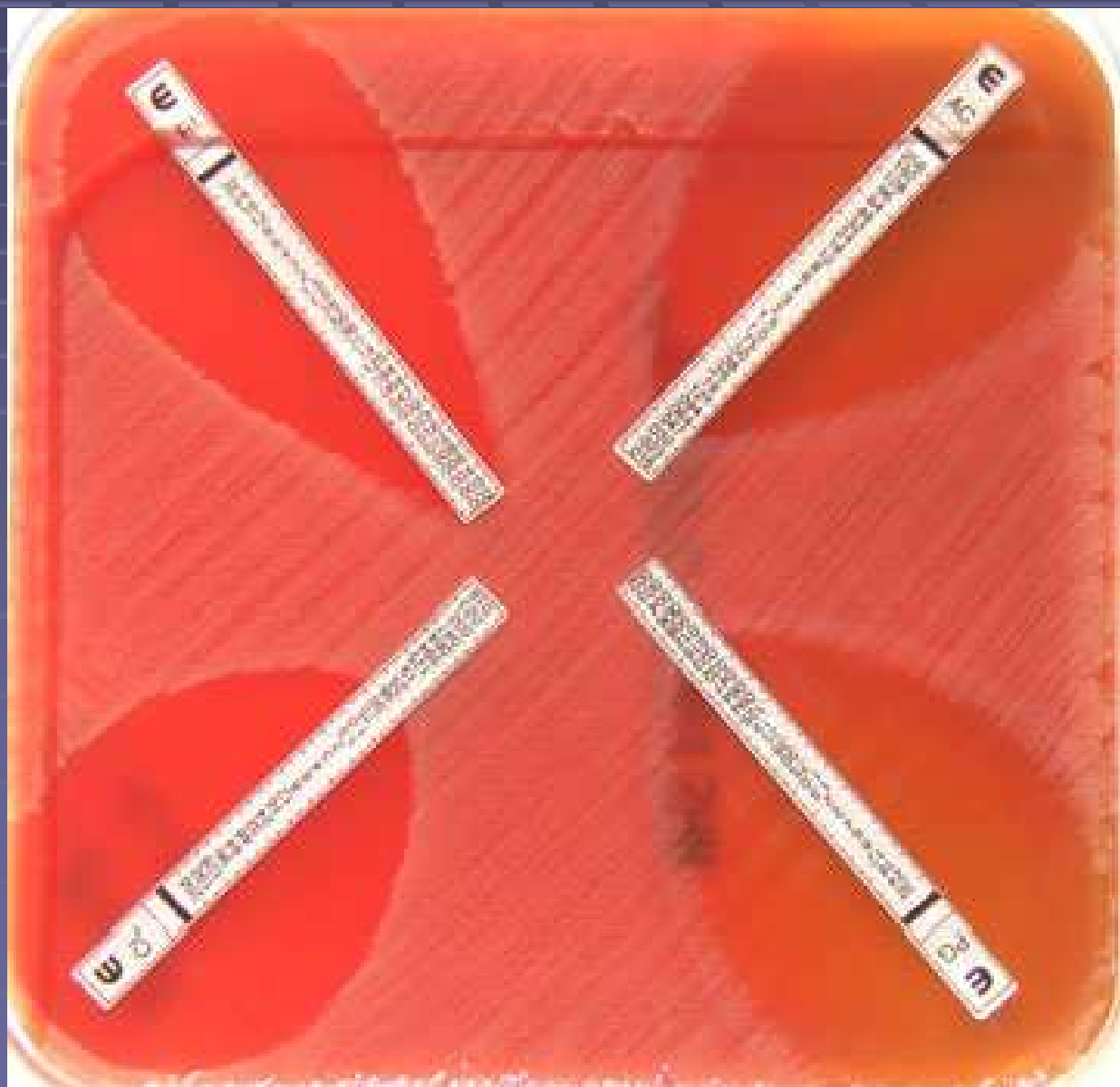
Antibiotika užívaná u meningokokových infekcí

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



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)

