

# **Lékařská mikrobiologie pro ZDRL**

## **Týden 16: Přehled gramnegativních bakterií**

Upraveno podle  
Ondřeje Zahradníčka



# Co nás dnes čeká

- **Není možné** se během této přednášky naučit vše o gramnegativních bakteriích
- Musíte se je tedy naučit z učebnic a **samostudiem** této prezentace
- 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 (= náročnější)
  - *Kampylobakter* a *helikobakter* – zahnuté či spirálovité tyčinky
  - *Pasteurellaceae* (hemofily a pasteurely) – tyčinky
  - Skupina „le-br-bo-fr“ – tyčinky
  - *Neisserie* a *moraxely* – převážně koky
  - *Gardnerella* – tyčinka a ostatní gramnegativní bakterie

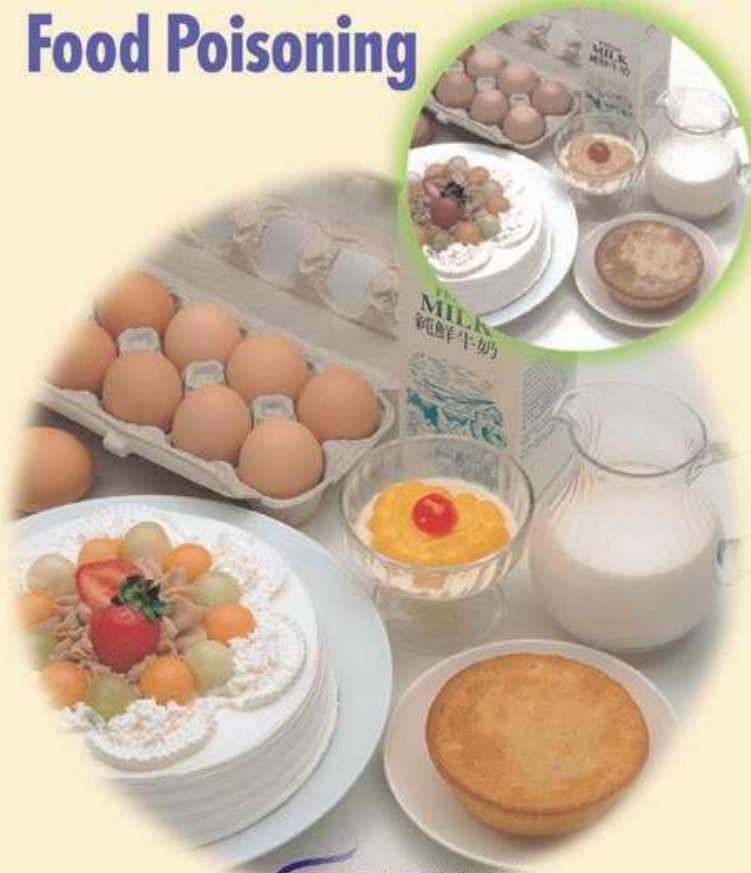
*Poznámka: Tento přehled samozřejmě zahrnuje jen nejdůležitější medicínsky významné G– aerobní bakterie. Ve skutečnosti je G– bakterií daleko víc. 3  
V přehledu také nejsou anaerobní G– bakterie, budou probrány jindy.*

# 1. Enterobakterie

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

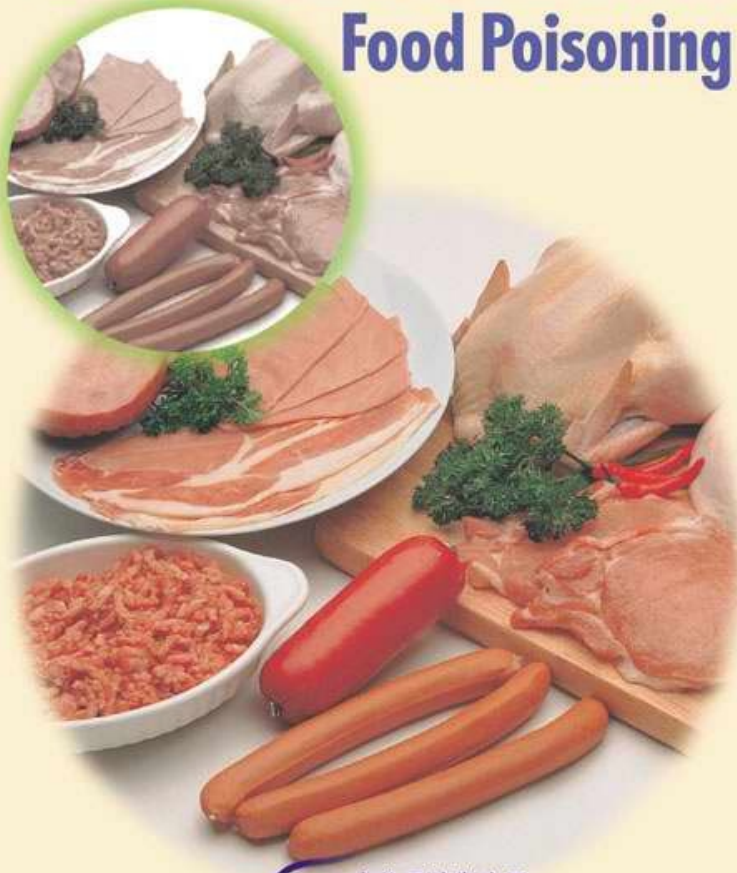
## Salmonella

### Food Poisoning



## Salmonella

### Food Poisoning



# Základní charakteristika

- **Enterobacteriaceae** je klinicky nejdůležitější čeleď gramnegativních tyčinek
- poměrně nenáročné, rostou na většině půd
- 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 dalších 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
- Časté jsou **endogenní infekce**, např. ze střeva do močových cest. Dále se při poranění, nádoru nebo jiné chorobě mohou dostat do dutiny břišní. Pak infekce často smíšené (spolu s anaerobními bakteriemi)

# Léčba

- **Infekce lokalizované ve střevě** se většinou neléčí
- Důležité je zavodnění („živočišné uhlí“, na které se adsorbují případné toxiny apod.)
- **Infekce lokalizované mimo střevo** se léčí antibiotiky (peniciliny a cefalosporiny, u močových nitrofurantoin a ko-trimoxazol)
- Pokud se léčí peniciliny, **nelze použít klasický penicilin** (G či V), nýbrž je nutno použít např. aminopeniciliny (ampicilin, amoxicilin)



# 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
Systémová	<i>Y. pestis</i> , antropopatogenní salmonely
Střevní	zoopatogenní salmonely, yersinie, popř. shigely (považují-li se za samostatný rod)
Potenciální	<i>E. coli</i> , klebsiely, enterobaktery, protey, providencie, morganely, citrobaktery, serracie a jiné
Téměř nulová	Mnoho druhů, například <i>Pragia fontium</i> a <i>Budvicia aquatica</i>

# Primární (obligátní) patogeny z řad enterobakterií

- Nejhorší patogeny způsobují **celkové infekce**:
  - ***Yersinia pestis*** a tzv. **antropopatogenní serovary salmonel** (serovary Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B a Paratyphi C)
- Závažné jsou ale i obligátní patogeny působící **„jen“ střevní infekce**. Někdy ale hrozí celkové infekce (sepsy) i u nich, hlavně u oslabených osob, novorozenců a podobně
  - rody ***Salmonella*** a ***Yersinia***. Třetím rodem by mohla být ***Shigella***, samostatný rod ?!  
nebo jen za vysoce virulentní *Escherichia coli*

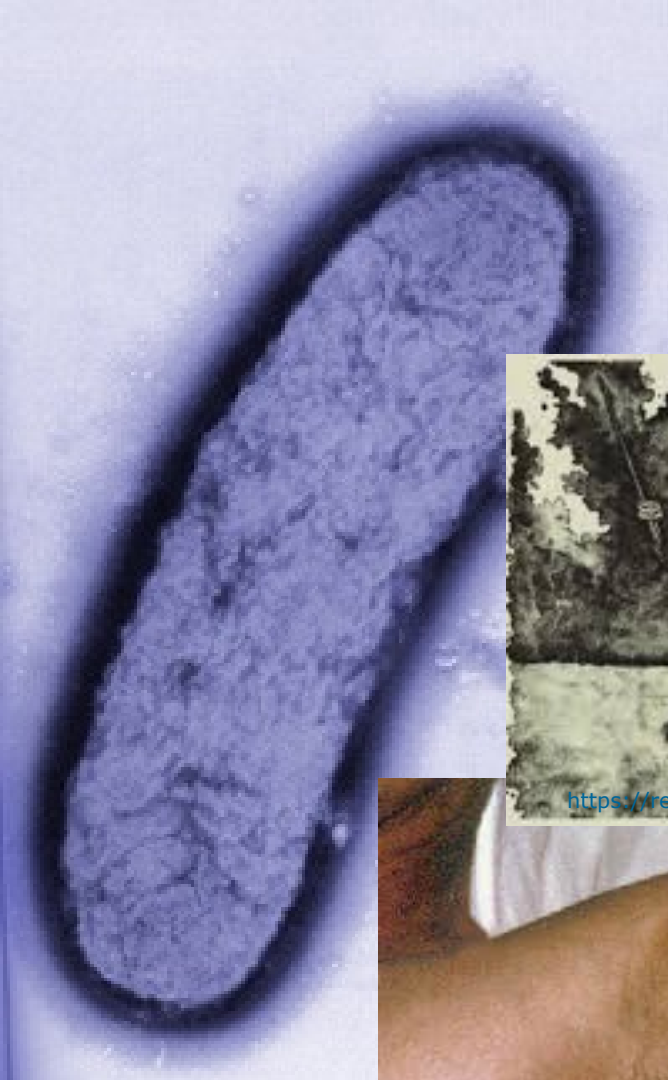


# 1a. Těžká systémová onemocnění způsobená enterobakteriemi

# *Yersinia pestis* – původce moru

- **Mor** je nejzávažnější onemocnění, způsobené enterobakteriemi
- I dnes se vyskytuje v některých částech světa
- **Zdrojem** infekce je krysa, **přenašečem** může být blecha morová (*Xenopsyla cheopis*)
- Formy infekce:
  - **kožní**, zvětšení uzlin (bubony)
  - **plicní** (vdechnutí např. kontaminovaného sena) – není třeba blecha, vyšší smrtnost
  - velmi vzácná **gastrointestinální** (požití yersinií)
- léčba streptomycinem

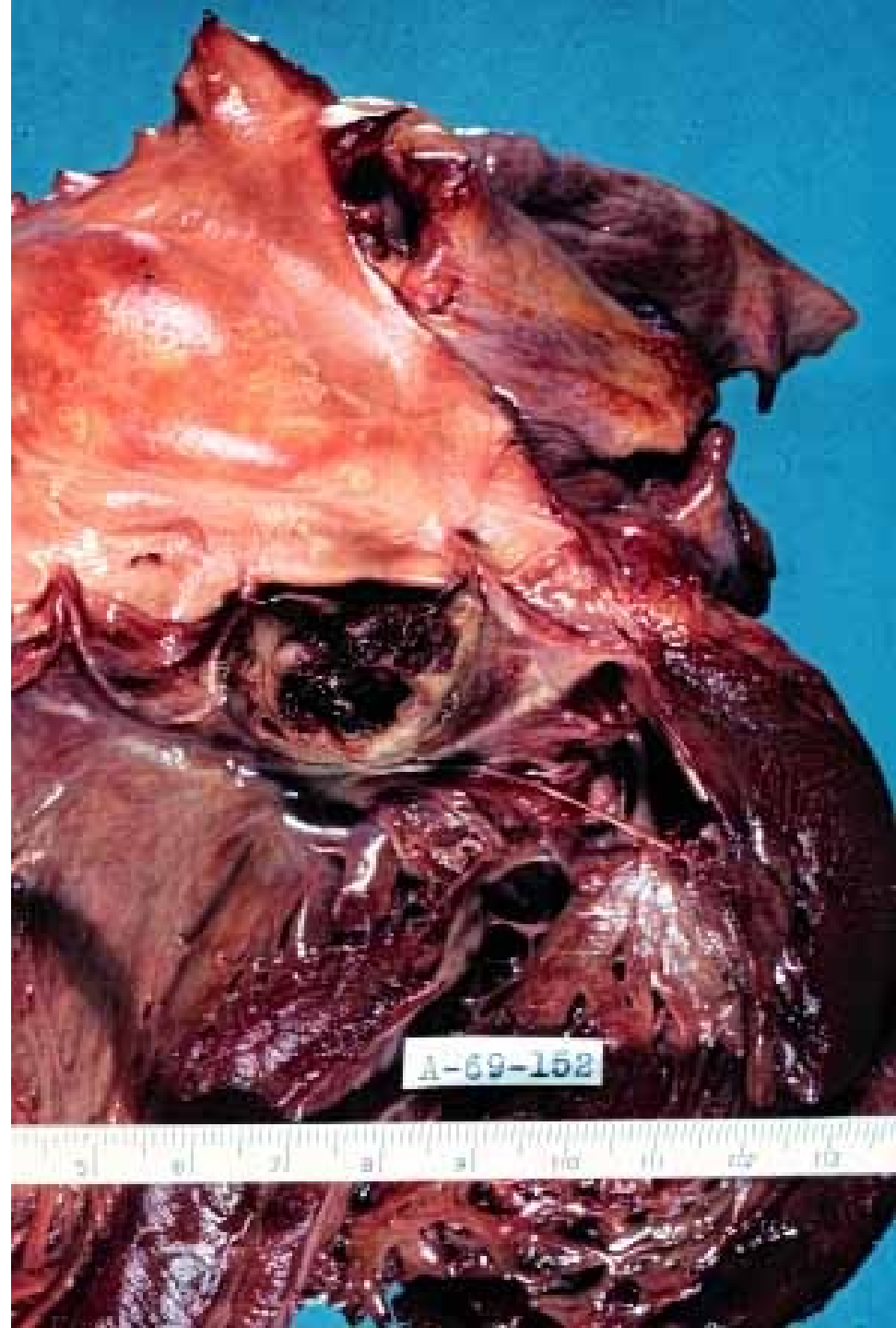
# Mor (*Yersinia pestis*)



# *Salmonella enterica* – serovary Typhi, Paratyphi A, B, C (antropopatogenní serovary)

- **Tyfus a paratyfy** jsou celková závažná onemocnění. Hlavními příznaky jsou vysoká horečka, schvácenost a bolesti hlavy (odtud starý český název „hlavnička“)
- Naproti tomu průjem často není vůbec přítomen
- Původci – **antropopatogenní salmonely**, tedy přenášené mezi lidmi.
- V ČR výskyt ojedinělý
- Infekční dávka asi  $10^4$
- V diagnostice se používala **Widalova reakce** (průkaz protilátek aglutinací)
- *Vzácně (u novorozenců a oslabených) mohou sepse nebo například endokarditidy způsobovat i zoopatogenní salmonely (jinak původci salmonelózy)*

# Salmonelová endokarditis




# Systemová onemocnění způsobená kmeny *E. coli* (a shigelami)

- *Escherichia coli* **normálně patří mezi podmíněné patogeny** a v rámci toho bude probrána dále
- Existují ale velmi vzácné kmeny, které produkují **systemově působící toxiny**
- Tyto kmeny se označují jako **STEC** (shiga-toxigenní *E. coli*)\* a patří sem mimo jiné i kmen, který způsobil německou epidemii v létě 2011 (ten měl navíc i další faktory virulence). Shiga toxin mohou produkovat i shigely.
- Jsou **podskupinou** tzv. enterohemorhagických kmenů **EHEC**

\*dříve také **VTEC** (verotoxigenní *E. coli*, podle cytopatického efektu na buněčné kultury – Vero buňky)





# 1b. Střevní onemocnění způsobená obligátně patogenními enterobakteriemi

# Salmonelózy

- Salmonelózy jsou střevní onemocnění, projevující se zpravidla **průjmem s hleny** (většinou ale bez krve) a **zvracením**
- Způsobují je tzv. **zoopatogenní kmeny *Salmonella enterica***
- Nejčastější jsou serotypy (antigenní typy, serovary) Enteritidis, Typhimurium, případně Infantis
- Zdrojem jsou často **vajíčka**, může ale dojít i k **sekundární kontaminaci** jiných potravin
- Salmonely se mohou v potravině pomnožit

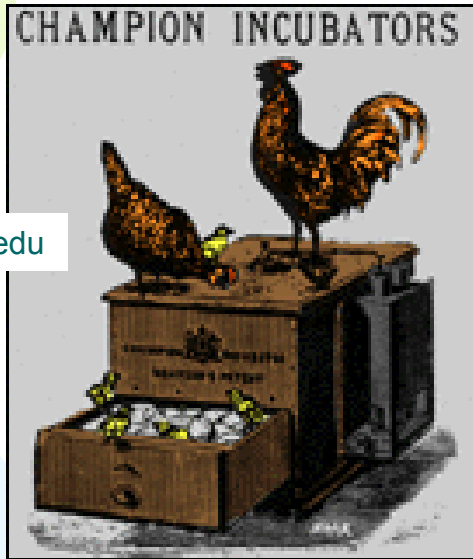
# Bacilární úplavice

- ***Shigella*** je dosud platný bakteriální rod, i když se ukazuje, že jde vlastně jen o **zvláštní, vysoce virulentní kmeny *E. coli***
- **Bacilární úplavice**, má poněkud jiný charakter průjmů než salmonelóza, ve stolici je přítomna krev. Je to dáno jiným mechanismem narušení sliznice
- Shigely pronikají do epiteliálních buněk a množí se v cytoplasmě
- Napadené enterocyty podléhají nekróze
- *S. dysenteriae* sérotyp I produkuje shiga toxin

# Salmonely a shigely – přenos

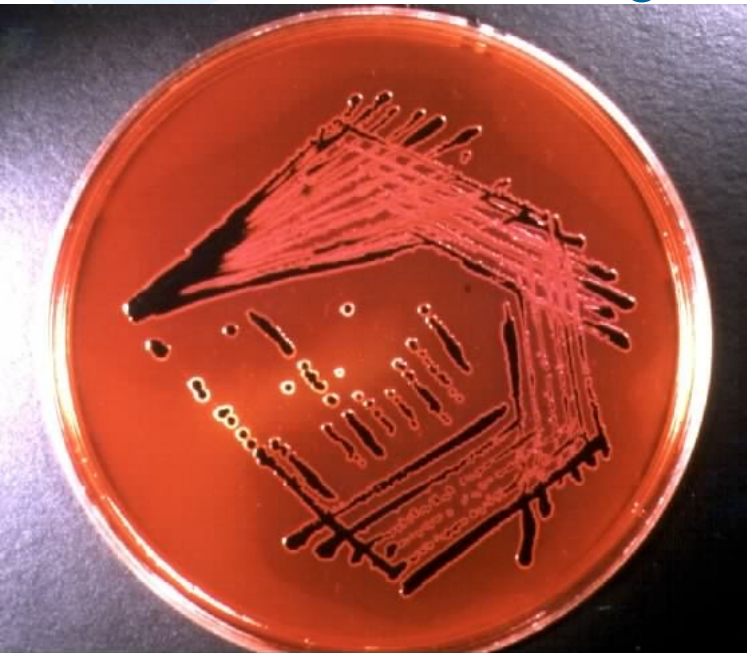
- I když salmonelóza i bacilární úplavice (=shigelóza) jsou přenášeny fekálně orální cestou, ve skutečnosti se možnosti jejich přenosu liší
- **Salmonely** potřebují velkou infekční dávku. Musí se proto pomnožit v potravíně – vehikulu. Infekce bývají z potravin (tzv. alimentární infekce)
- **Shigelám** stačí malá infekční dávka. Zato se přenášejí jen mezi lidmi, nedochází tedy tak často ke kontaminaci potravin. Jde o klasickou „nemoc špinavých rukou“, dřív byly i epidemie z vody

# Pro odlehčení...



<http://www.uwec.edu>

Salmonella na MAL agaru

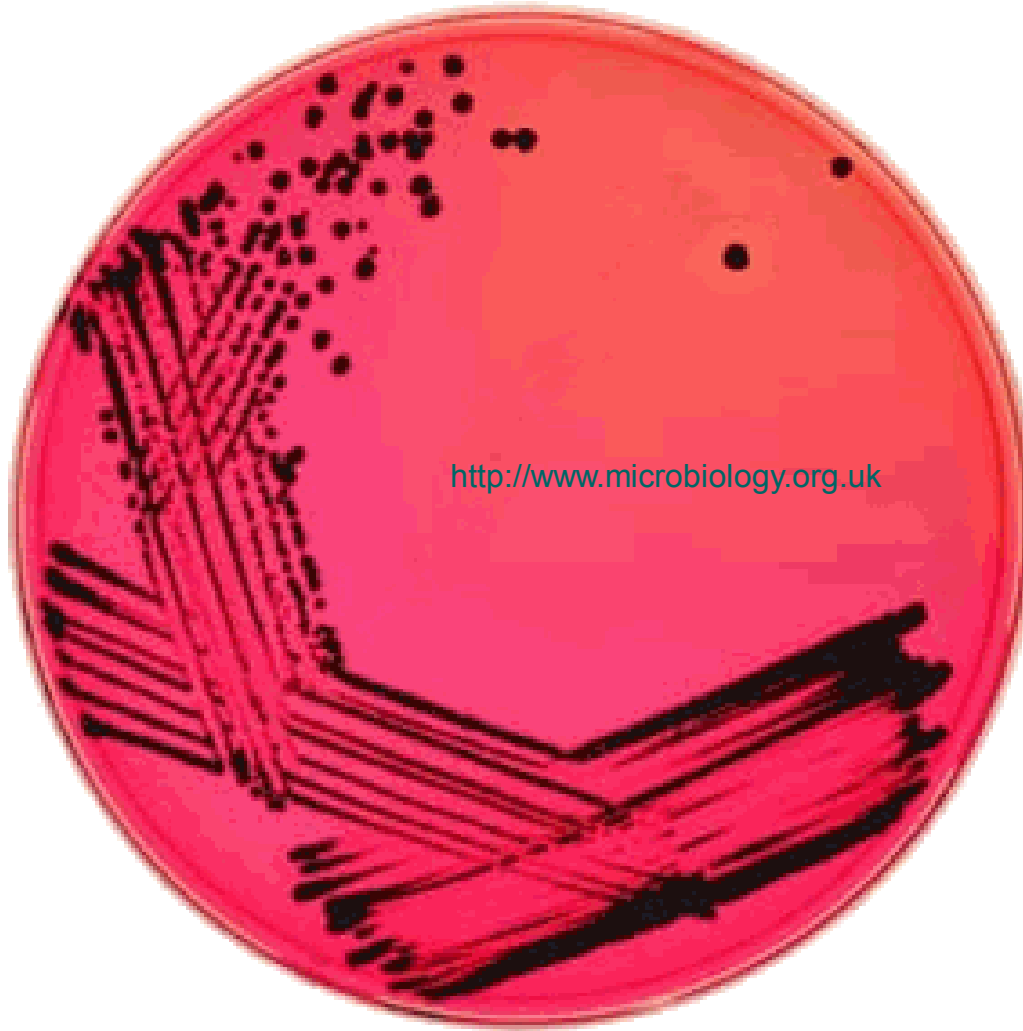


Nemůžem vždy slepici  
kontrolovat stolici.  
Jednou projdem  
drůbežárnou  
a stolici najdem zdárnou.  
Přiletí však holub bílý  
zanes tam salmonely.  
Odnosou pak vejce  
pro cukráře – strejce  
Cukrář – strýček nevinný  
nadělá z ní zmrzliny  
Mládež sní ji s důvěrou  
a všichni se...

# Salmonella

<http://www.uwec.edu>

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



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

# Onemocnění způsobená yersiniemi

- Kromě původce moru existují také další yersinie – *Yersinia enterocolitica* a *Yersinia pseudotuberculosis*, které způsobují průjmová onemocnění se zánětem střevních mízních uzlin
- *Y. enterocolitica* 60 sérotypů, v ČR O:3 a ojediněle O:9
  - v zemích s chladnějším klimatem
  - zdrojem nákazy je maso (vepřové, vnitřnosti; mořské ryby)
  - po odeznění průjmů komplikace – postižení kloubů
  - přímého průkazu a také průkaz protilátek
  - příznaky onemocnění někdy připomínají akutní zánět červovitého výběžku slepého střeva (apendicitidu)
- Infekce způsobené *Y. pseudotuberculosis* jsou v ČR vzácné



# 1c. Podmíněně patogenní enterobakterie



# *Escherichia coli*



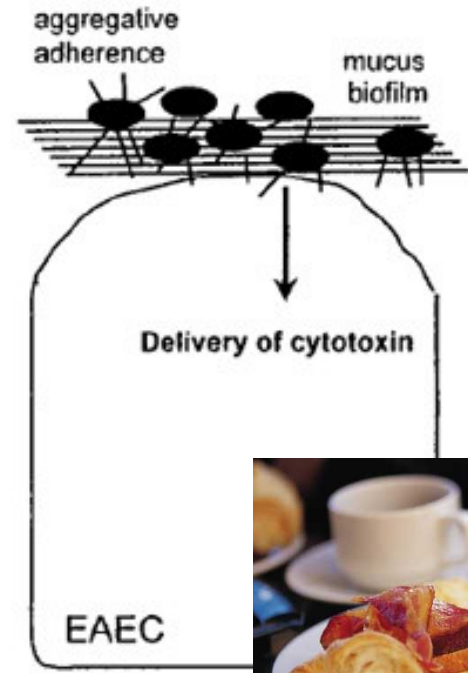
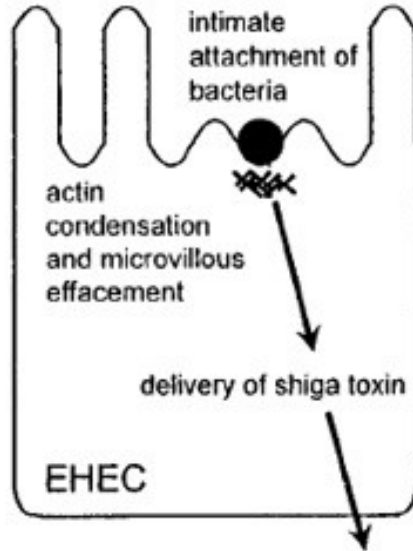
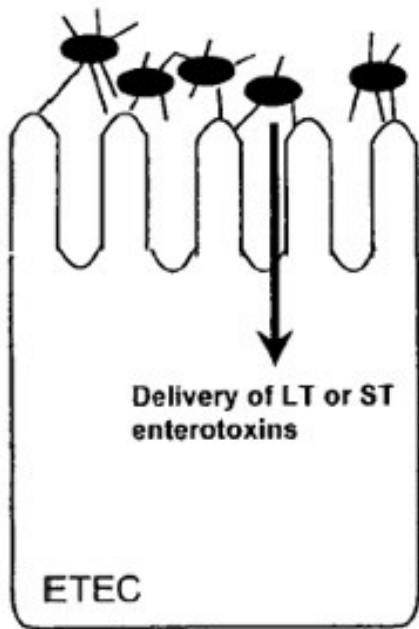
- *Escherichia coli* je jednou z nejdůležitějších **součástí střevní mikroflóry**, kde je zdraví prospěšná. Může však i škodit, a týká se to hlavně specifických kmenů. Patogenita je možná jak ve střevě, tak i mimo střevo
- Infekce močových cest
  - uropatogenní *E. coli* (**UPEC**)
  - nejen UPEC

# Střevní patogenita *Escherichia coli*

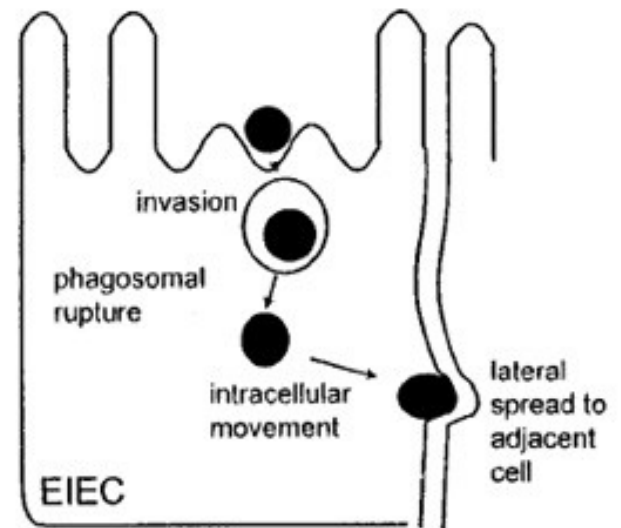
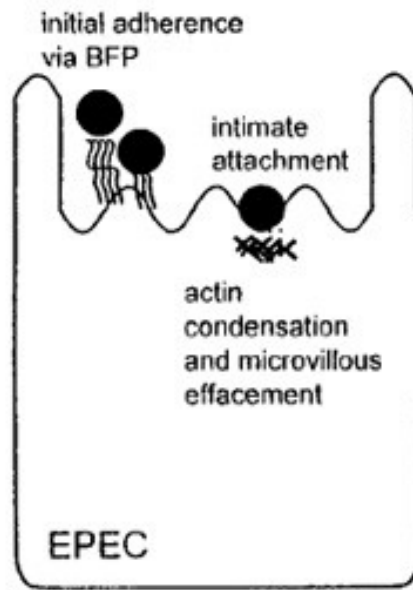
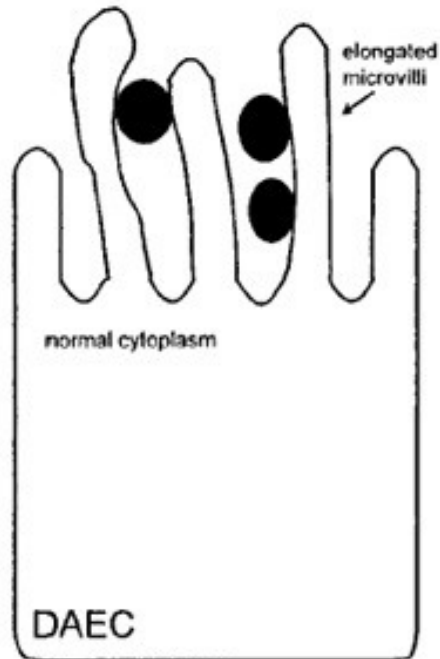
- Některé kmeny *E. coli* způsobují **průjmy novorozenců a kojenců**. Označují se jako **enteropatogenní kmeny *E. coli* (EPEC)** či jako kmeny **dyspeptické**
- Jiné kmeny *E. coli*, označované jako **enterotoxické (ETEC)** způsobují **průjmy cestovatelů**
- Další jsou **enteroinvazivní (EIEC)**
- Nejzávažnější jsou **enterohemoragické (EHEC) kmeny**. V podstatě zvláštním případem EHEC jsou i **shigely**

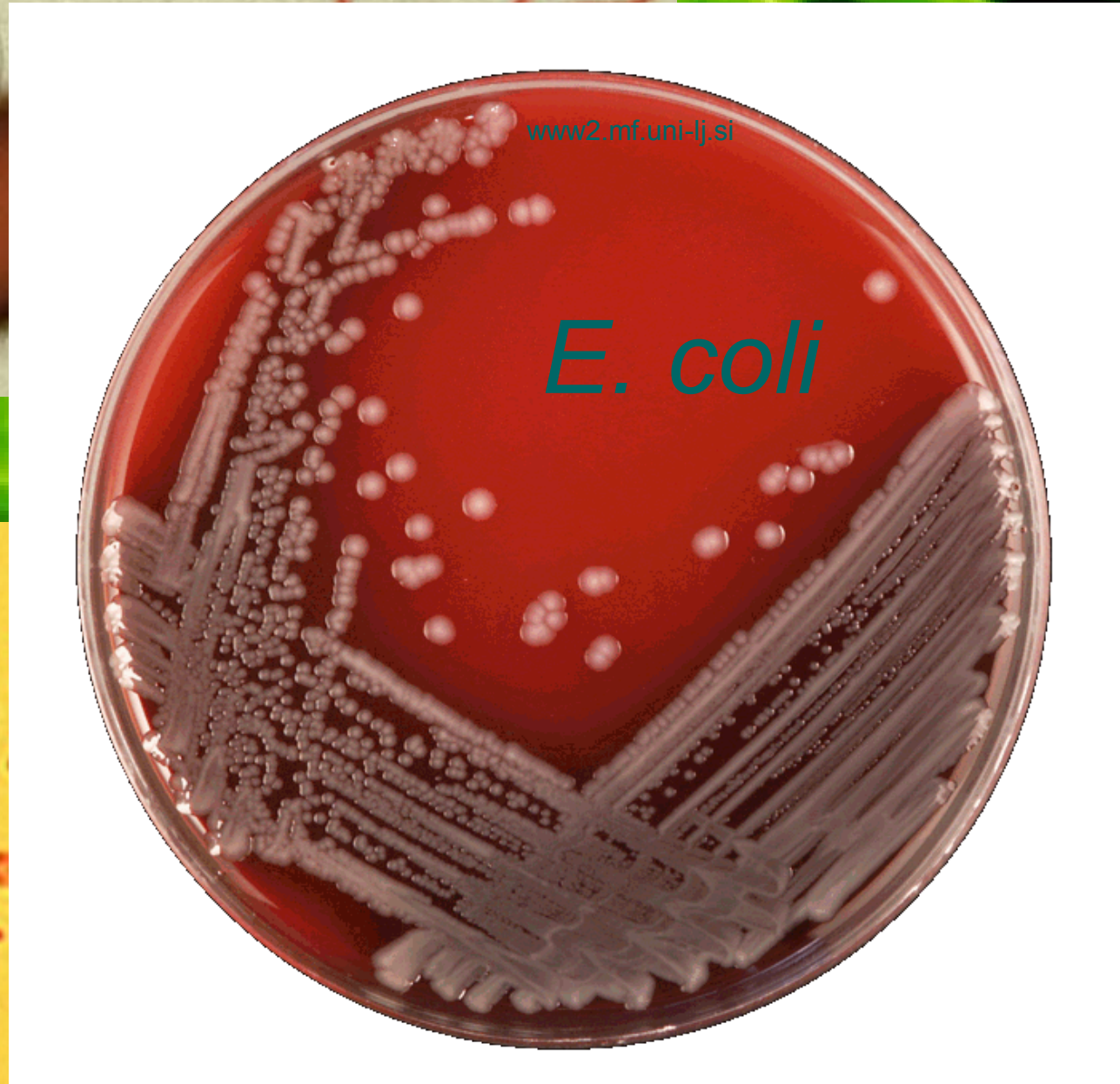
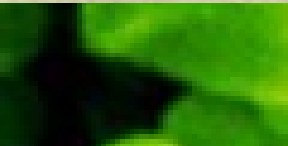
# Přehled patogenních typů *E. coli*

Zkratka	Typ <i>E. coli</i> entro-	Výskyt ČR	postižení jedinci	hlavní komplikace
ETEC	toxigenní	ne	turisté bez rozdílu věku	-
EIEC	invazivní	vzácně	děti i dospělí	-
STEC, VTEC	tvořící shiga- toxin, verotoxigenní	ano	děti někdy senioři	dehydratace
EHEC	hemoragické O157:H7	ano	děti	HUS
EPEC	patogenní O26, O55, O86	ano	kojenci	zvracení, těžká dehydratace
EAEC, EAaggEC	adherující, agregující	vzácně	děti, někdy i dospělí	chronické průjmy



<http://www.frankpasternak.com>





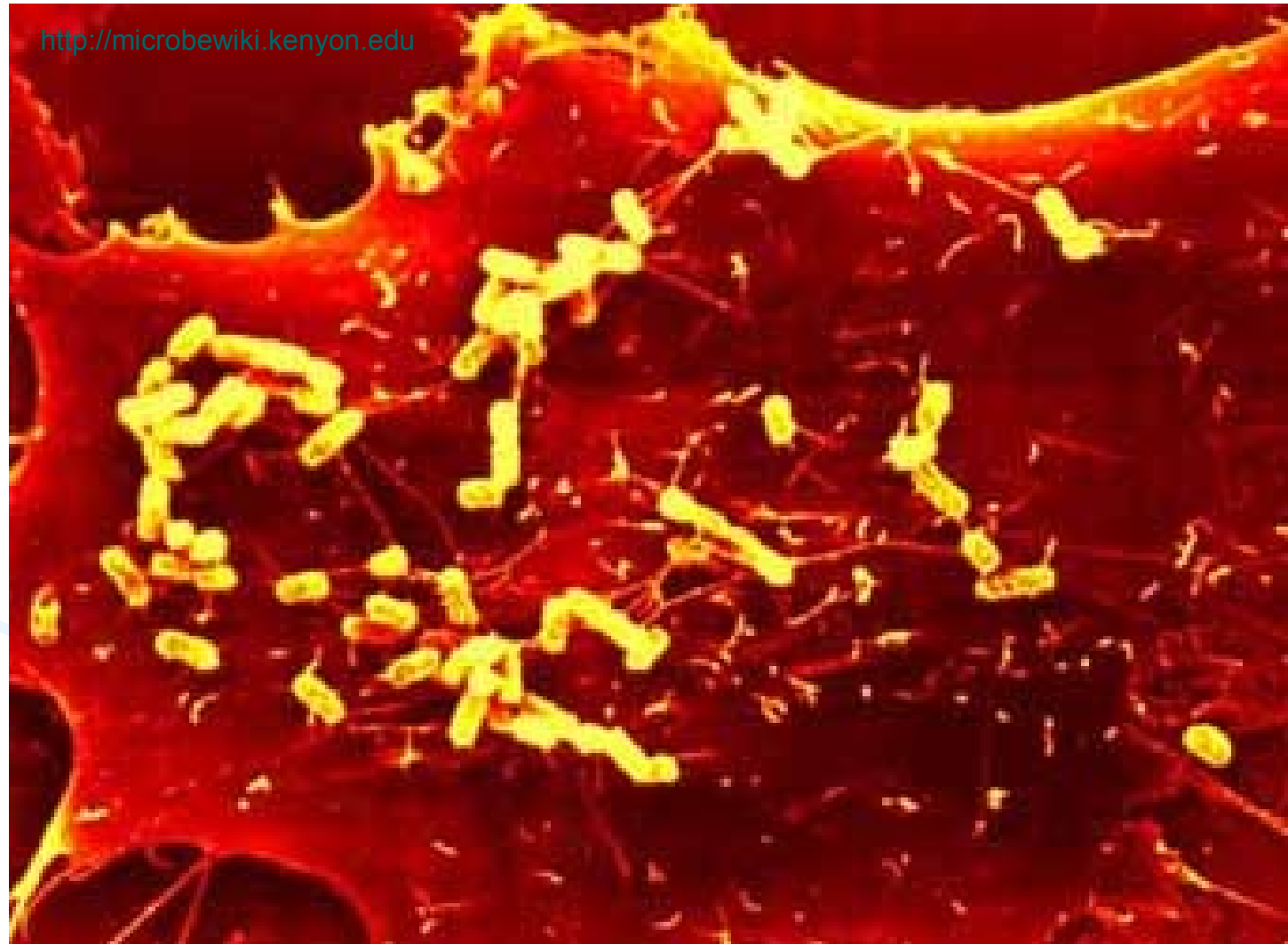
[www2.mf.uni-lj.si](http://www2.mf.uni-lj.si)

*E. coli*

# Působení *E. coli* mimo střevo

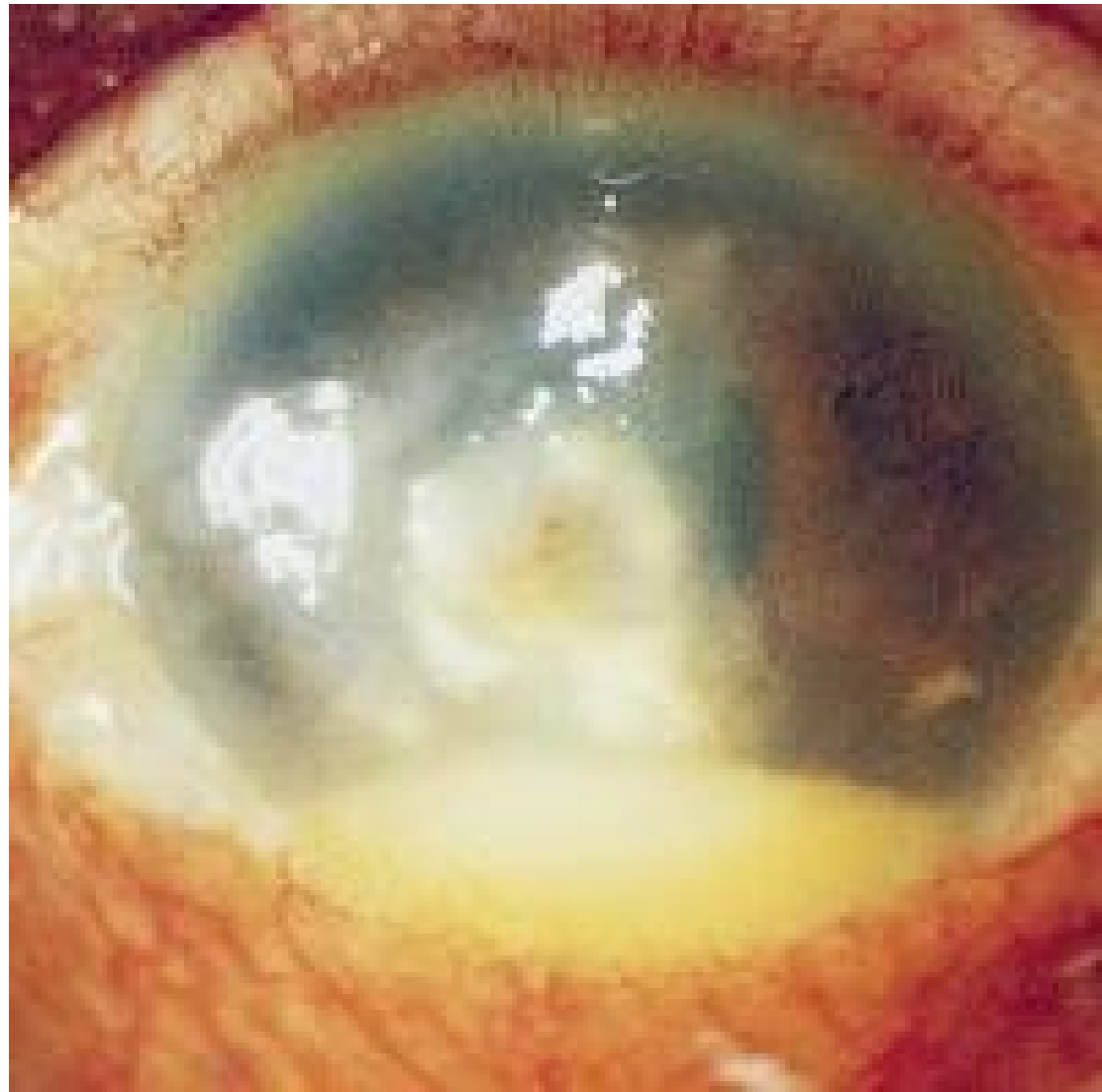
- způsobuje asi 70 - 85 % infekcí močových cest mimo nemocnice a asi 55 % v nemocnici
- může také způsobovat sepse, infekce ran, infekce v dýchacích cestách, gynekologické infekce (i když malé množství v pochvě se nepovažuje za problém)
- u nemocničních infekcí je často rezistentní na různá antibiotika (mohou produkovat širokospektré betalaktamázy, i když méně často než klebsiely)

# Stěna močového měchýře s adherovanými escherichiiemi



# I vřed rohovky může způsobit *Escherichia coli*

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





# Další potenciálně (podmíněně) patogenní enterobakterie I

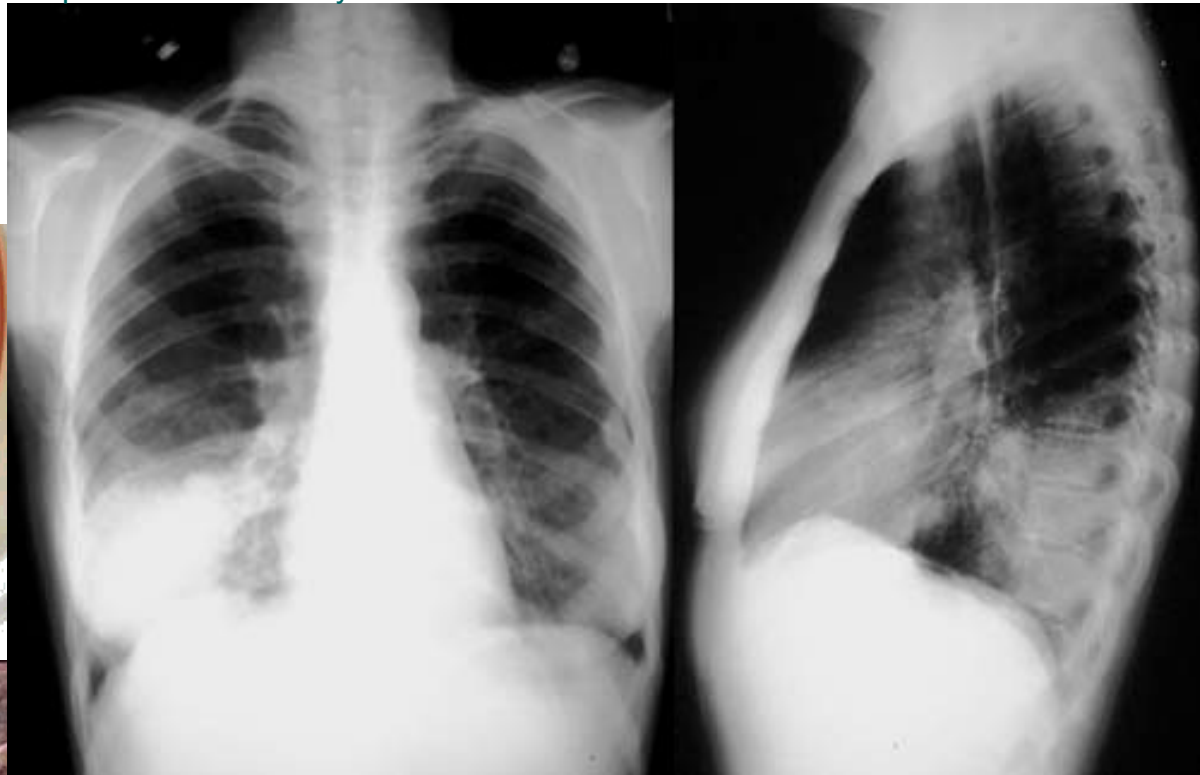
- *Klebsiella* a *Enterobacter* - podobné rody
  - mohou tvořit pouzdra, vypadají podobně i na půdách.
  - *klebsiela* je bělejší, méně často je běžnou flórou ve střevě a častěji patogenem, např. v dýchacích cestách.
  - *enterobacter* je šedivější a častěji nalézáný jako běžná flóra ve střevě, méně často jako patogen.
  - *klebsiela* často produkuje širokospektré beta-laktamázy a způsobuje nozokomiální nákazy
  - z rodu *Enterobacter* taxonomové vyčlenili r. *Pantoea*, klinicky se ale neliší
- *Citrobacter* je občasným původcem močových i jiných infekcí.
  - může být zaměněn za salmonelu, odlišíme ho pozitivním testem ONPG

# Další potenciálně patogenní enterobakterie I

- ***Proteus, Providencia a Morganella*** 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. Infekce způsobuje u intravenózních uživatelů drog a pacientů na JIP s četnými vstupy
- ***Hafnia*** je občas nalézána v různých tkáních jako patogen, v zásadě se neliší od obecné charakteristiky enterobakterií

# Co tropí klebsielly...

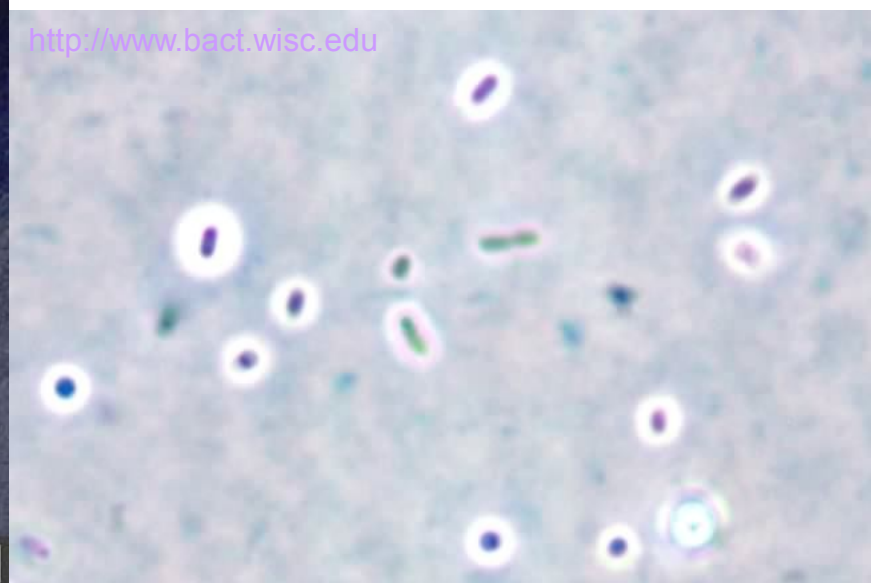
<http://microbewiki.kenyon.edu>



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



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



**BrownMed**  
Brown Medical School



# 1d. Neapatogenní enterobakterie

# 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)

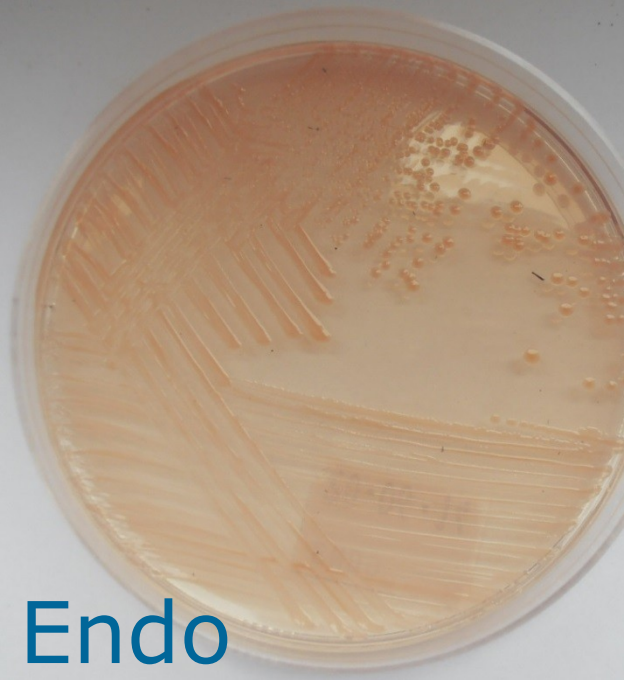
# Enterobakterie – diagnostika

- Přímé metody
  - **Mikroskopie** – v praxi má malý význam, protože je jich mnoho a v mikroskopu jsou všechny stejné.
  - **Kultivace** – používá se mnoho různých půd (CIN na yersinie, půdy na salmonely viz dále)
  - **Identifikace** – biochemická, MALDI
  - **Antigenní analýza** – salmonely, shigely, EPEC
- Nepřímé metody (protilátky)
  - používají se výjimečně, příkladem je Widalova reakce u tyfu či průkaz protilátek proti yersiniím

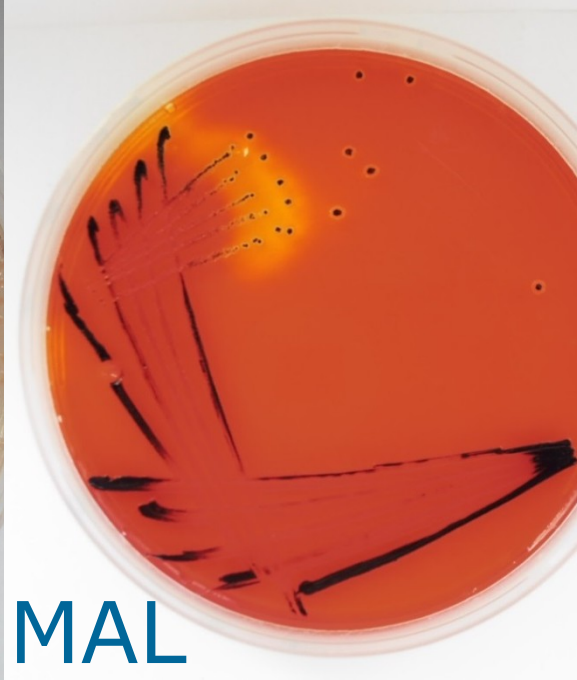
# Štěpení laktózy

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“.

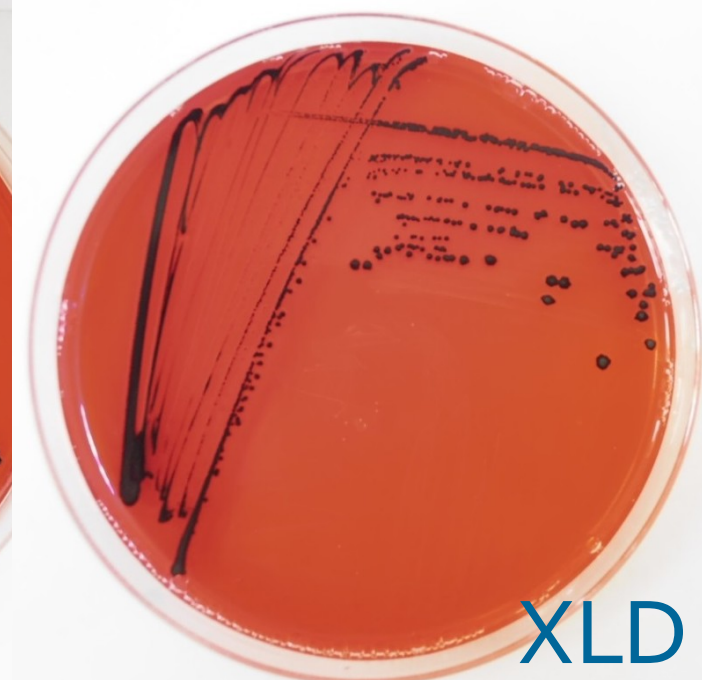




Endo



MAL



XLD

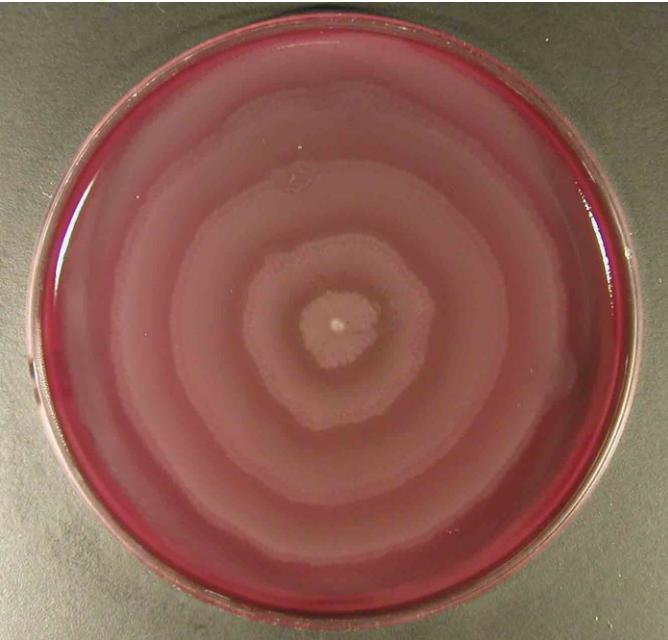


# Salmonella



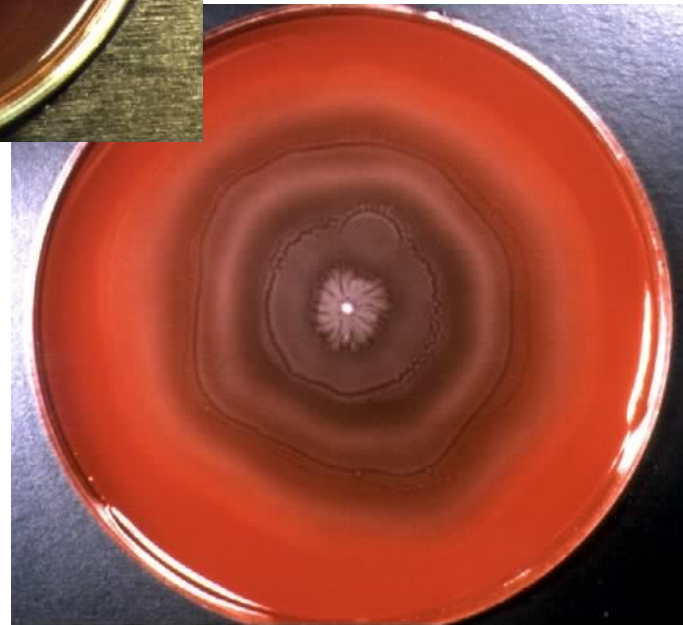


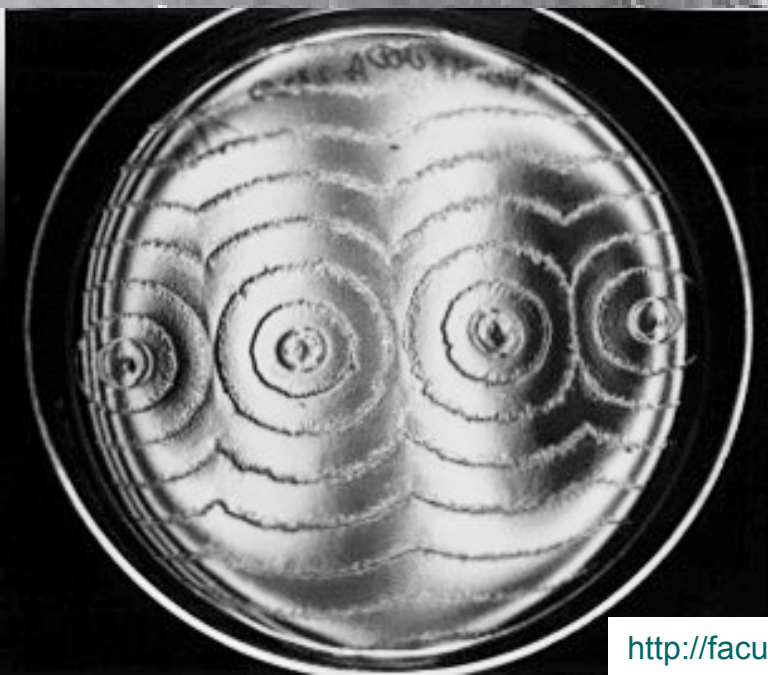
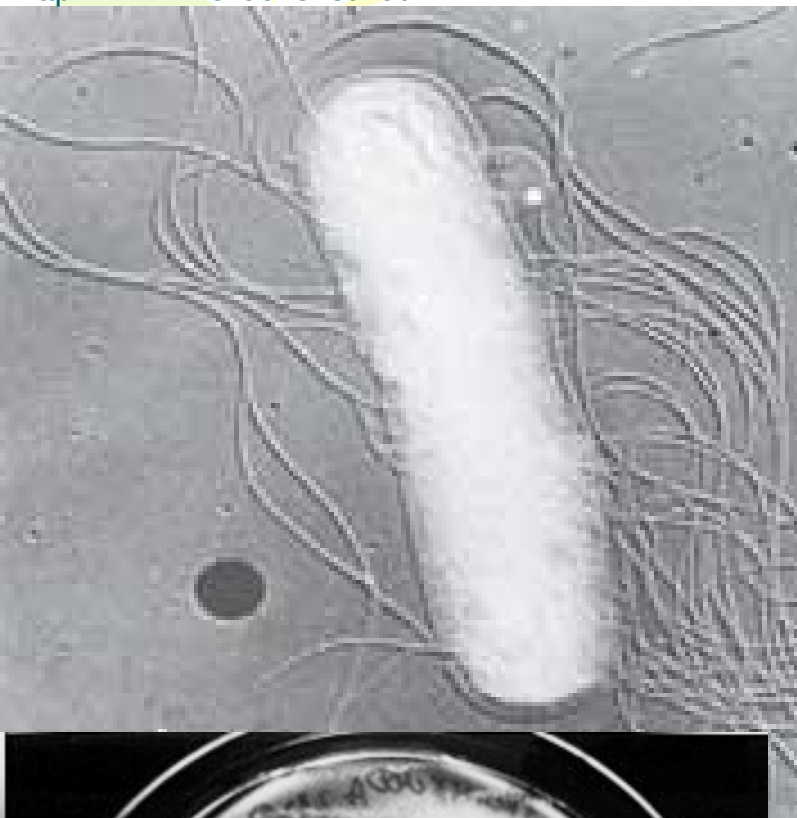
# *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris* (dole)



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

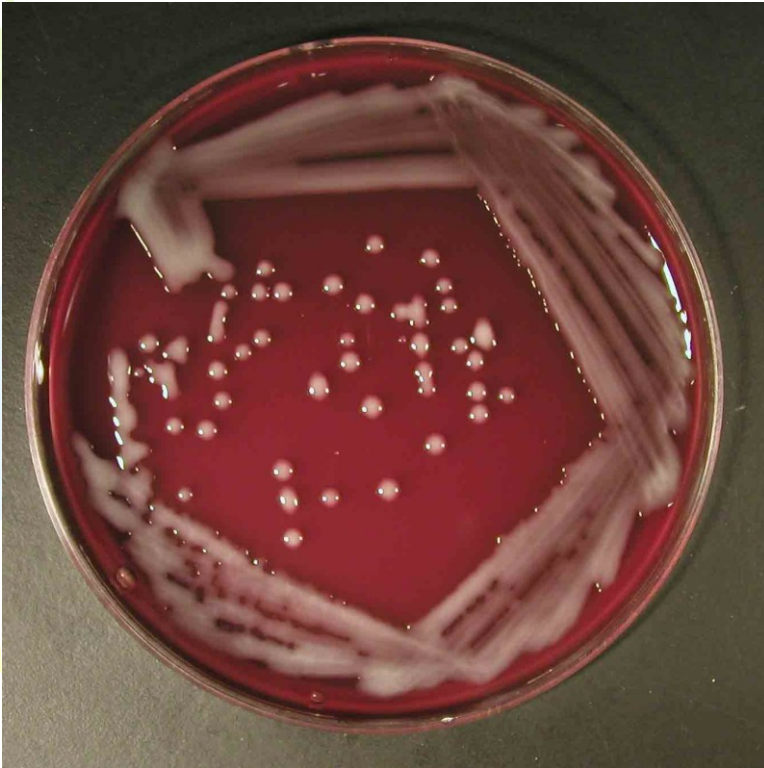
Pro protey je typické, že nerostou jen v místě inokulace, ale šíří se po povrchu agaru do stran (plazivý růst, Raussův fenomén, také fenomén příbojové vlny)





# *Proteus*

# Klebsiely a escherichie



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



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

# *Escherichia coli*



Pokud *Escherichia coli* na KA hemolyzuje (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 **enterobakterie**, příslušníci čeledi ***Vibrionaceae*** a **gramnegativní nefermentující tyčinky**
  - **Nefermentující** - 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 r. *Plesiomonas*) 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, ENTEROtesty aj.
- **Ostatní metody** identifikace - **MALDI**
- **Antigenní analýza** zpravidla sklíčkovou aglutinací

# Použití antigenní analýzy v diagnostice enterobakterií

- **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* u dětí do dvou let (ověřuje se, zda nejde o EPEC) a u těžkých průjmů (ověření, zda nejde o některý kmen STEC).



# Aglutinace salmonel

- Při aglutinaci kterékoli pohyblivé enterobakterie lze hodnotit 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 (průkazné je pouze to, když jsou pozitivní oboje)

# 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,** kde se kromě klasických antibiotik testují i látky používané k léčbě močových infekcí (nitrofurantoin)

# Některá používaná antibiotika (u močových infekcí)

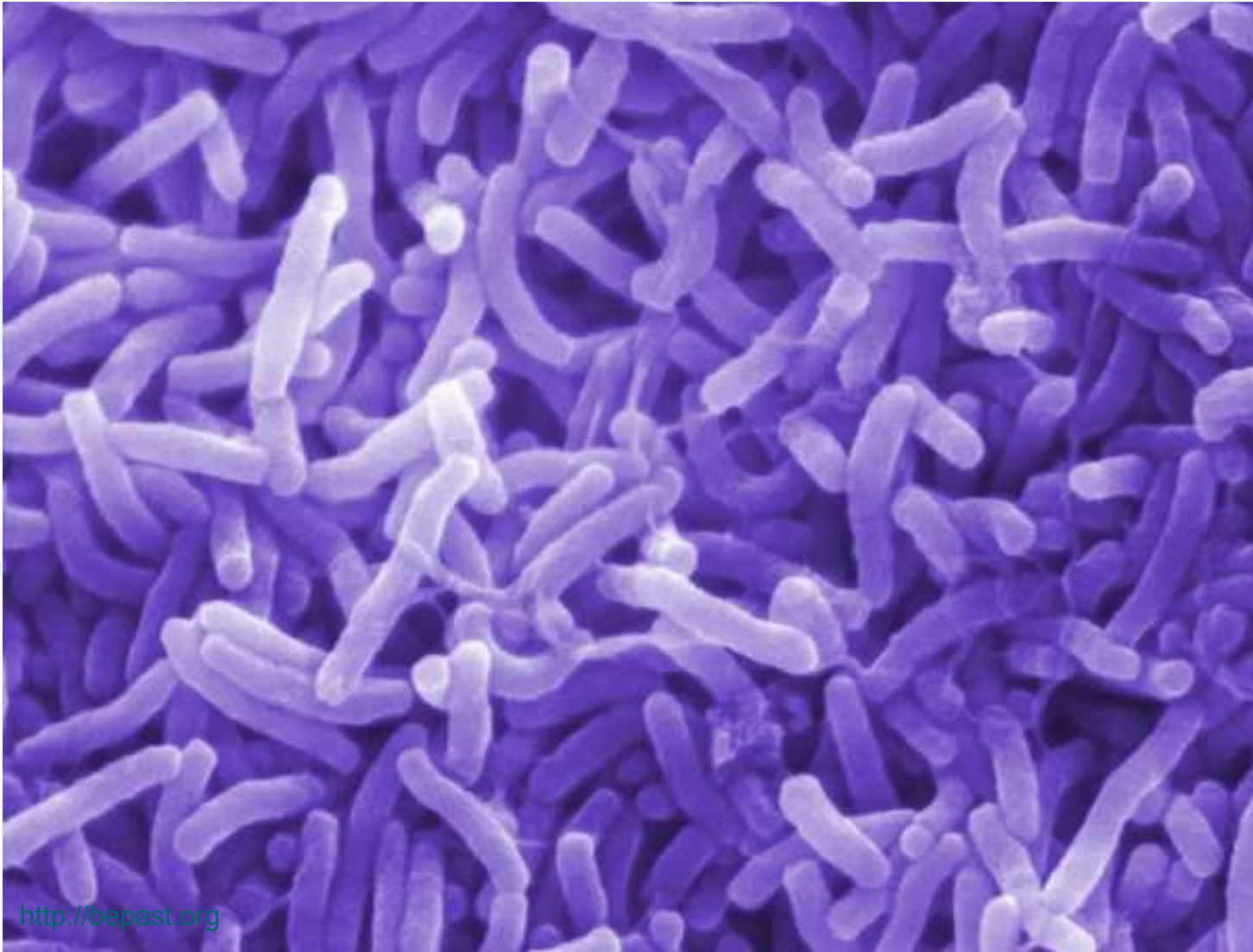
Antibiotikum	Zkratka	Referenční zóna
Ampicilin (rozšír. penic.)	AMP	17 mm
Cefalotin (CS 1 gen)	KF	18 mm
Ko-trimoxazol (směs)	SXT	16 mm
Nitrofurantoin (nirofuran)	F	17 mm
Ciprofloxacin (chinol 3G)	CIP	21 mm
Kyselina oxolinová*(ch1G)	OA	19 mm
Doxycyklin (tetracyklin)	DO	16 mm

\*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

## 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
- 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 s otevřenými ranami (u vibrií jde o koupání ve slané vodě, u aeromonád ve vodě sladké), aeromonády mohou způsobovat průjmová onemocnění u předškolních dětí

# Přenos infekce

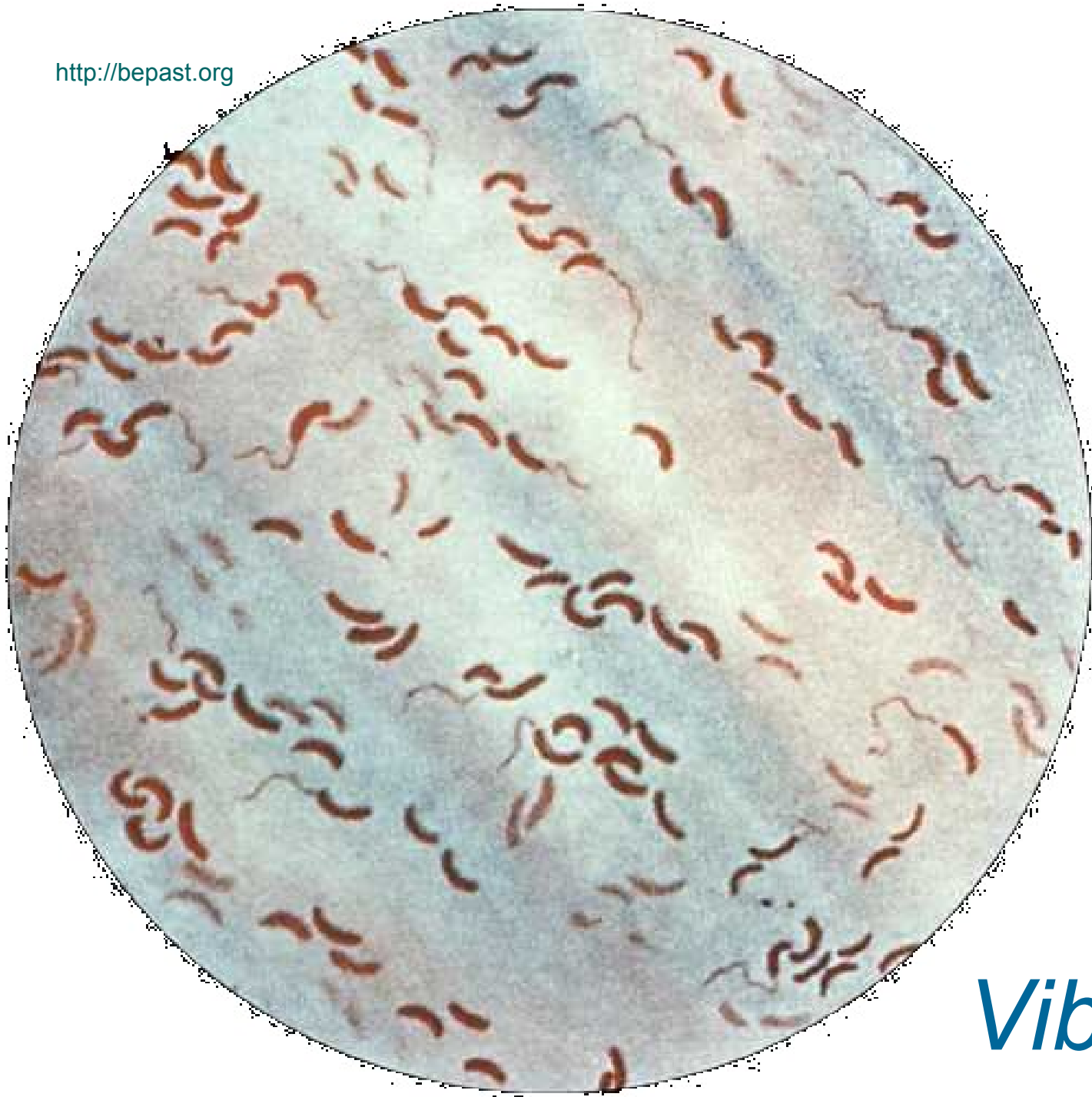
- Přenos nejčastěji **fekálně orální**, případně infekce rány z kontaminovaného organismu
- U cholery jsou významné především kontaminované zdroje pitné vody
- **Léčba je podobná jako u enterobakterií**, u cholery se ale antibiotika nepoužívají, je tam nejvýznamnější dodání vody a solí do těla. To může být problém hlavně tam, kde je pitná voda problémem



# Diagnostika čeledi *Vibrionaceae*

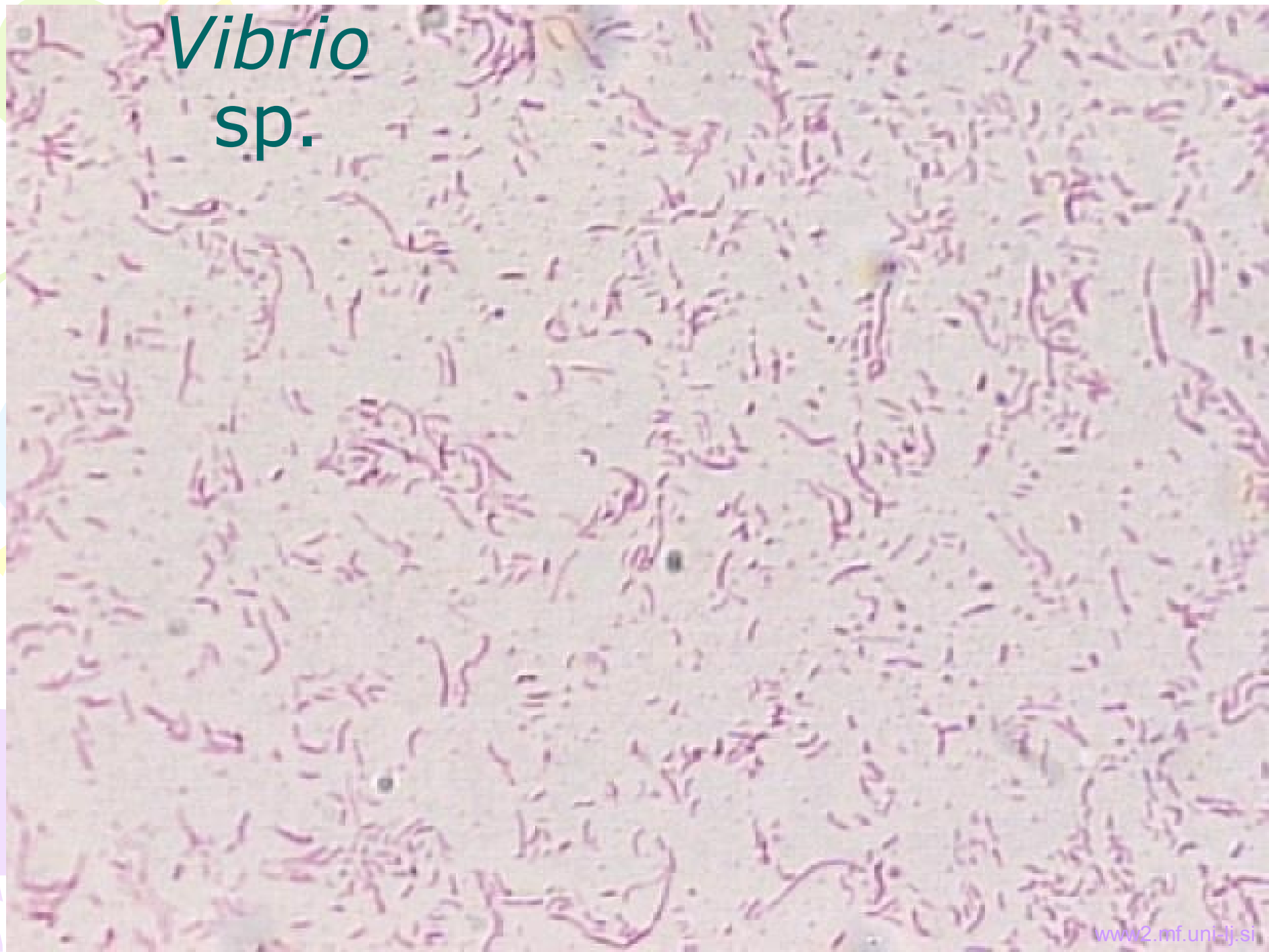
- Provádí se podobně jako u enterobakterií, ale jsou oxidáza pozitivní.
- **Mikroskopicky** jsou vibria pohyblivé, zahnuté tyčinky
- Používá se také **speciálních půd**, například alkalická peptonová voda a TCŽS (Thioglykolát, cystein, žlučové soli)
  - Používá se obdobných biochemických testů, jako u enterobakterií
- **MALDI**

<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** 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 mají nižší teplotní optimum

# 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.

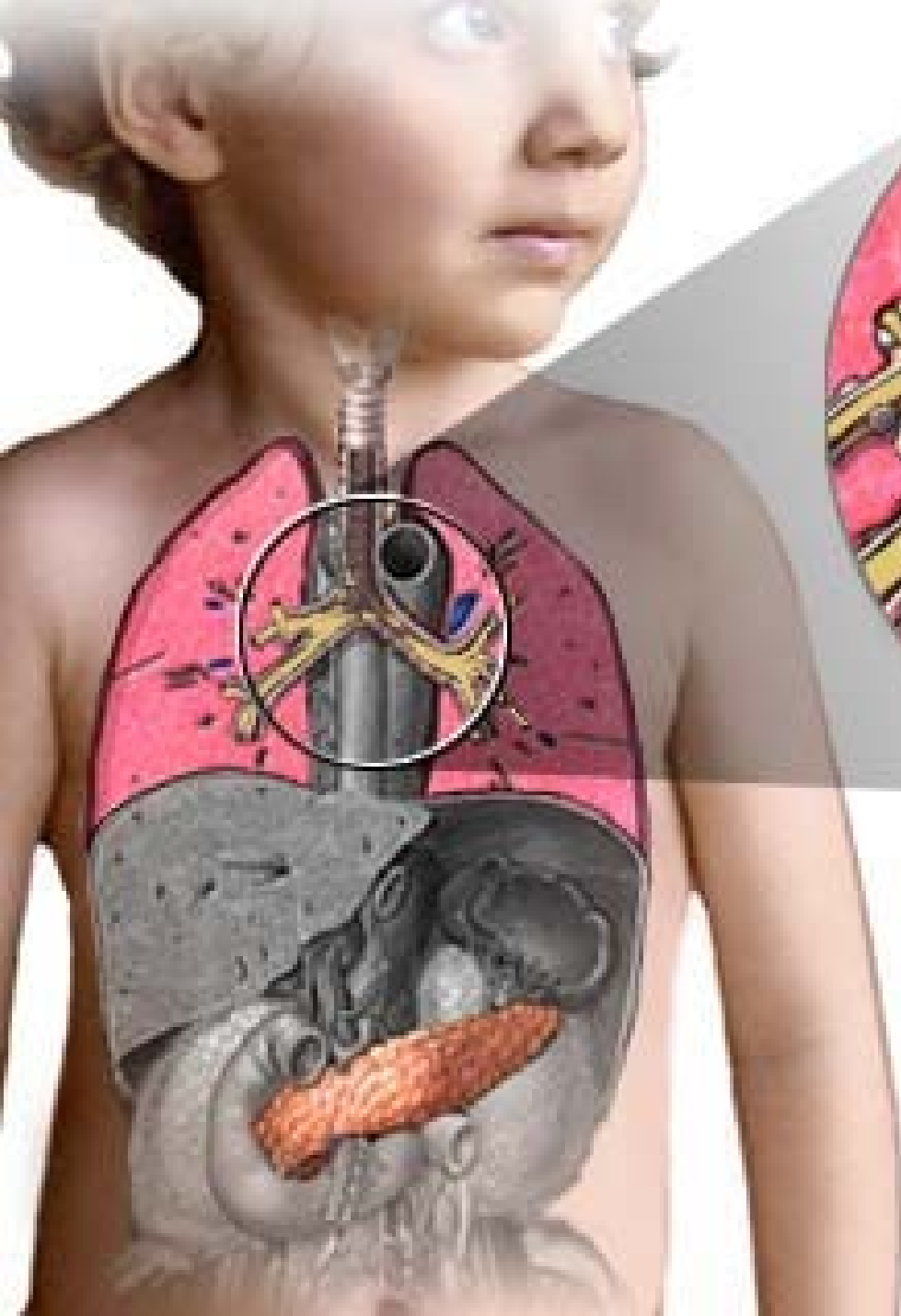
# Klinická charakteristika

- 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.





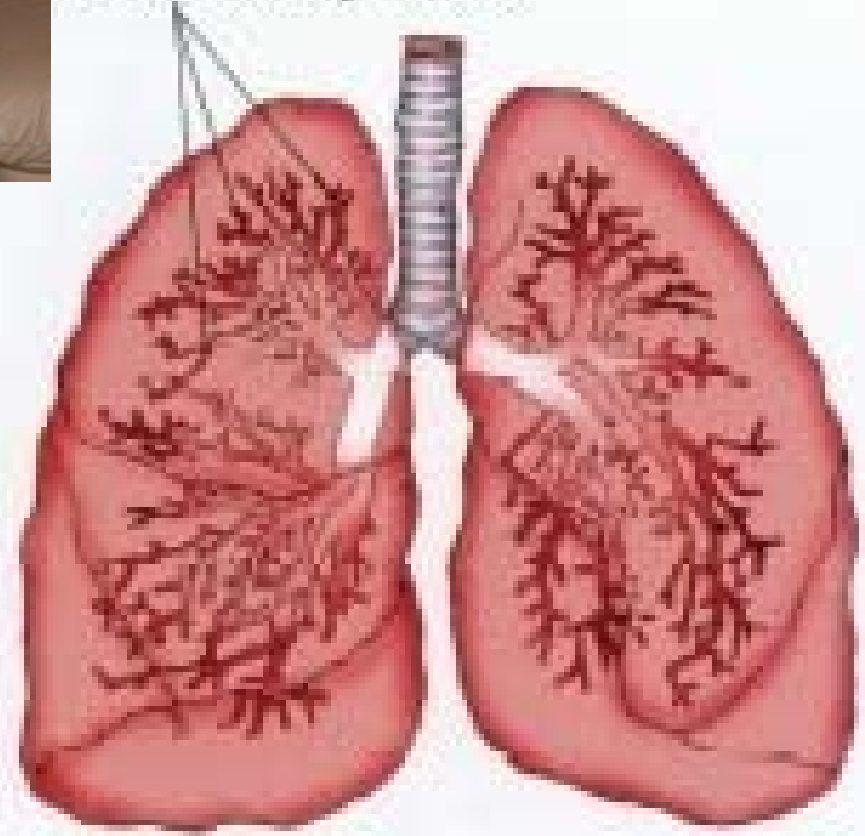
Cystic fibrosis is a hereditary disorder characterized by lung congestion and infection and malabsorption of nutrients by the pancreas



Unobstructed  
bronchial tubes



Bronchial tubes  
are blocked by mucus



Healthy lungs

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 (na bázi kvarterních amoniových solí)**
- 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 zanítila**. 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 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*

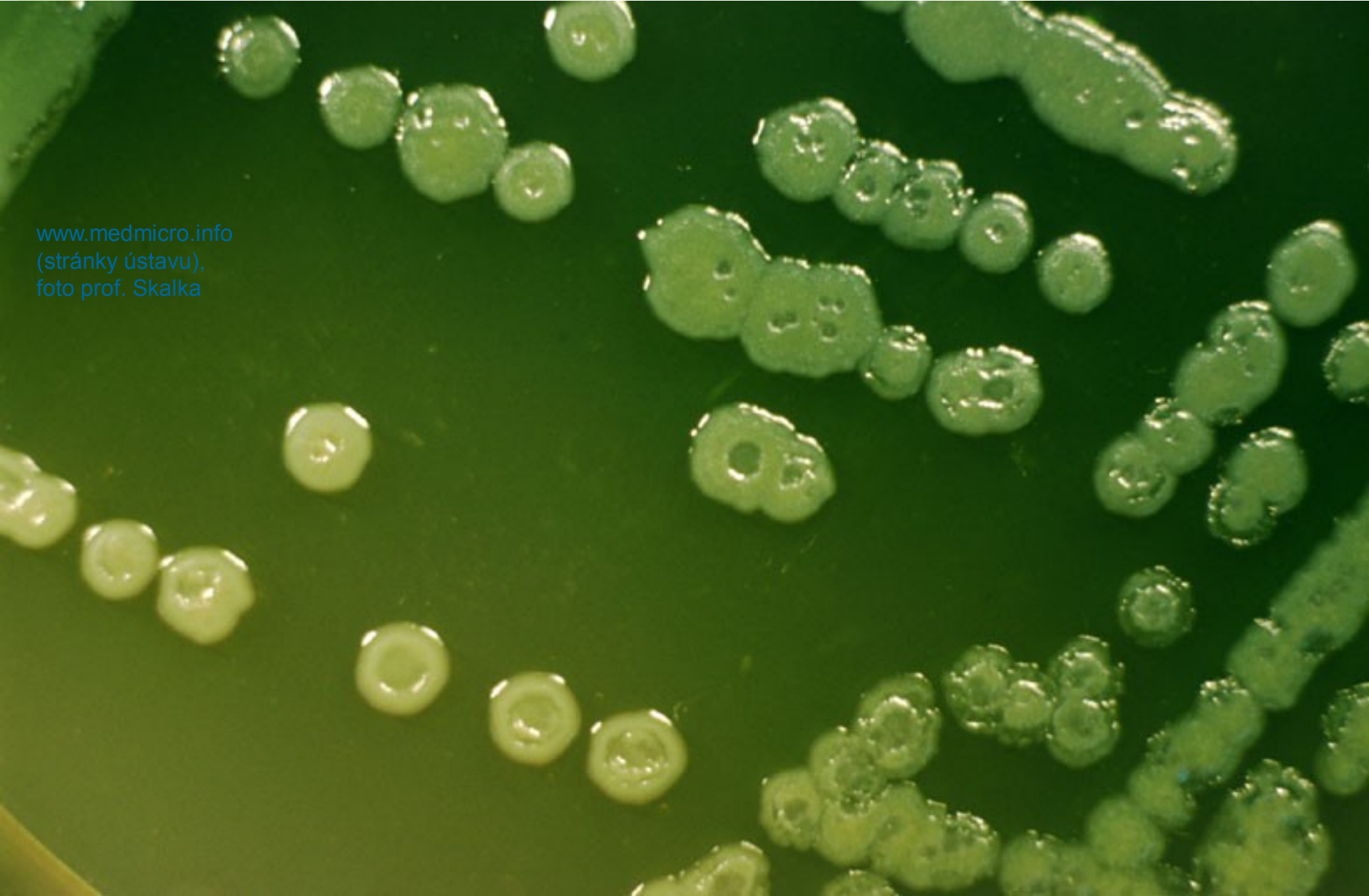
U oslabených osob  
mohou způsobovat  
např. i zánět  
nehtového lůžka.



[www.kvarts.is](http://www.kvarts.is)

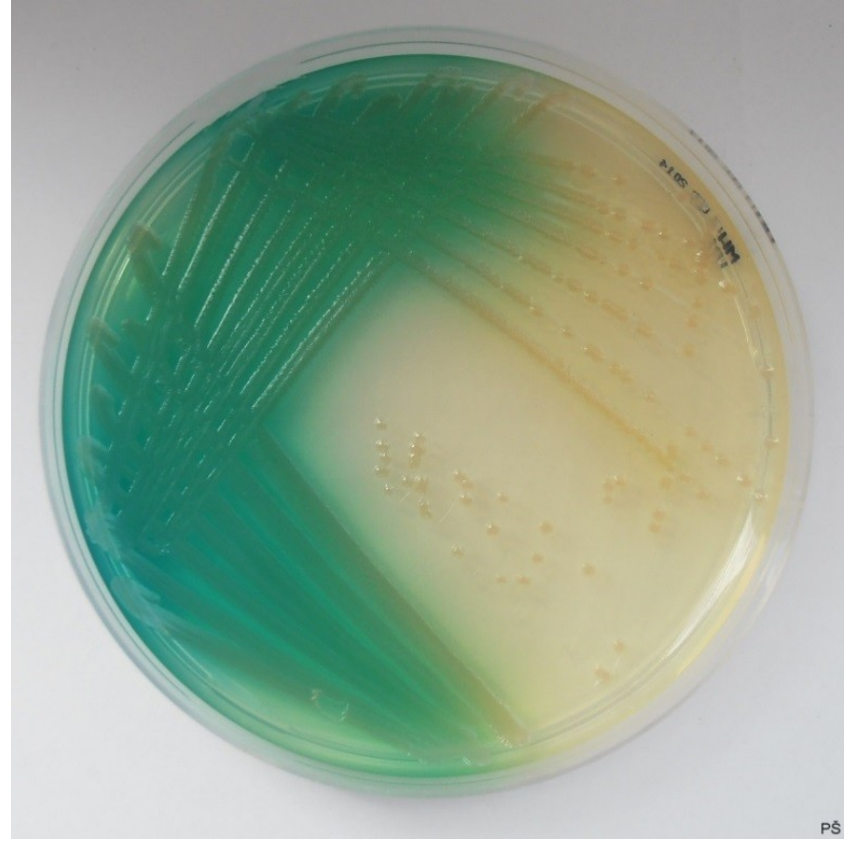
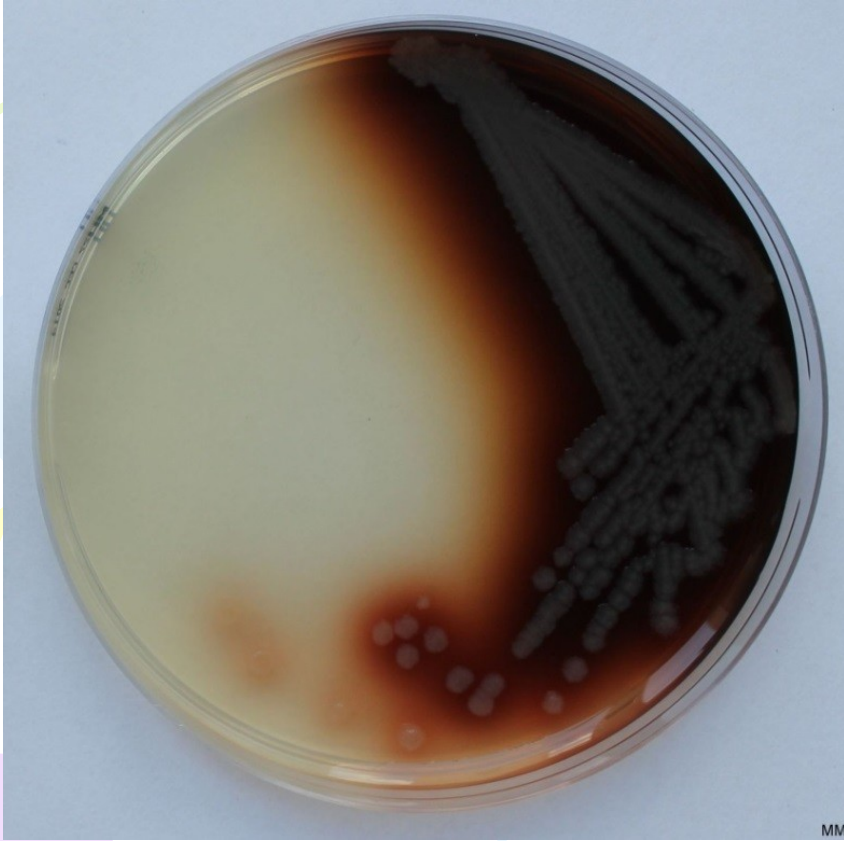
# *Pseudomonas aeruginosa* na MH

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





# *Pseudomonas aeruginosa*



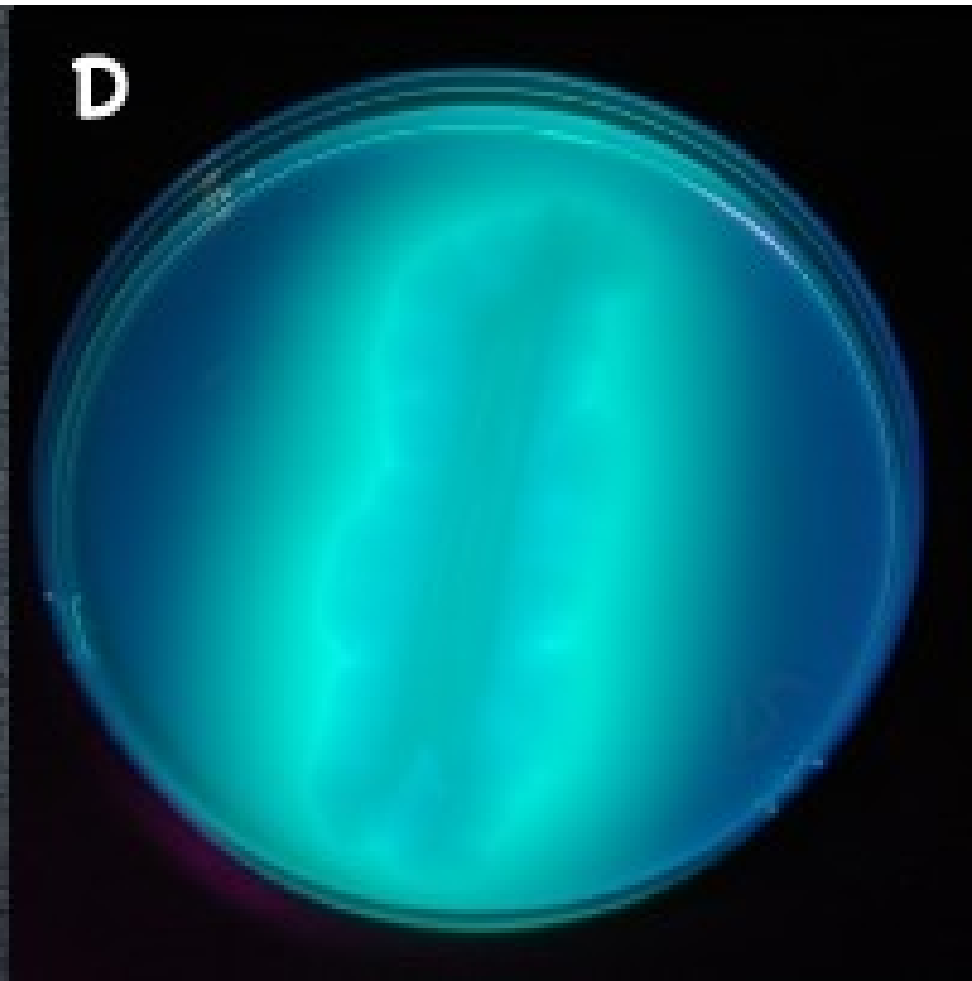
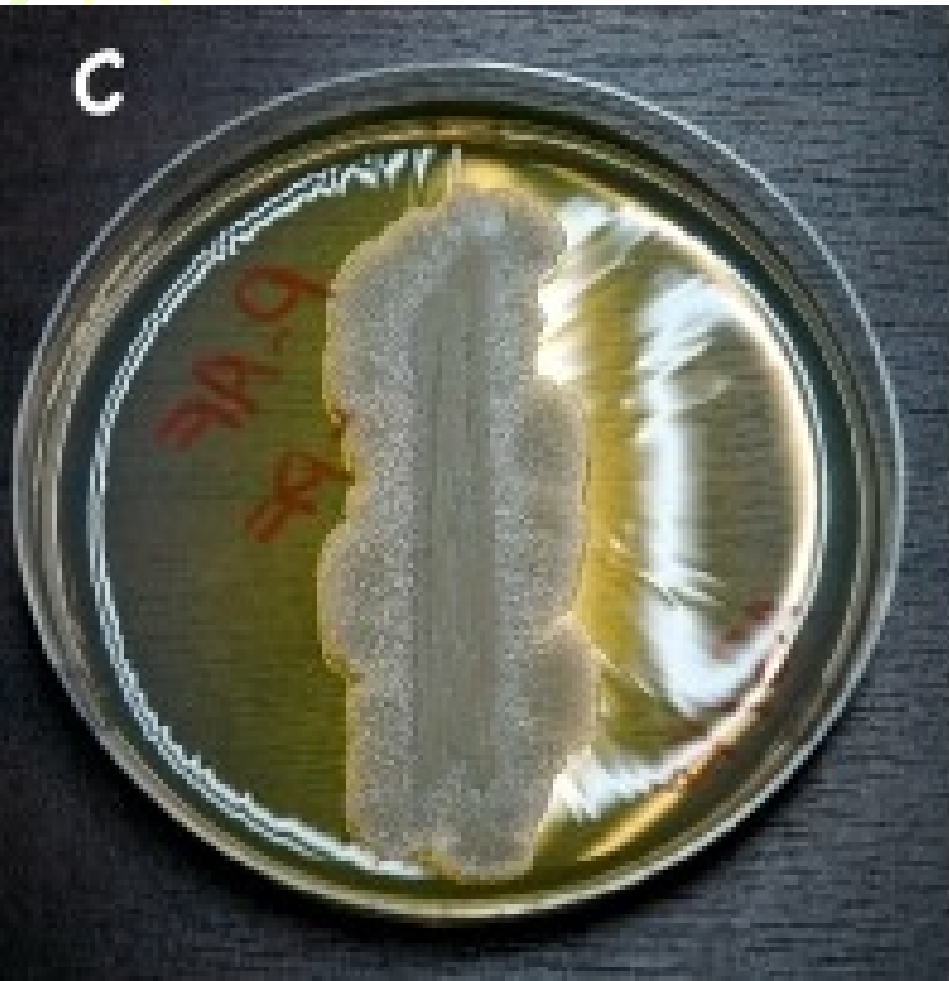


[textbookofbacteriology.net](http://textbookofbacteriology.net)

Výjimečný kmen  
pseudomonády  
s modrým  
pigmentem

# Další „nefermentující“: *Pseudomonas fluorescens*

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

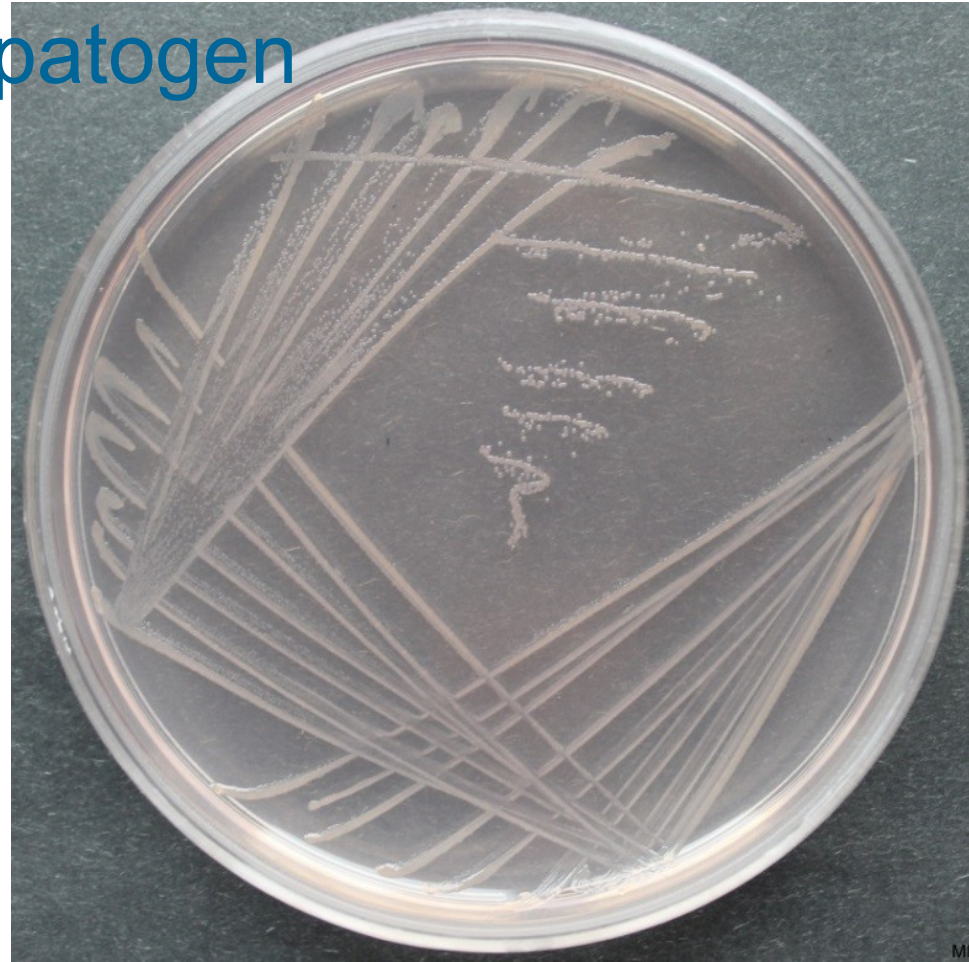


# *Burkholderia cepacia*

*Burkholderia* **cepacia**

způsobuje hnilobu cibule

(*Allium* **cepa**), je to tedy typický  
rostlinný patogen



<http://www.apsnet.org>

# *Burkholderia pseudomallei*

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

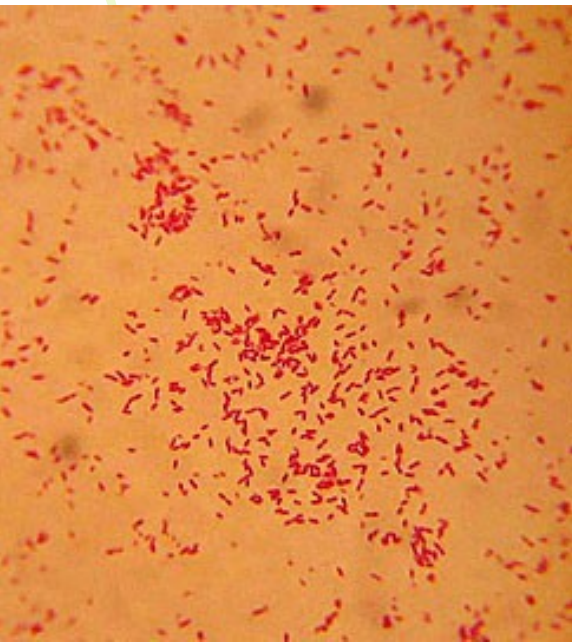


# *Stenotrophomonas maltophilia*

<http://www.scielo.cl>

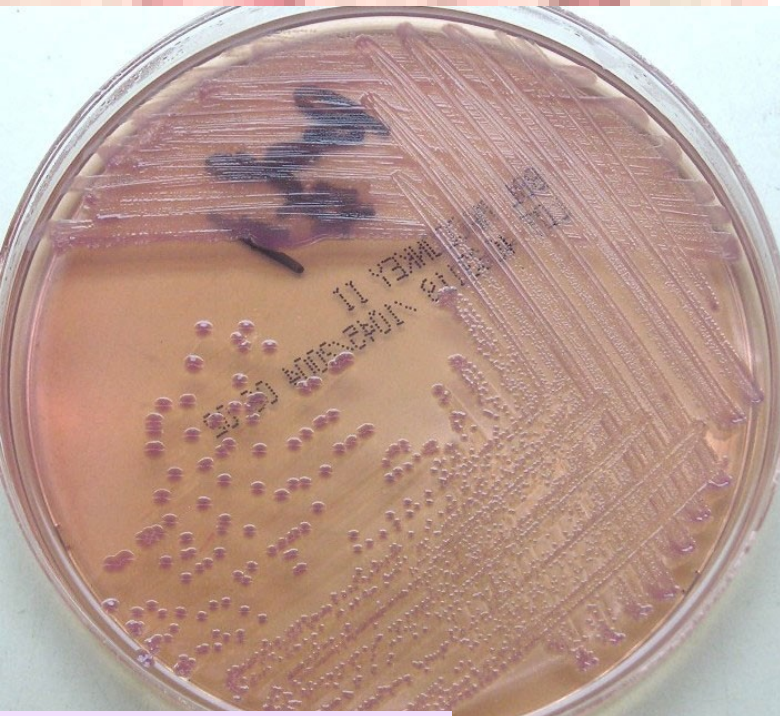
<http://clinicalmicrobiology.stanford.edu>

<http://www.microbelibrary.org>



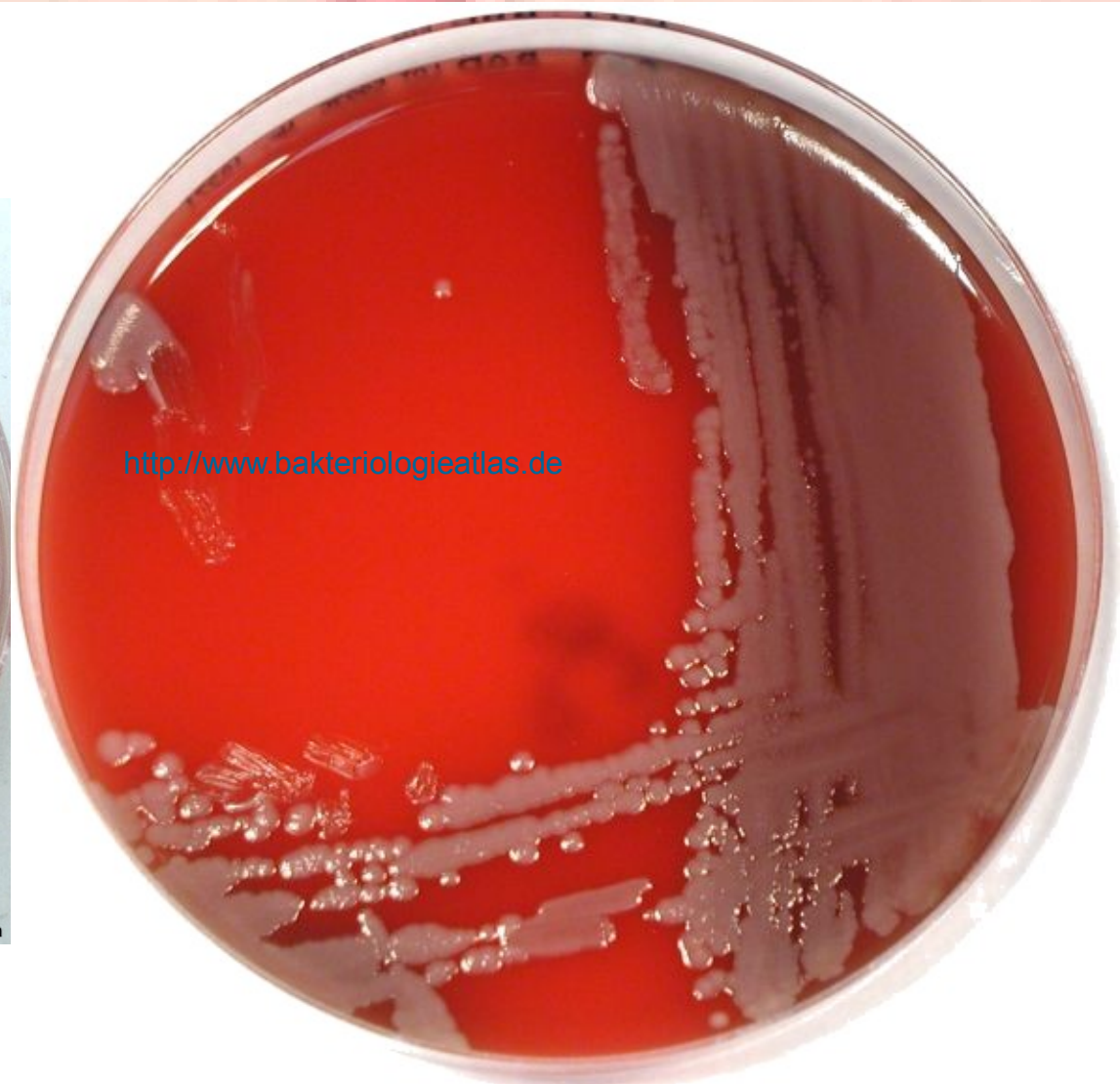
*Stenotrophomonas maltophilia* je dlouhé jméno, ale snadno si ho zapamatujete: je to „úzké-výživy-jednotka maltózu-milující, čili „bakteriální panda“, místo bambusu žvýkající maltózu 😊

# Acinetobacter s



<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

- **MALDI**

*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

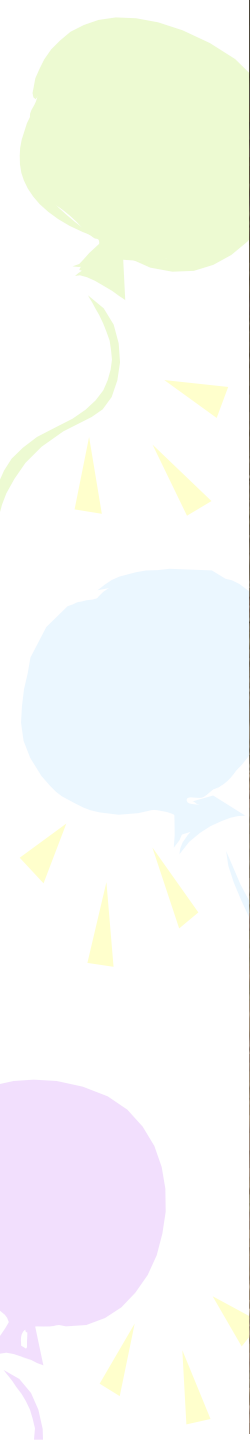
- **Pseudomonády** se zpravidla poznají:
  - Mají typickou **vůni** (mladé kultury)
  - Tvoří **pigmenty**, nejčastěji **zelené**, někdy modré či rezavé. Nejlépe jsou viditelné na MH, ale trochu i na KA či Endově agaru
  - Mají pozitivní **oxidázu**
- **Ostatní nefermentující**, případně sporné pseudomonády,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

# Testy antibiotické citlivosti

- Nefermentující bakterie **rostou na nejrůznějších půdách včetně MH**
- Běžná antibiotika zpravidla nezabírají, používají se speciální antibiotika, a i na ně vznikají často sekundární rezistence
- Samozřejmě i na atb testech pseudomonáda **barví MH agar na zeleno**

# Příklady některých používaných antibiotik

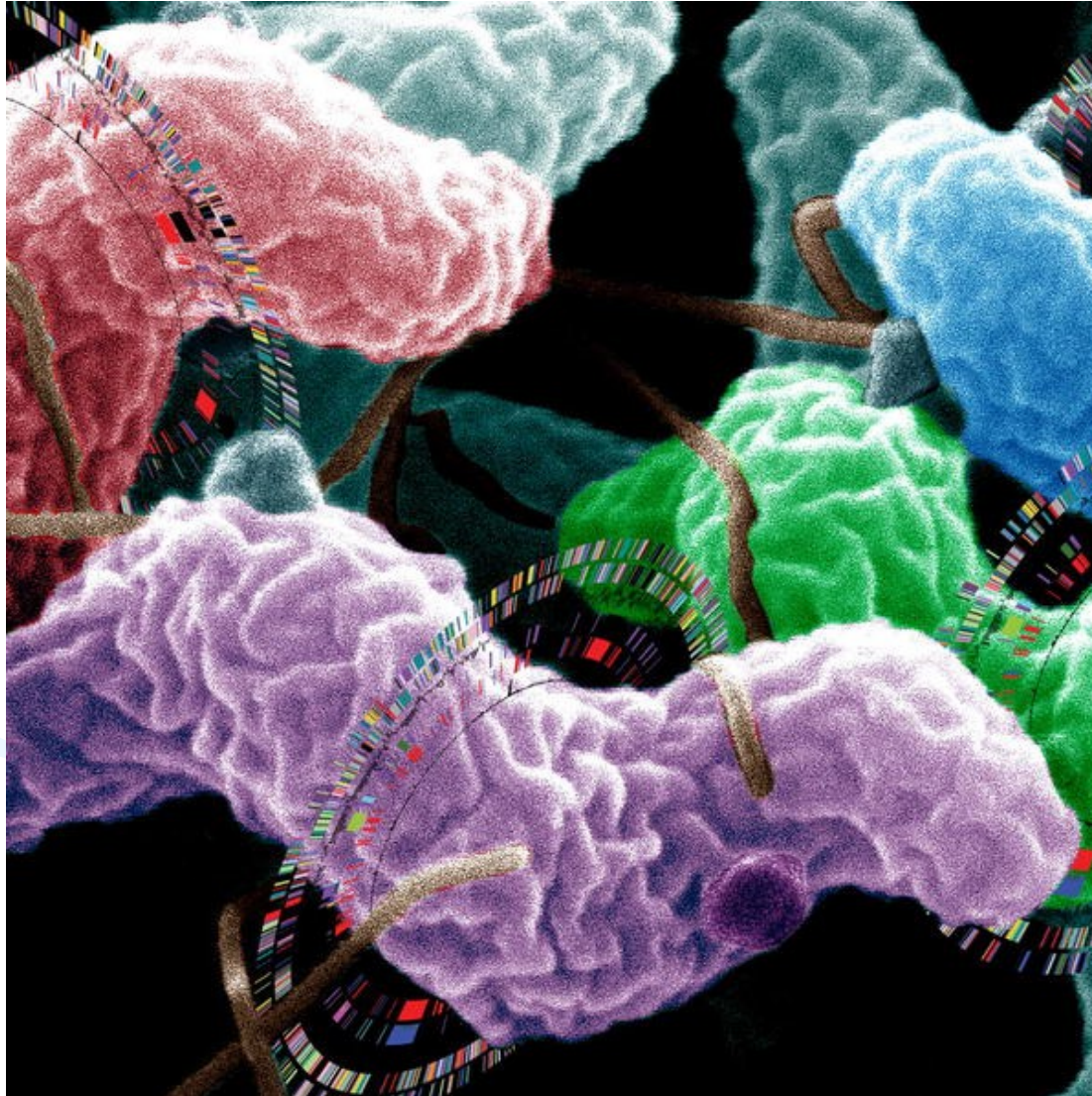
Antibiotikum	Zkratka
Piperacilin + tazobaktam (penicilin)	TZP
Gentamicin (aminoglykosid)	CN
Imipenem (karbapenem)	IMP/IMI
Ciprofloxacin (chinolon 3. generace)	CIP
Ceftazidim (cefalosporin 3. generace)	CAZ
Colistin	CT



# Šlo by to i E-testem



# 4. Kamylobakter a helikobakter



# Základní charakteristika

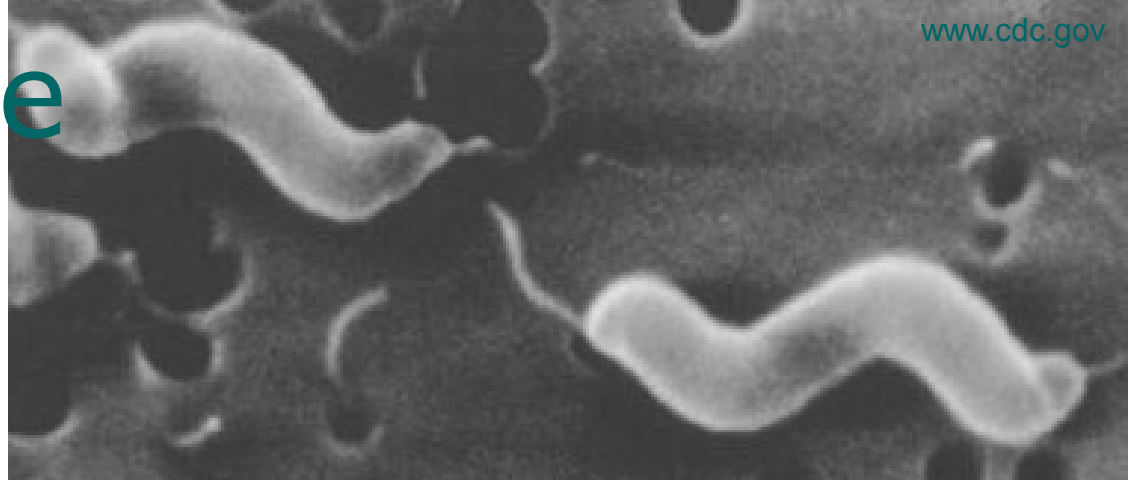
- ***Campylobacteriaceae*** jsou zahnuté, oxidáza pozitivní bakterie
- Jsou **růstově náročné**, nerostou na Endově, ale dokonce ani na krevním agaru
- Jsou **zahnuté** (*Campylobacter*) nebo dokonce **několikrát zprohýbané** (*Helicobacter*). Hrubá spirála helikobakterů se ovšem považuje za zvláštní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



# Příběh

- 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 **průjmové 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 kamylobakterióza je svým průběhem a závažností srovnatelná se salmonelózou

# 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



- **Pan Žáha** má problém: **pálí ho žáha**.
- Navíc má bolesti hrudníku a různé další potíže. 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.***

# jen spolupachatel...



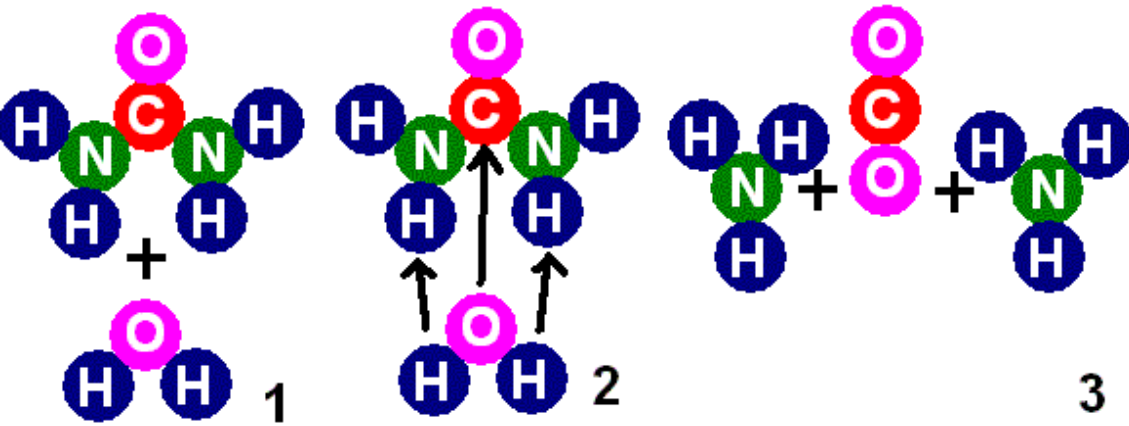
- **Peptické (tedy gastrické či duodenální) vředy** jsou onemocněním, které vzniká souhrou více příčin. Takovým onemocněním říkáme obvykle **multifaktoriální**.
- Dodnes se nejen mezi praktickými lékaři, ale i mezi odborníky liší názory na podíl bakterie ***Helicobacter pylori*** na vředové onemocnění.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

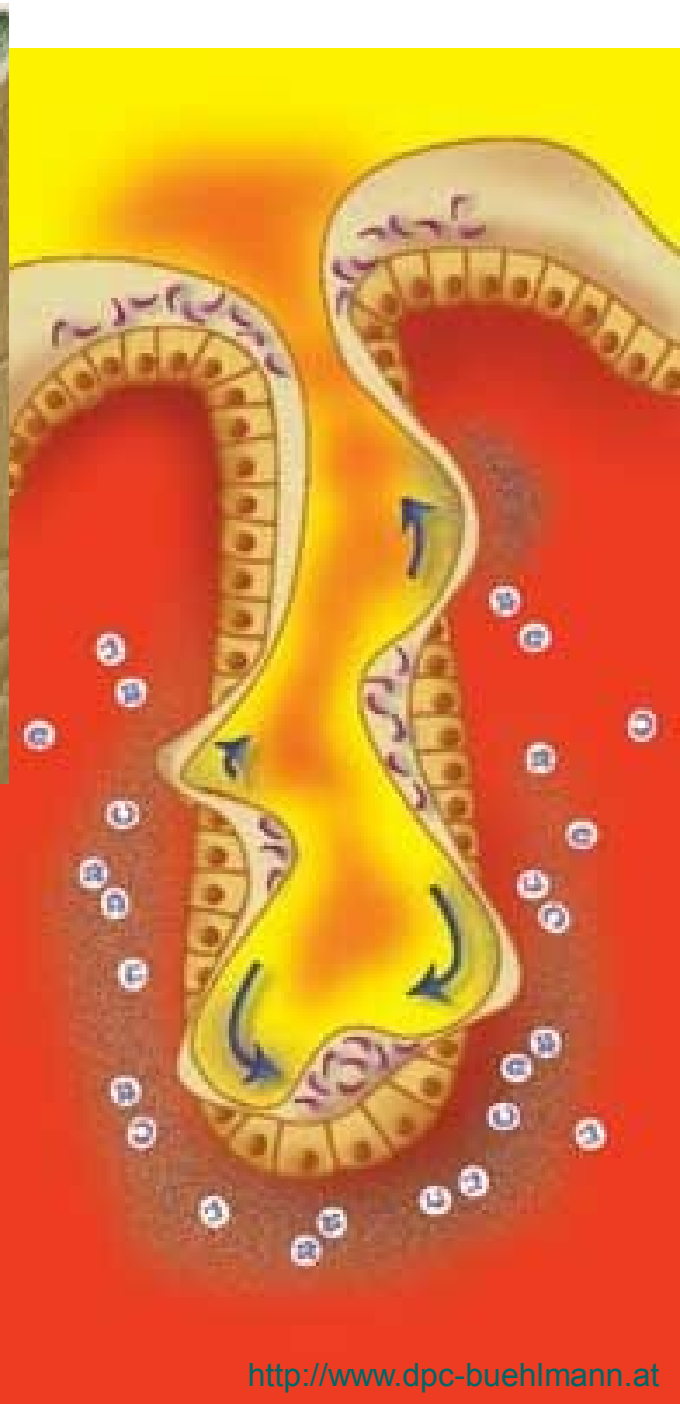
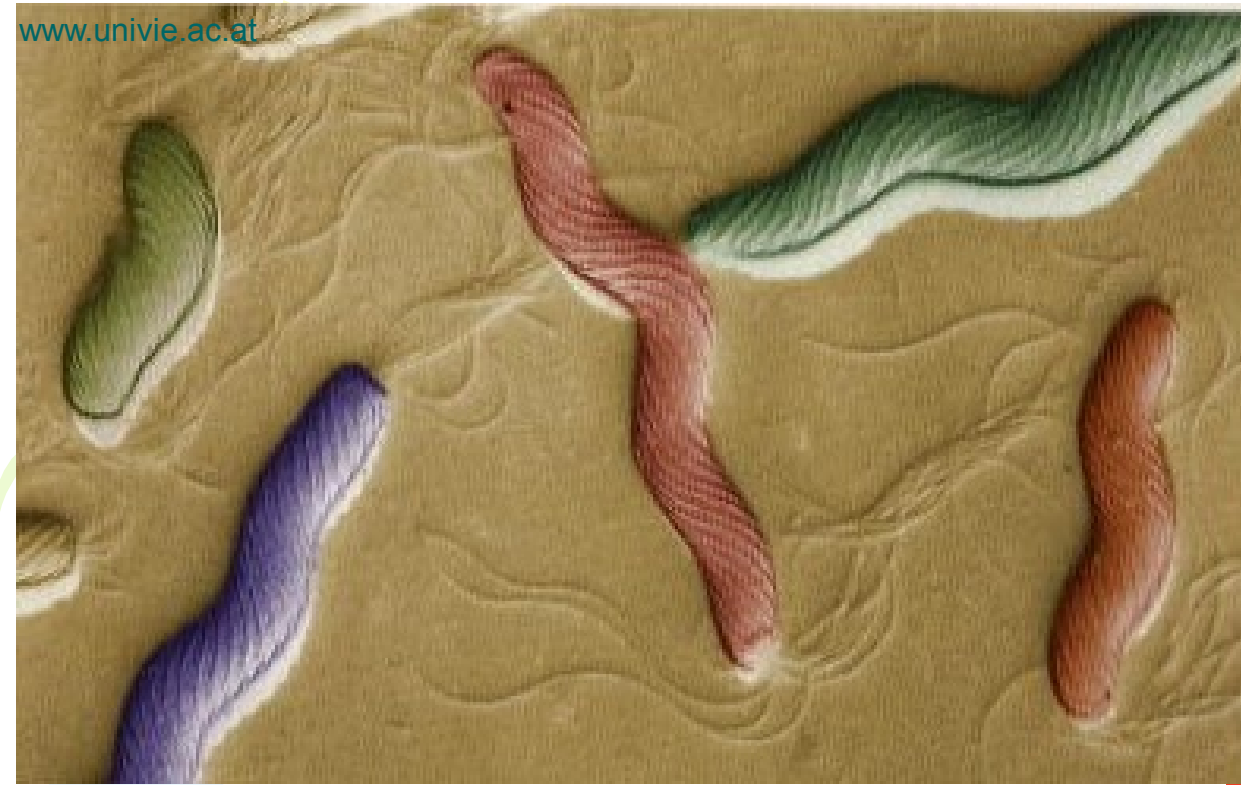
- **Upravuje si své mikroprostředí** – alkalizuje si ho, štěpě močovinu
- **Močovina** se rozštěpí na kyselý **oxid uhličitý**, který vyprchá, a zásaditý **čpavek**, který zůstane a alkalizuje prostředí
- Štěpení močoviny probíhá podle reakce:



# Ještě jednou štěpení močoviny



(zde místo čpavku NH<sub>4</sub>OH figuruje amoniak NH<sub>3</sub>, proto také do reakce vstupuje jen jedna molekula vody – NH<sub>3</sub> se ovšem jako plyn okamžitě slučuje s další molekulou vody na NH<sub>4</sub>OH)



<https://www.news-medical.net/health/Helicobacter-Pylori-Tests.aspx>



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

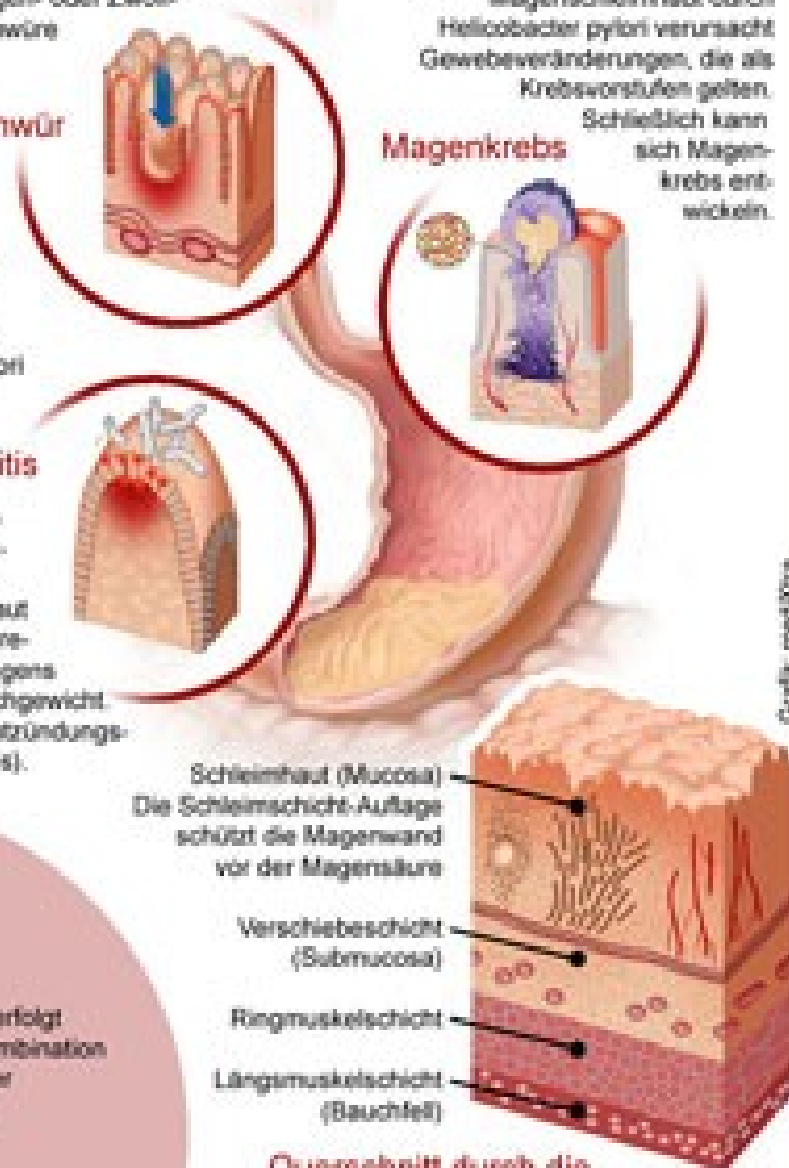
### Therapie

Die Therapie erfolgt durch eine Kombination verschiedener Medikamente.

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

### Magenkrebs

Schließlich kann sich Magenkrebs entwickeln.



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

Verschiebeschicht (Submucosa)

Ringmuskelschicht

Längmuskelschicht (Bauchfell)

Querschnitt durch die gesunde Magenwand

# Klinická charakteristika, přenos a léčba

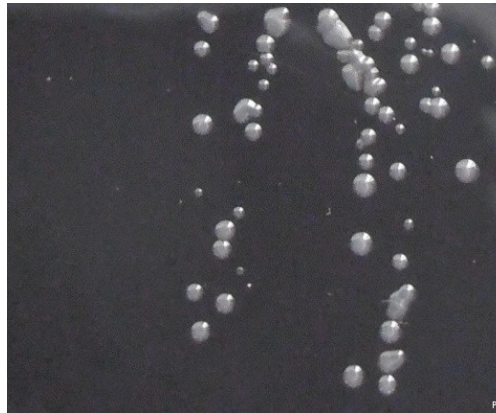
- **Peptické vředy** (mohou být žaludeční nebo duodenální) jsou onemocnění charakterizované chronickým pálením žáhy, zvracením, často s krví
- O **přenosu** se toho mnoho neví, ale zřejmě je fekálně orální
- **Léčba** je kombinovaná, viz další obrazovka

# Léčba vředového onemocnění

- Jde o komplexní záležitost
- **Doporučená je dnes trojkombinace dvou antibiotik + inhibitoru vodíkové pumpy: clarithromycin + amoxicilin + omeprazol**
- *Používalo se také solí vizmutu.*

# Několik poznámek k diagnostice kampylobakterů

- Kampylobaktery vyžadují v zásadě čtyři věci:
  - Svoji „**černou půdu**“ (Karmaliho agar) – s aktivním uhlím -Karmaliho půda
  - **Zvýšenou teplotu na cca 42 °C**. Jsou to totiž primárně ptačí patogeny
  - **Zvýšenou tenzi CO<sub>2</sub>**
  - **Prodlouženou dobu kultivace** – na 48 hodin



# Několik poznámek k diagnostice helicobakterů

- V jejich diagnostice se používají speciality:
  - Mikroskopický a kulturační průkaz
    - Kultivace na čokoládovém agaru s koňskými erytrocyty, za mikroaerofilních podmínek
  - **Průkaz ureázové aktivity přímo ve vzorku tkáně.**
  - průkaz antigenu ve vzorku
  - průkaz protilátek
  - zvláštností je tzv. **urea breath test**

# Jeden méně známý helikobakter

*Helicobacter cinaedi*



AstraZeneca  Hut-Test®

Patient: *EISHANN*

Datum/Date: 2005-09-09

Corpus  Antrum

Befund/Result:

neg:	pos:
	

Ch.-B./Lot: FJ2809A1

verw. bis/Exp.: 09-2005



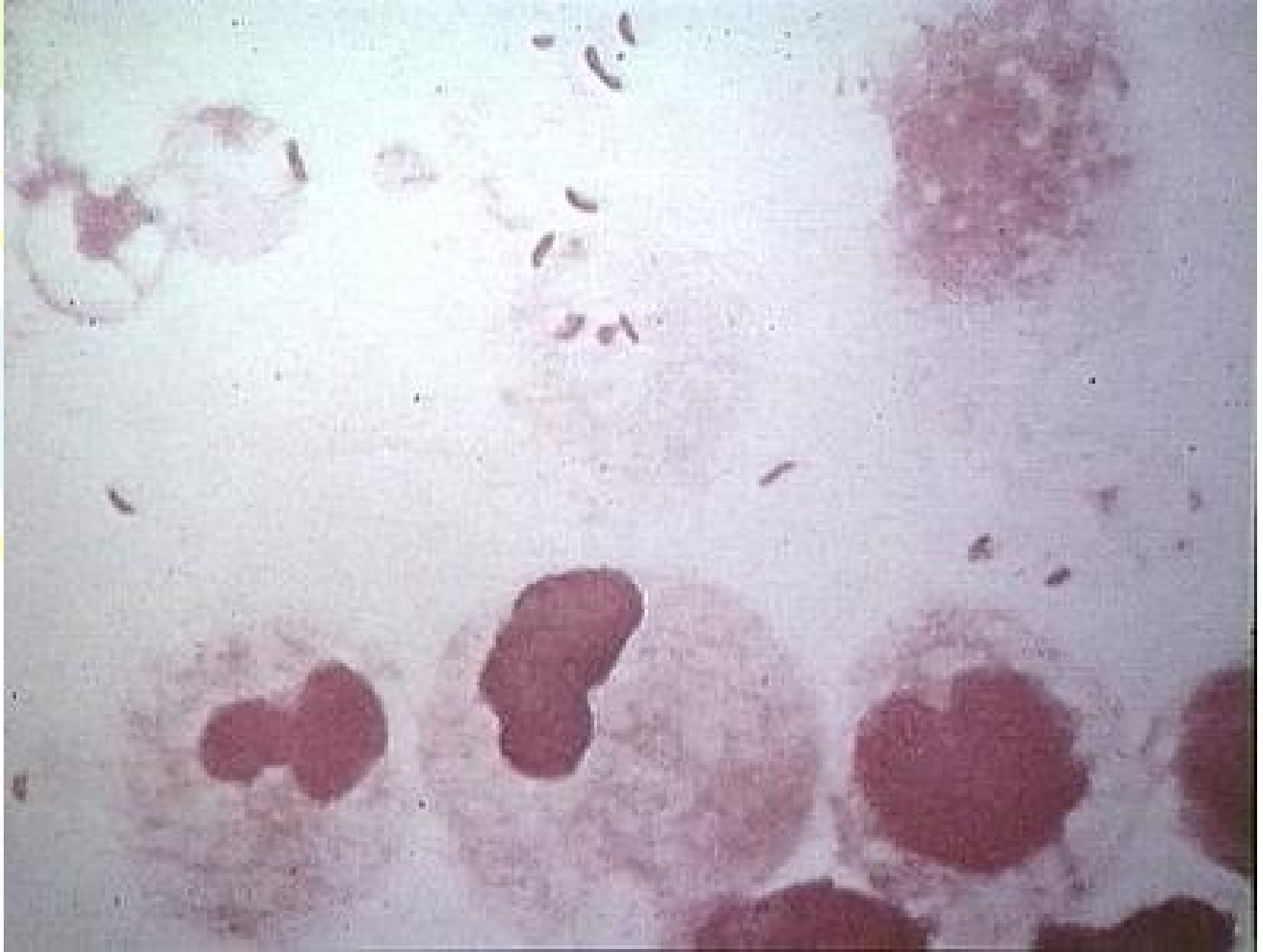
Rychlý ureázový  
test

# Urea breath test

- Pacientovi se podá **značená močovina** ( $^{13}\text{C}$ , dnes už výjimečně  $^{14}\text{C}$ )
- U **zdravého** močovina projde do dolní části trávicího traktu a **vyloučí se stolicí**
- Je-li přítomen **helikobakter**, rozštěpí se už v žaludku a **značený  $\text{CO}_2$  se objeví ve vydechovaném vzduchu**. Čím více značeného  $\text{CO}_2$ , tím více helikobaktera. Prokazuje se hmotovou spektrometrií (u  $^{14}\text{C}$  scintigrafií).



# 5. Čeľad' *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 příklopy 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**

**MO-NCAC**

# *Haemophilus influenzae* II

- **Způsobuje**

- **meningitidy**, hlavně v batolecím věku (děti, které z rodiny přišly do jeslí nebo školky)
- **epiglottitidy** (izolované záněty příklopky hrtanové)
- **sinusitidy** (záněty paranasálních – přínosných dutin)
- **záněty středního ucha** (otitis media)
- případně i **jiné dýchací infekce**, 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**
- Dost možná se tam ale dostal až po smrti z faryngu (ale možná ne vždycky)
- 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*
  - **identifikace**
    - Test potřeby růstových faktorů – viz dále
    - Antigenní analýza – latexová aglutinace (Hib)

*Nepřímé metody se téměř nepoužívají*

# Ještě k hemofilům



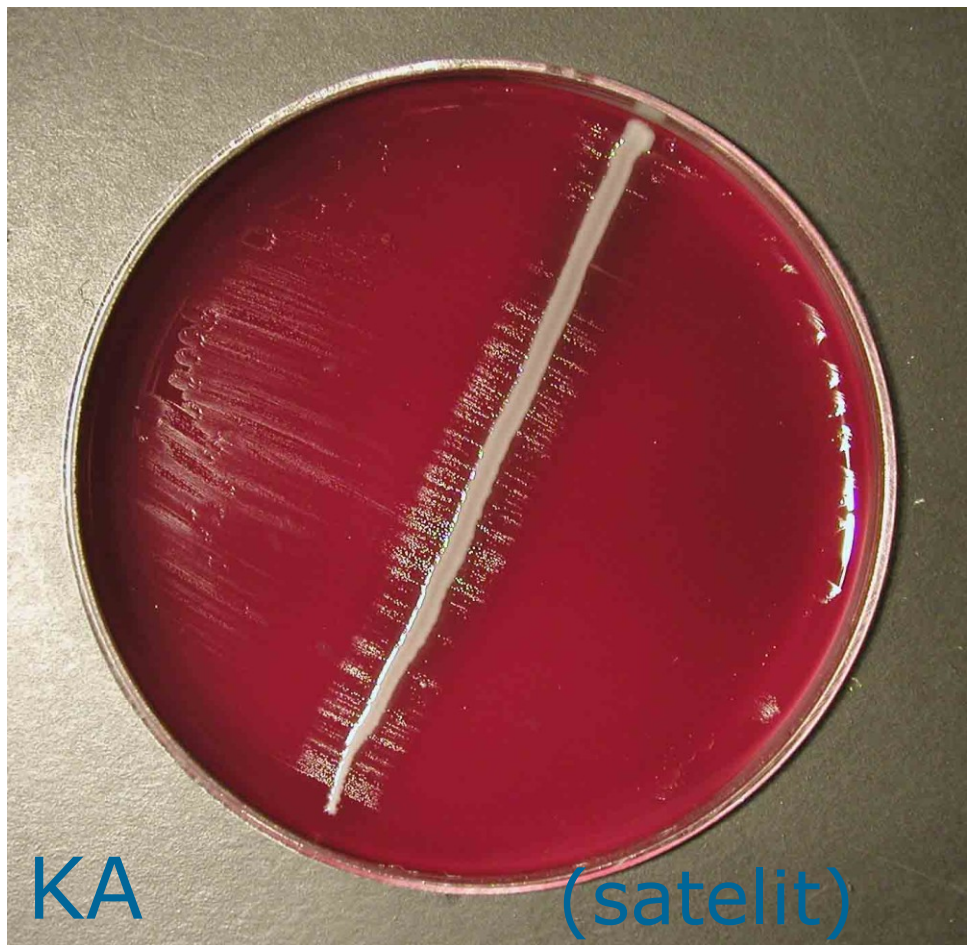
<http://www.uni-ulm.de>

- 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. Hemofily rostou v pásu kolem čáry stafylokoka, jinde ne.
- Mají droboučké kolonie, které by bylo obtížné postřehnout mezi jinými bakteriemi. Proto se u výtěrů z krku kromě stafylokokové čáry používá také **disk k odclonění ostatních bakterií** (bacitracin, ale ve vyšší koncentraci než v bacitracinovém testu)

# Hemofily



ČA



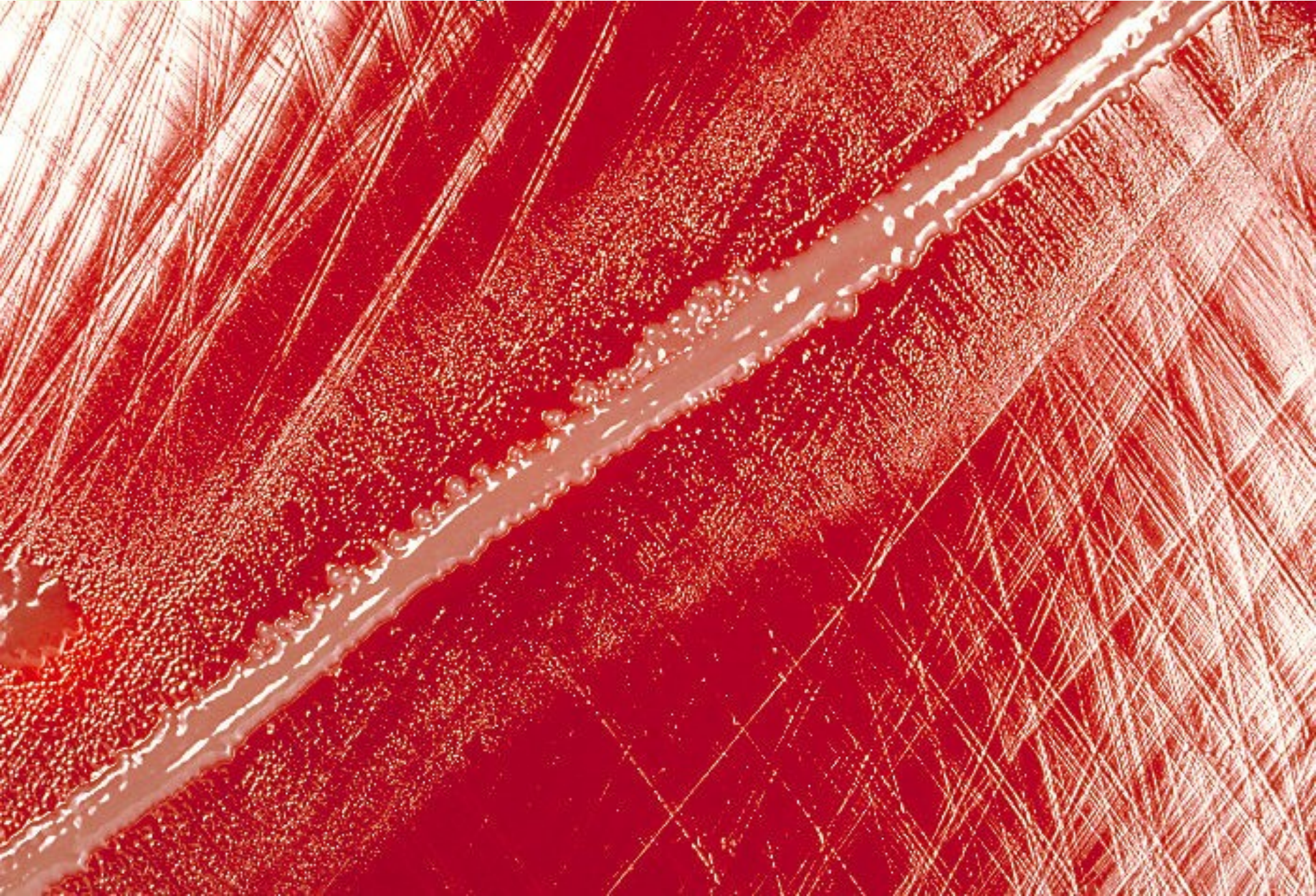
KA

(satelit)



# Ještě jednou satelit

<http://phil.cdc.gov>



# Kultivační výsledek výtěru z krku s běžnou flórou a hemofily

www.medmicro.info



V těchto místech pátráme po hemofilech



Technická poznámka: Disk se klade buďto na čáru, nebo cca 2 cm od ní. Obojí je možné

# 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**.
- Na poměrně chudou agarovou půdu klademe disky napuštěné těmito faktory. Hemofily jsou naočkovány po celé ploše misky, avšak rostou pouze kolem disku s potřebným faktorem

***Názvy faktorů se vyslovují „iks“ a „vé“, nikoli „deset“ a „pět“***

# Test růstových faktorů hemofilů

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

***H. Influenzae*** roste pouze kolem disku se směsí obou faktorů.

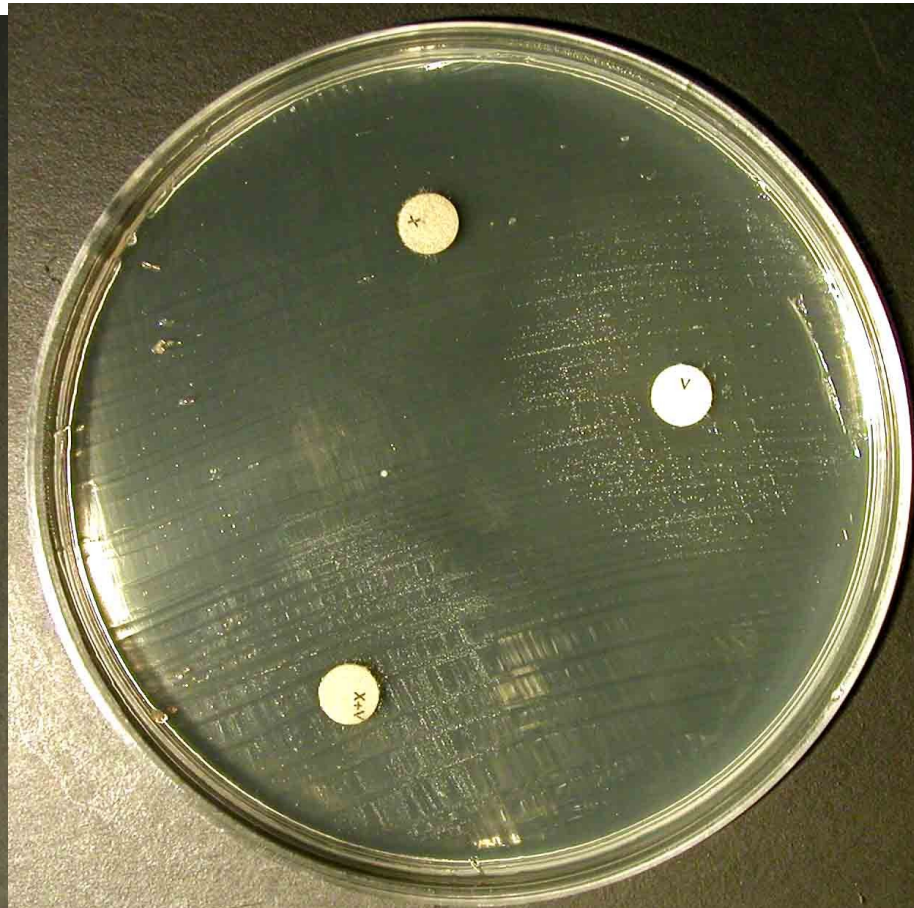
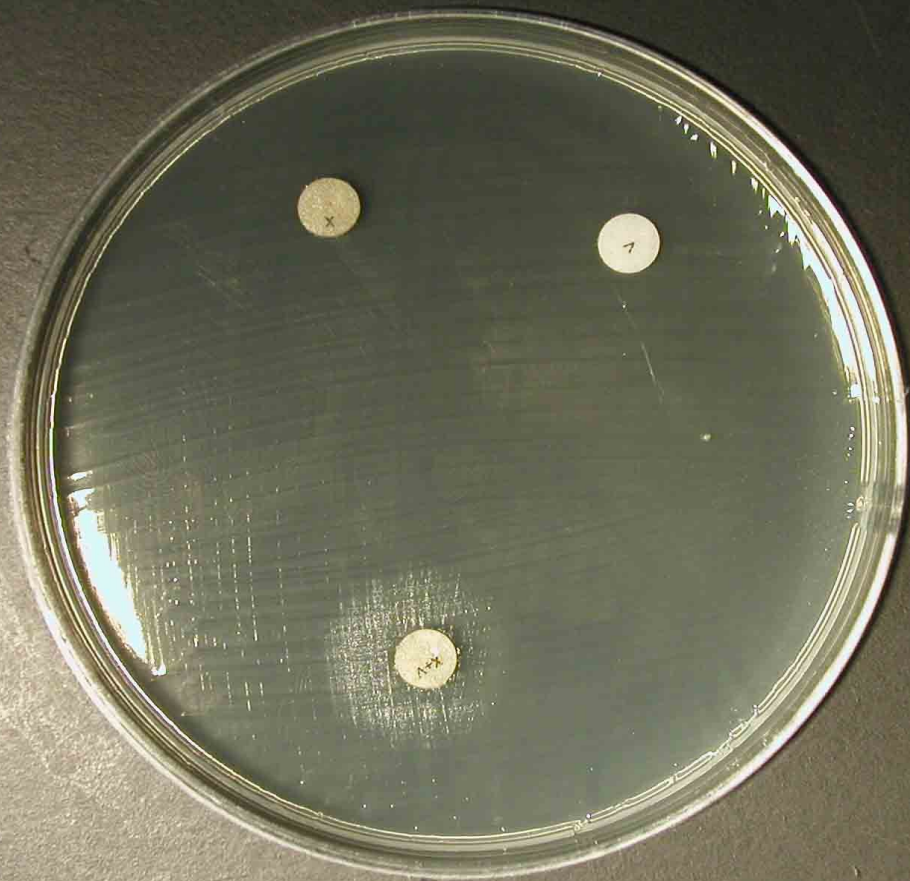
***H. parainfluenzae*** roste kolem disku se směsí a kolem disku s faktorem V.

***H. aphrophilus*** roste kolem disku se směsí a kolem disku s faktorem X. 120



*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	
Ampicilin (aminopenicilin)	AMP	
Ko-amoxicilin (amoxicilin+inhibitor)	AMC	
Chloramfenikol	C	
Tetracyklin (tetracyklin)	DO	
Ko-trimoxazol (směs)	SXT	
Azithromycin (makrolid)	AZM	

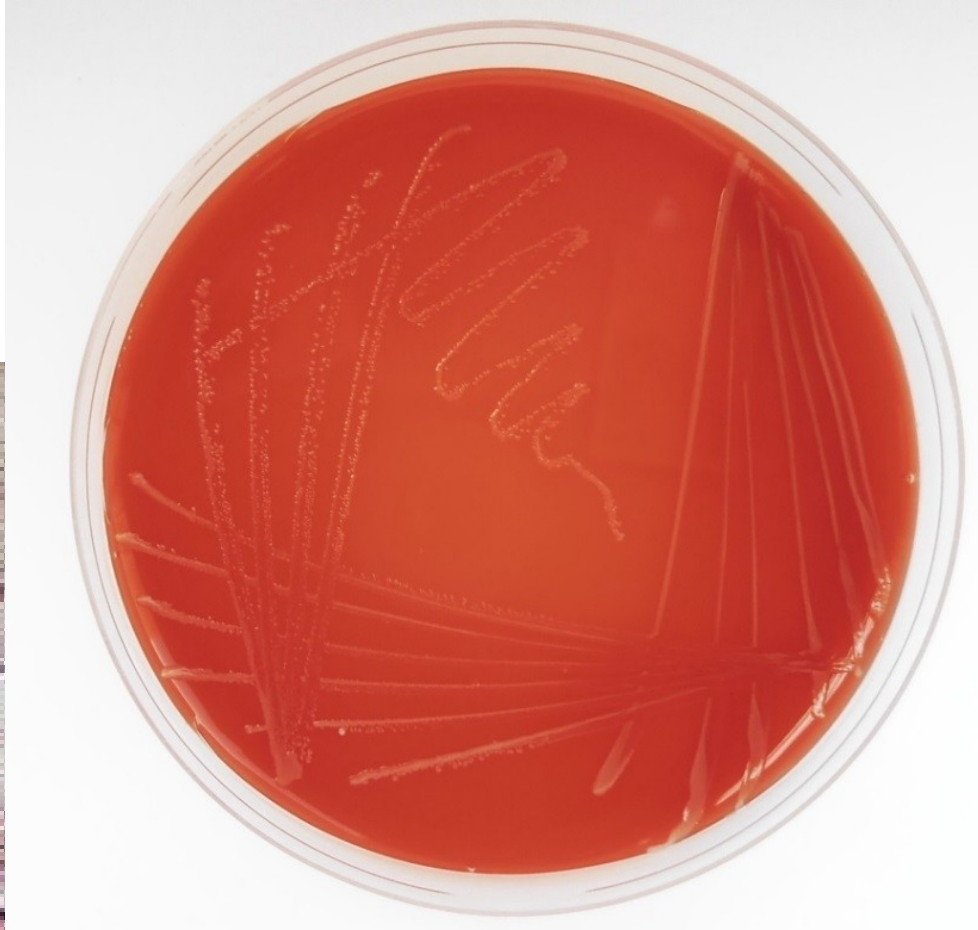
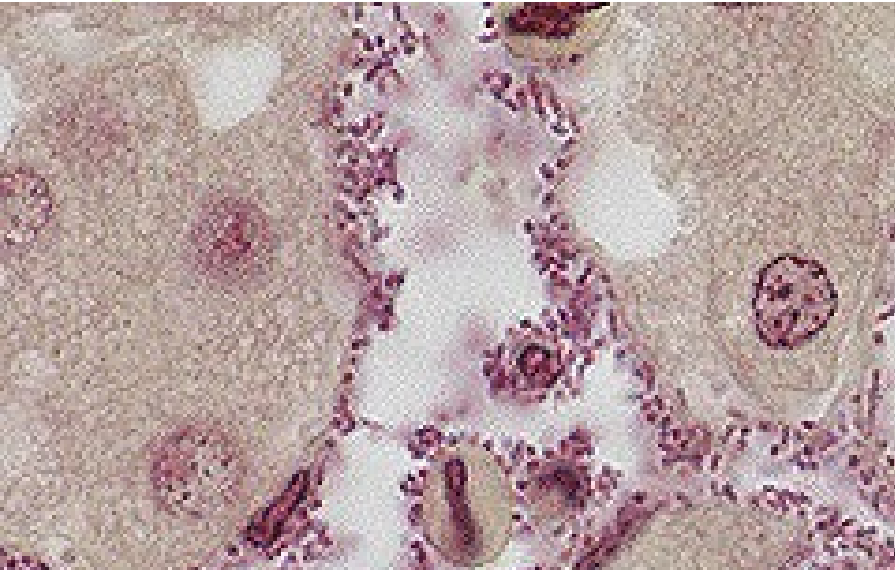


# *Pasteurella multocida*

- ***Pasteurella multocida*** je běžnou flórou v psích a kočičích 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>



PŠ

# 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
- Identifikace - MALDI



# 6. Legionella, Brucella, Bordetella, Francisella



# 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 potrubí** 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**. Po inkubační době 2–10 dní se rozvíjí zápal plic. Nemocný má zvýšenou teplotu, bolesti hlavy, suchý kašel, bolest na hrudi. Komplikací může být postižení trávicího systému, jater či CNS.
- Existuje ještě mírnější, chřipce podobná 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)



# Proč vlastně legionářská nemoc?

- V roce 1976 se ve Filadelfii (USA) konala **konference válečných veteránů – legionářů**. Po nějaké době konání sjezdu značná část účastníků onemocněla **těžkým zápallem plic, kterému někteří dokonce podlehli**. Začala se hledat příčina. V klimatizačním zařízení hotelu, kde byli legionáři ubytováni, byla nakonec objevena do té doby ještě nepopsaná bakterie, která byla nazvána *Legionella pneumophila*.

# Legionella a teplota

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

212 F

100 C

STEAM HUMIDIFICATION

90 C

80 C

HOT WATER RADIATORS

**FAST DEATH RANGE**

70 C

60 C

HOT WATER

**SLOW DEATH RANGE**

50 C

140 F

122 F

40 C

SPAS

COOLING TOWERS

SHOWERS

**OPTIMUM GROWTH RANGE**

115 F

95 F

30 C

**LEGIONELLA ACTIVE**

20 C

SPRAY HUMIDIFIERS

EVAPORATIVE COOLERS

68 F

10 C

COOLING COILS

**LEGIONELLA DORMANT**

0 C

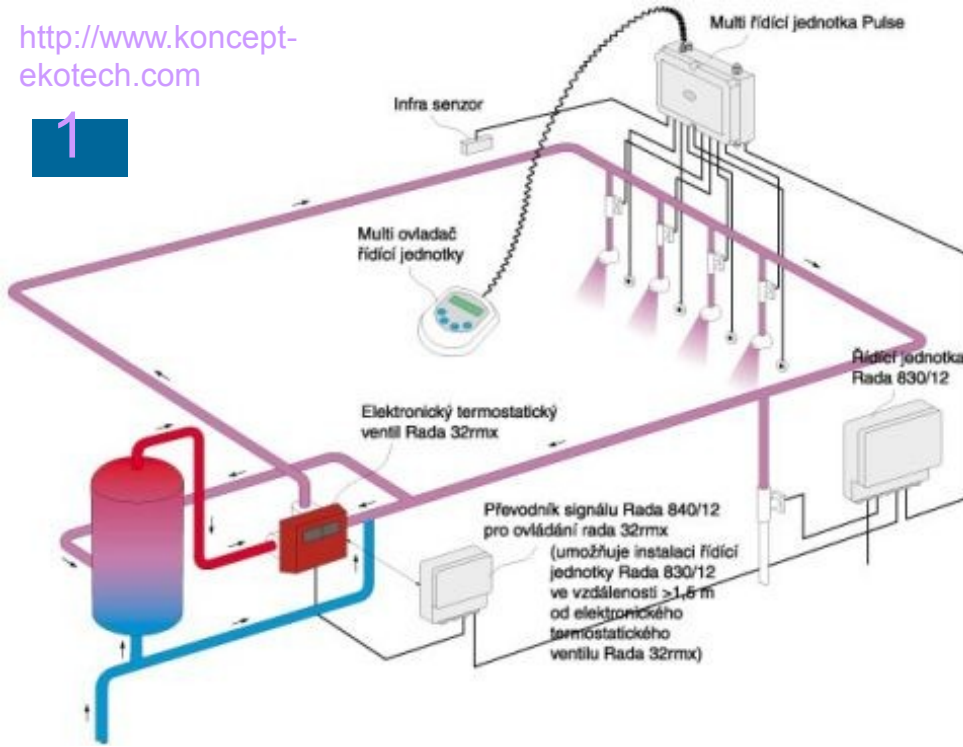
TAP WATER

32 F

# Některé způsoby desinfekce vody

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

1



2



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

3



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

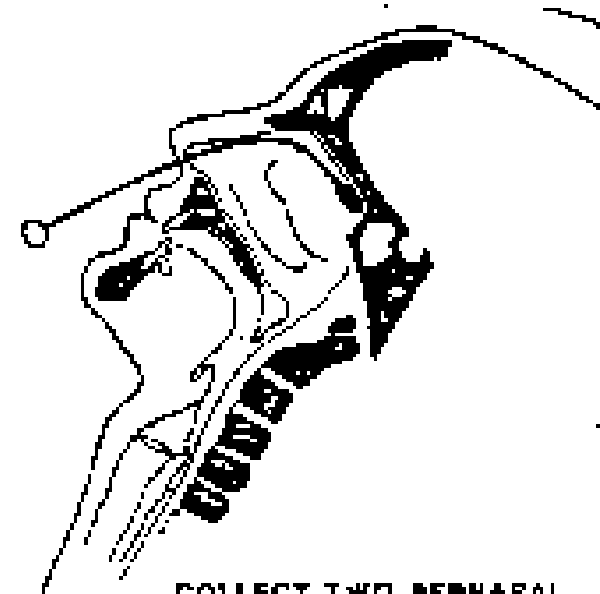
4





# Rod *Bordetella*

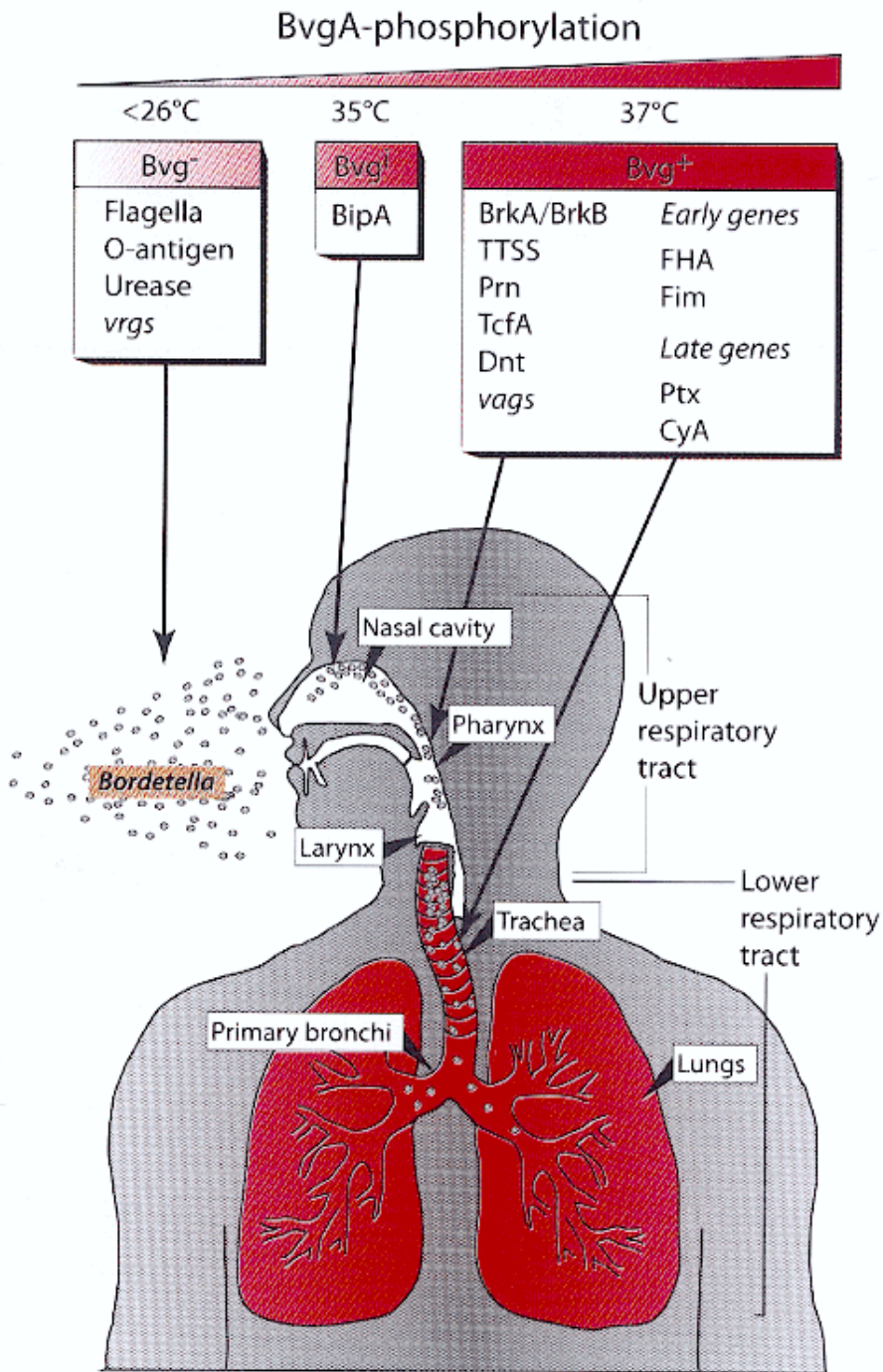
- ***B. pertussis* a *B. parapertussis*** způsobují černý kašel. Začíná jako běžné nachlazení, ale pak přicházejí mučivé záchvaty kašle s vykašláváním hlenů. U parapertuse jsou příznaky podobné, spíše doba trvání je kratší
- ***B. bronchiseptica*** způsobuje totéž, navíc někdy i sepse
- Černý kašel je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



COLLECT TWO PERNASAL  
NASOPHARYNGEAL SWABS


# Bordetella a teplota

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



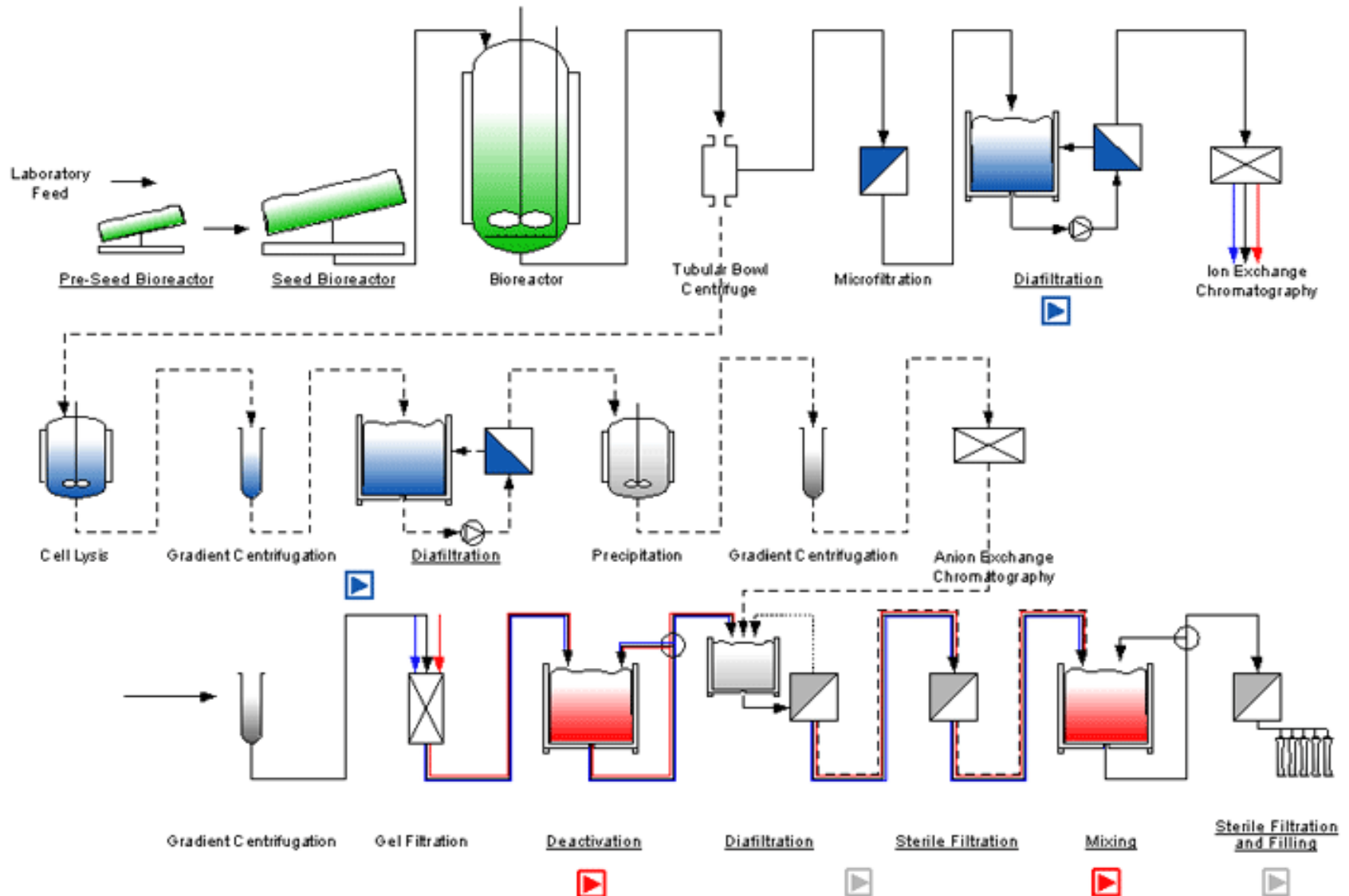


*Bordetella*  
byla  
izolována  
1906 a  
podíleli se  
na tom  
Jules  
Bordet a  
Octave  
Gengou



# Jak se dělá pertusová vakcína

www.stedim.com



# *Bordetella bronchiseptica:* infekce kočky

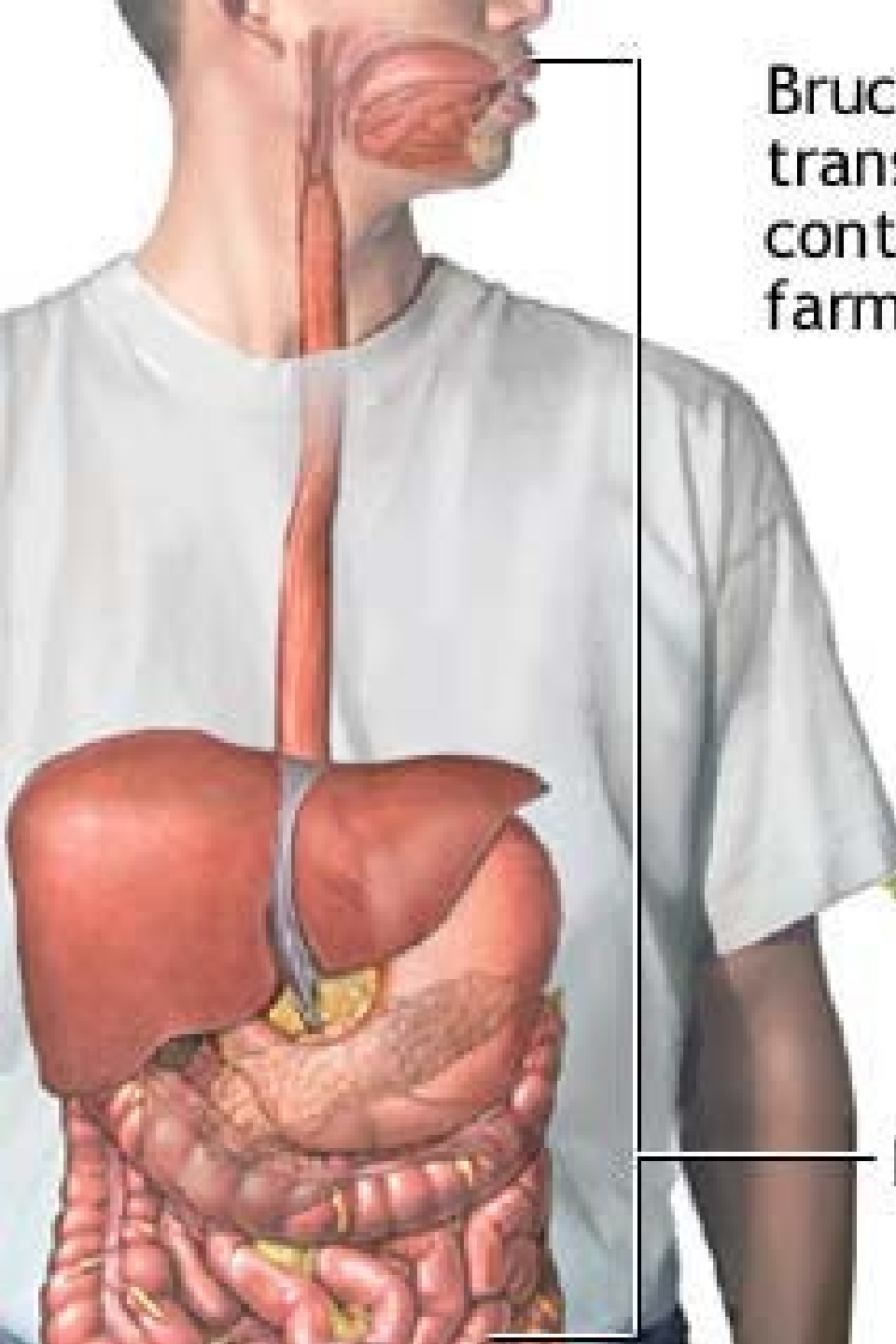


# Rod *Brucella*



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

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



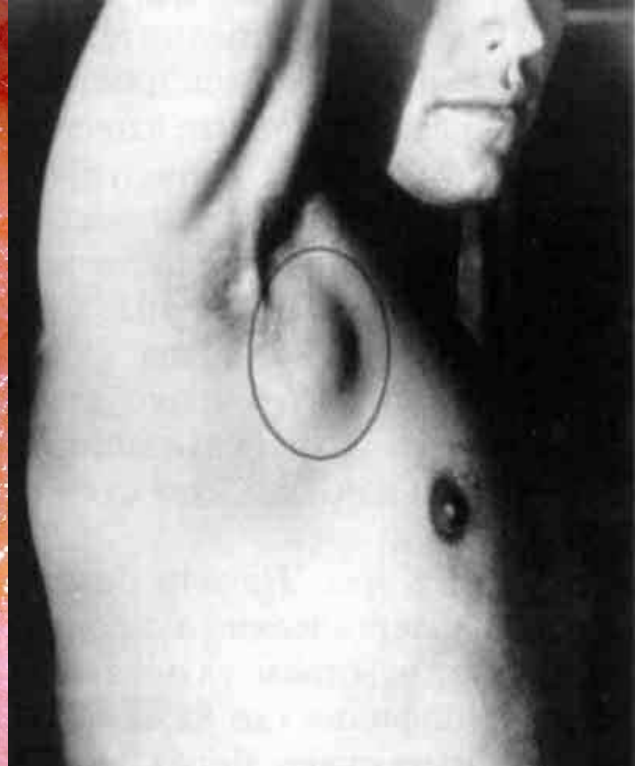
Digestive system



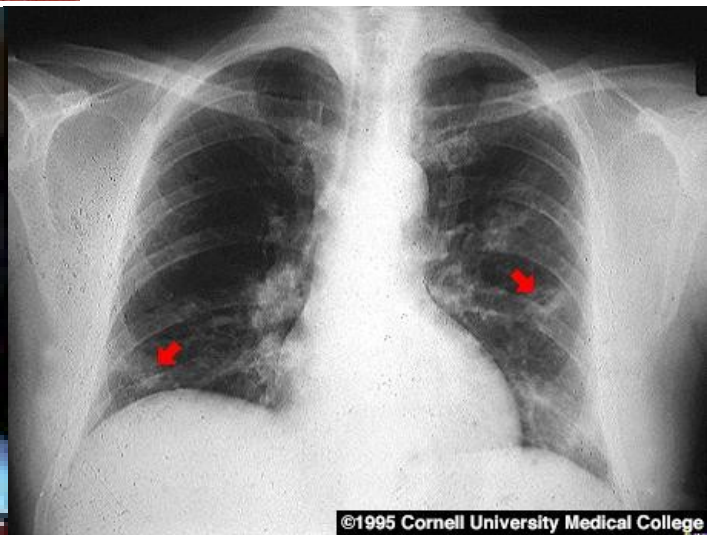
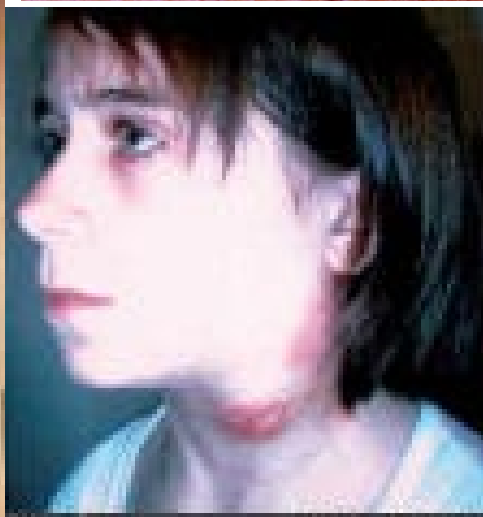
# Rod *Francisella*

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



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

# Legionella

<http://www.elderslp.com>

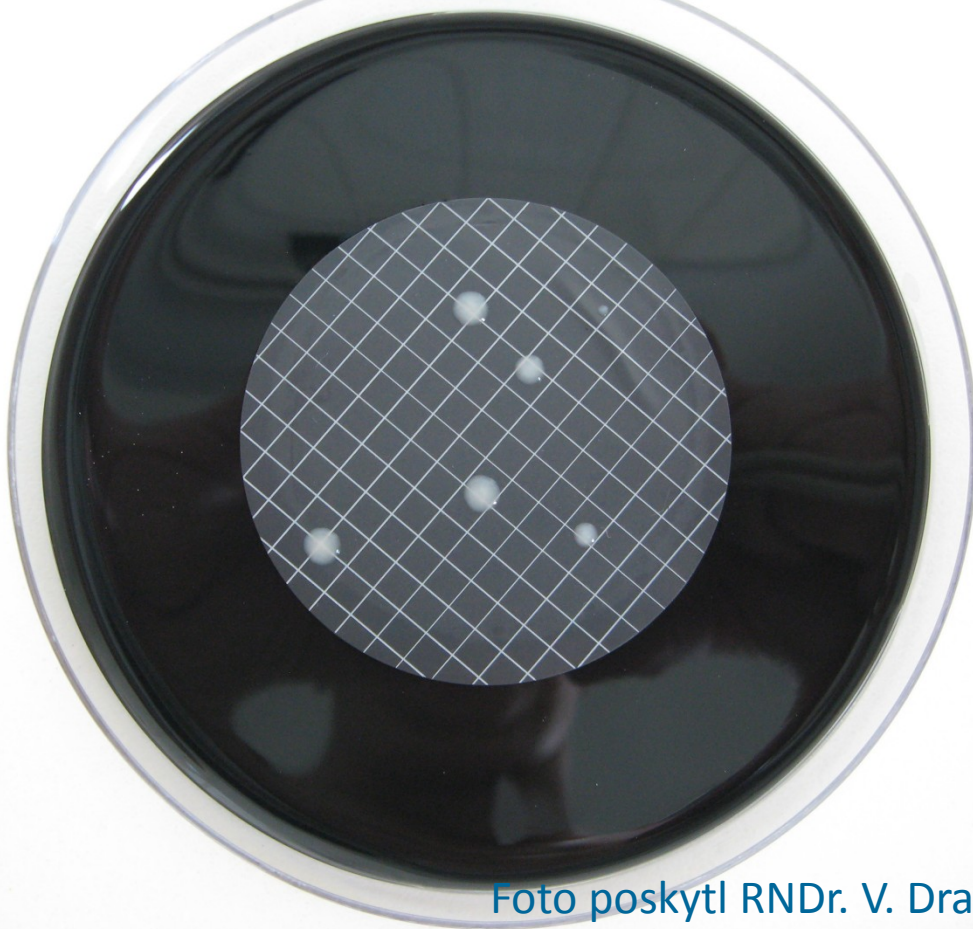
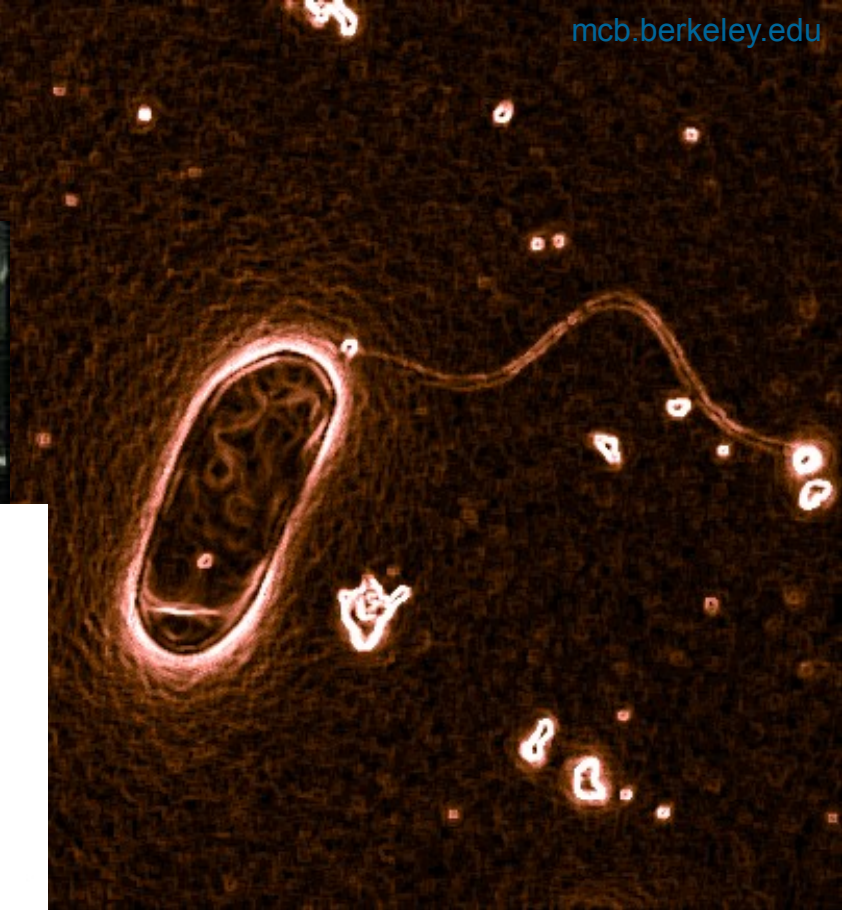
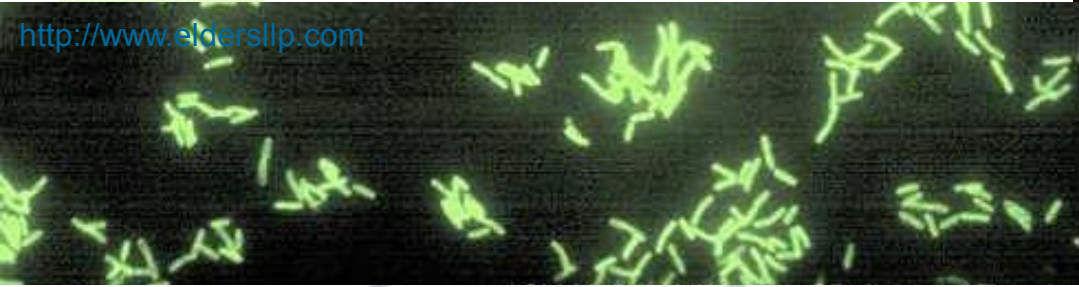
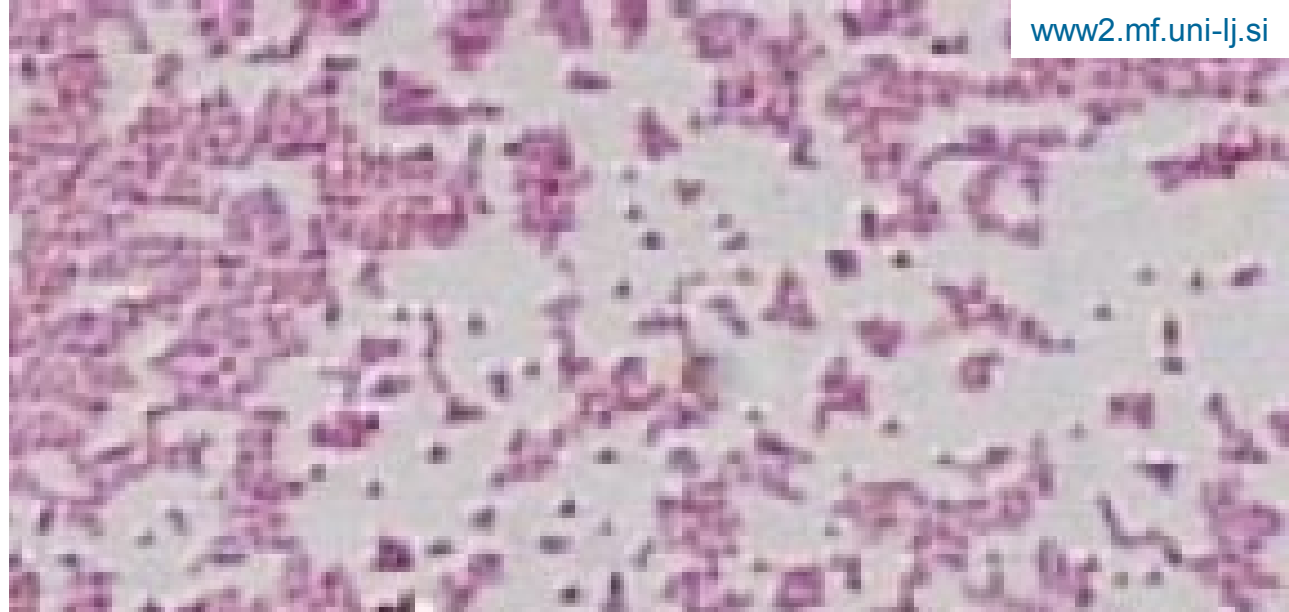


Foto poskytl RNDr. V. Drašar



[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

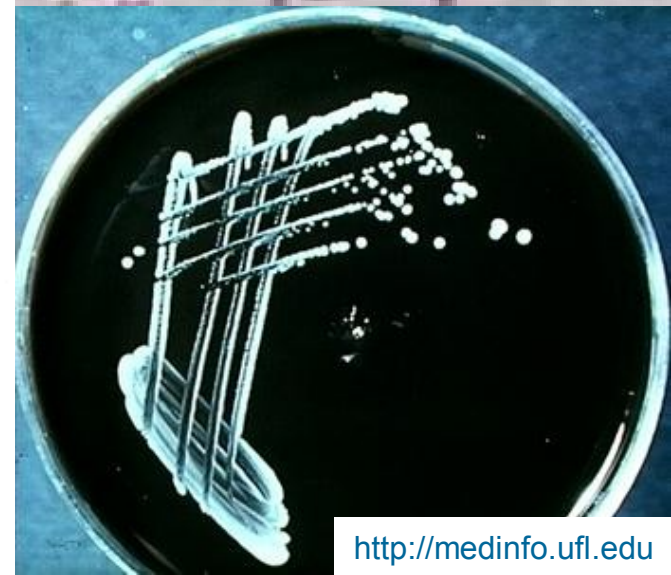
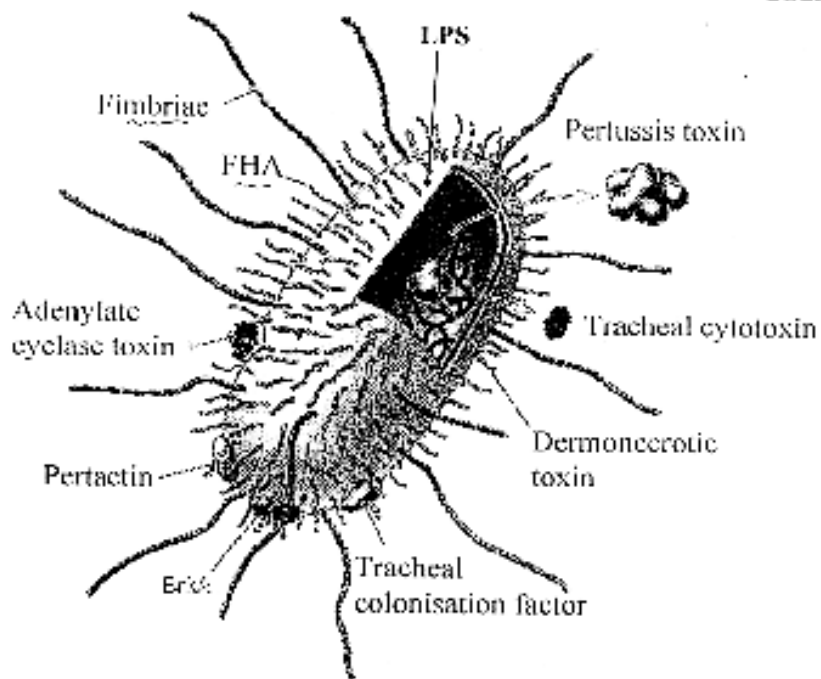
Fimbriae

Toxins: **Pertussis toxin**

ACT

TCF

LPS



# Brucella



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

Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.



<http://upload.wikimedia.org>

# Další G- bakterie“ – charakteristika

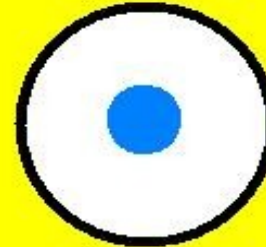
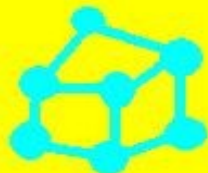
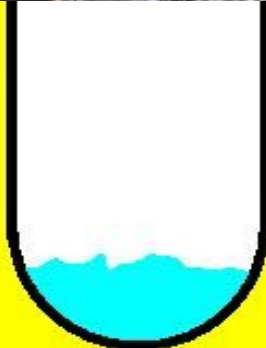
- **Mikroskopie:** G – tyčky, často krátké
- **Kultivace:** zpravidla speciální půdy (BG pro bordetely, BCYE pro legionely atd.)
- **Biochemická identifikace:** v diagnostice se může uplatnit např. při rozlišení druhů
- **MALDI**
- **Antigenní analýza:** někdy užitečná
- Průkaz legionelového antigenu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

# Odečet aglutinačního testu u francisel

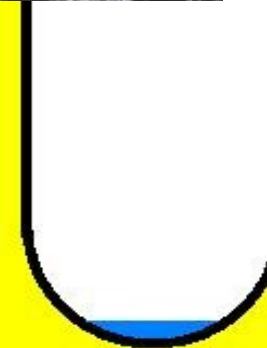
- Používá se **nepřímý průkaz aglutinací**
- **Počítá se titer** – tedy nejvyšší ředění, kdy ještě nalézáme pozitivní reakci



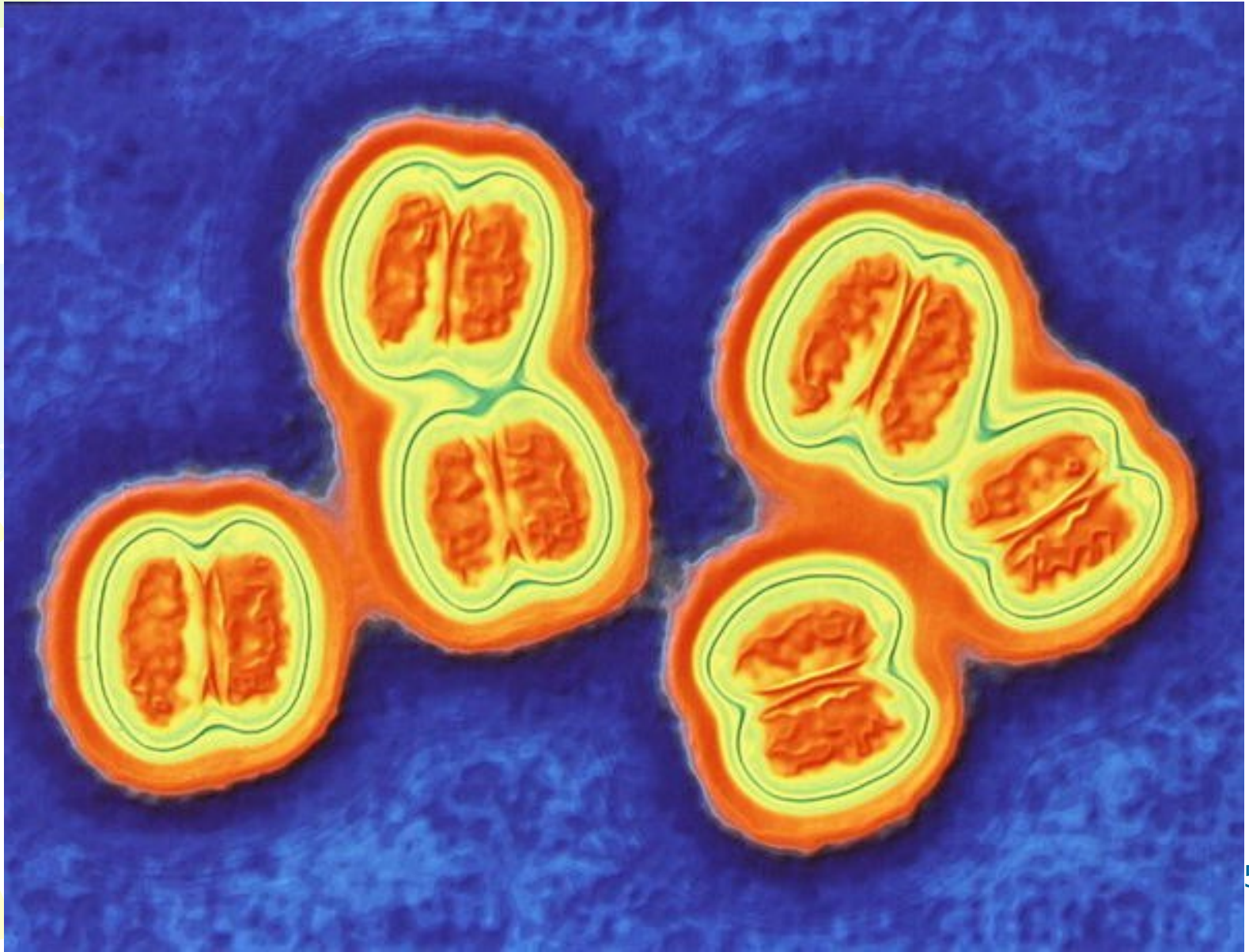
+



-



# 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)

# *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 zánět pochvy** (kolpitidu) a proto pochva není místem, odkud by bylo doporučeno odebírat u podezření na kapavku **výtěry**



# Kapavka – klinická charakteristika

- Jde o jednu z **klasických pohlavních nemocí** (pohlavní přenos je prakticky jediný možný)
- Projevuje se **odkapáváním hnisu z urethry** a případně cervixu
- Léčba **antibiotiky** (penicilin, doxycyklin, cefalosporiny, makrolidy)
- V případě výskytu kapavky se provádí tzv. **depistáž** a vyšetřují se všechny **sexuální kontakty**

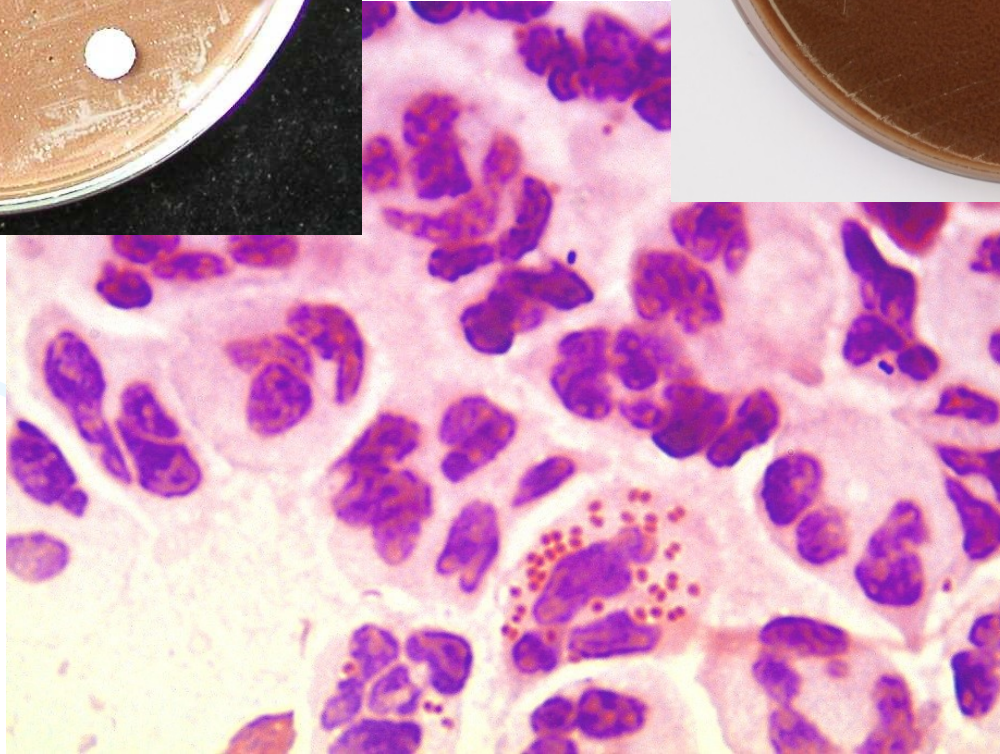
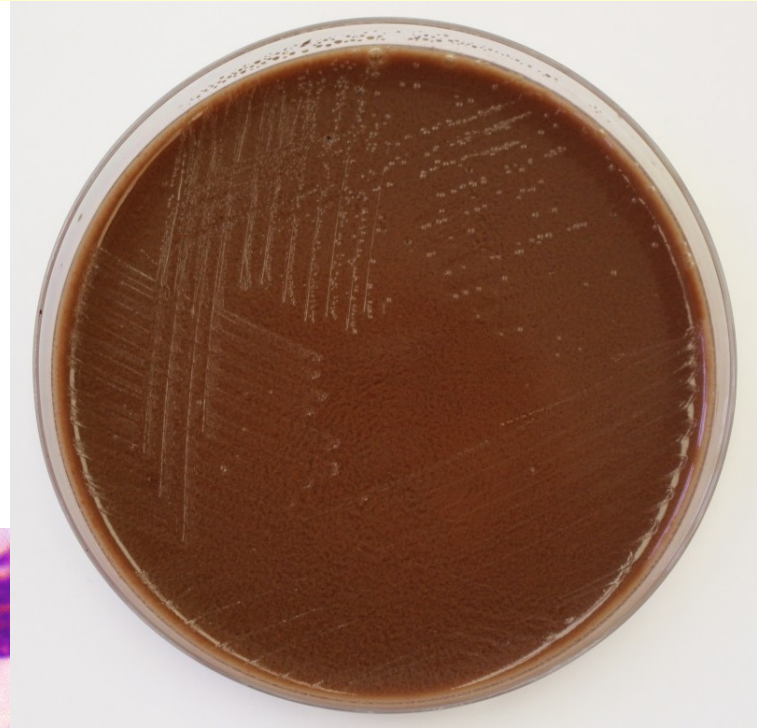
# Kapavka – odběr a diagnostika

- Podle anamnézy, pohlaví a dalších okolností se provedou odběry ze dvou až čtyř míst.  
**V maximální variantě** se provede
  - z urethry výtěr (Amies) + nátěr na sklo
  - z cervixu výtěr (Amies) + nátěr na sklo
  - z rekta pouze výtěr (Amies)
  - z faryngu rovněž pouze výtěr (Amies)
- V laboratoři se **skla barví Gramem** (hledají se G– diplokoky uvnitř leukocytů) a **kultivace** se dávají na předem ohřátý čokoládový agar, GC agar (= čokoládový agar s antibiotiky) a pro kontrolu i na krevní agar

# Obrázky neisserií

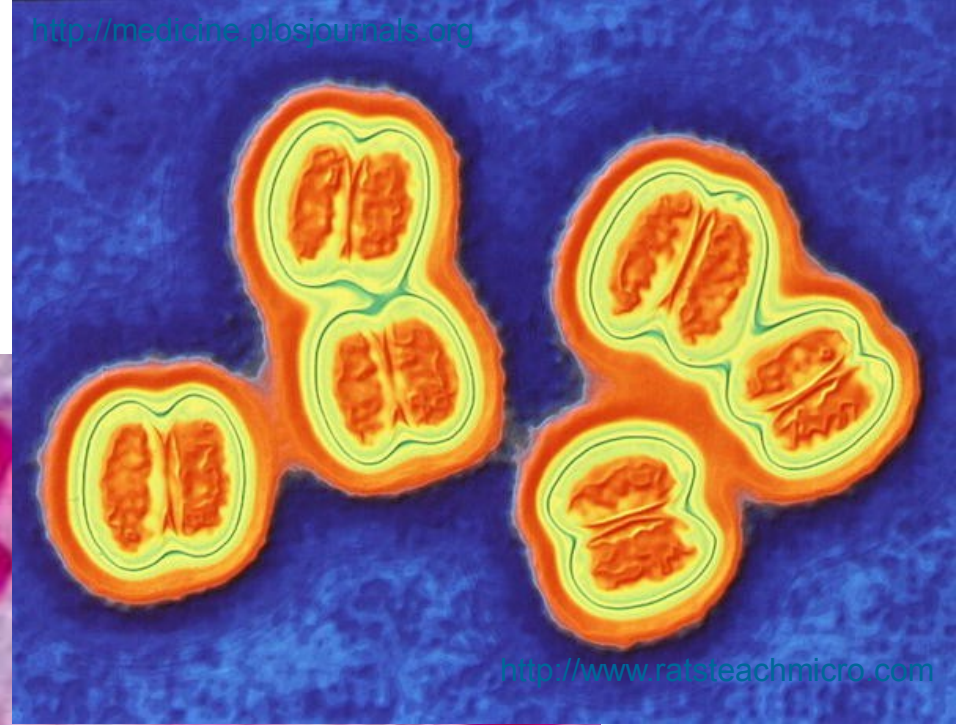


[www.medmicro.info](http://www.medmicro.info)





# Gonokoky



# Mikroskopie kapavky

Všimněte si

**gramnegativních  
diplokoků tvaru**

**kávového zrna,**

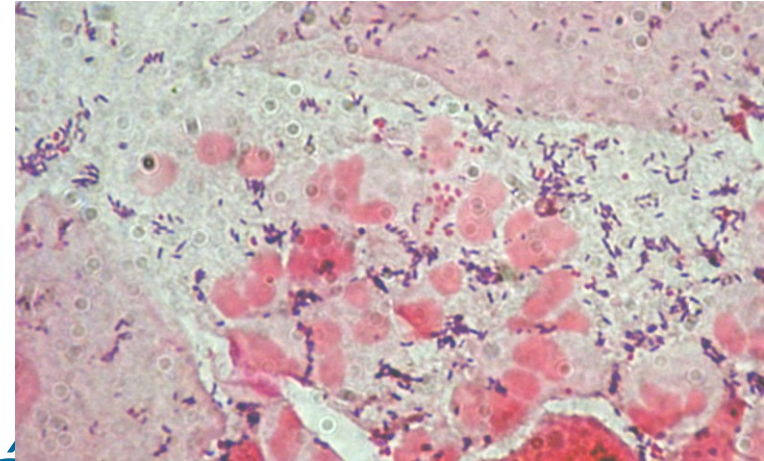
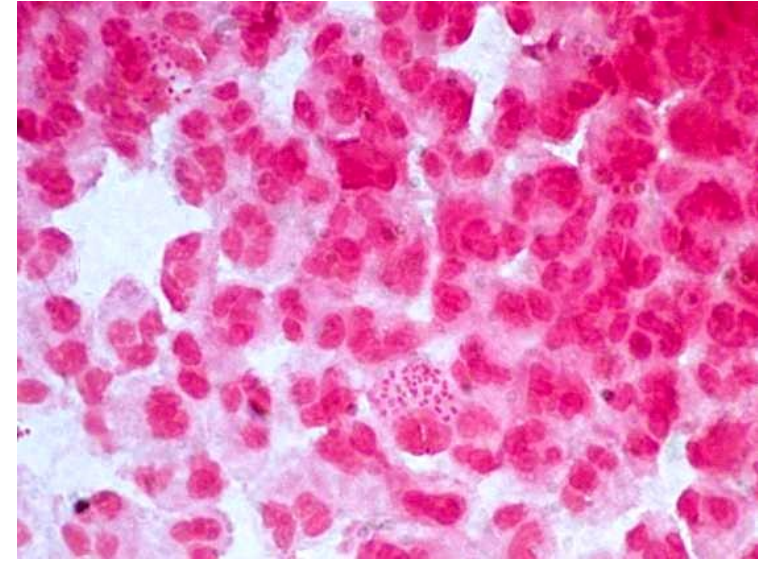
zejména

intracelulárních.

Intracelulární uložení je

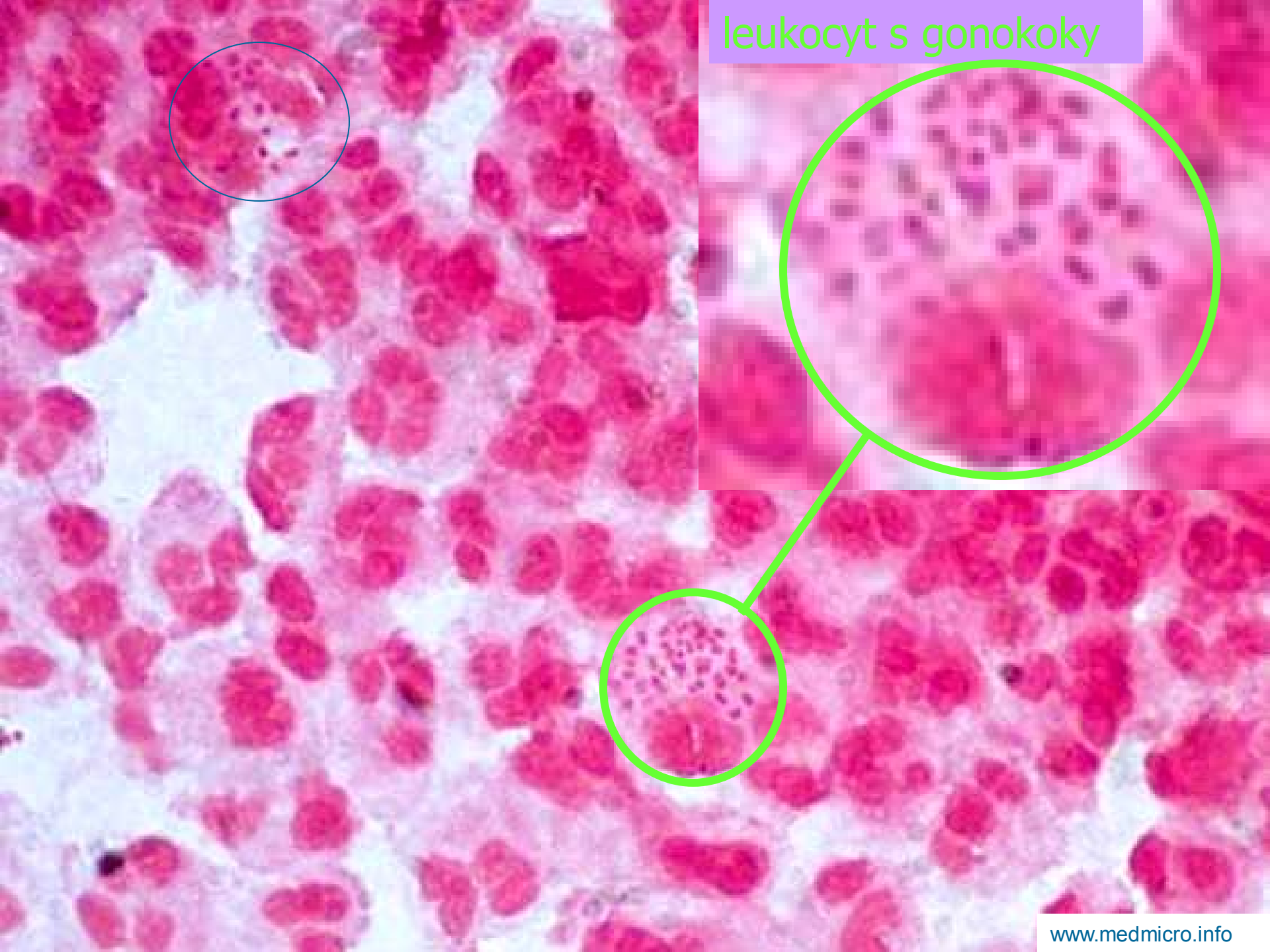
jejich typickou

vlastností.



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

leukocyt s gonokoky



# Příběh

- 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**.

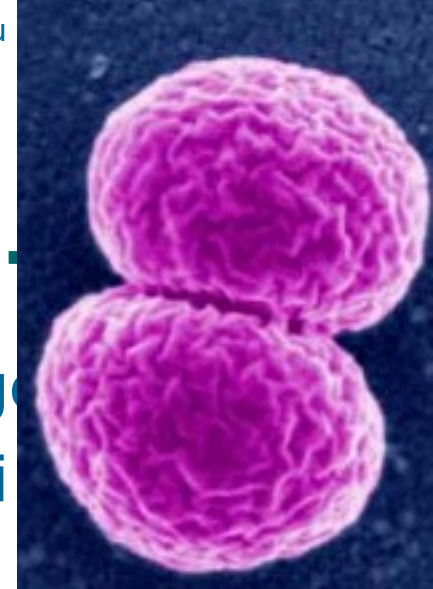
# (pokračování)



- 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 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



# Meningokokové infekce

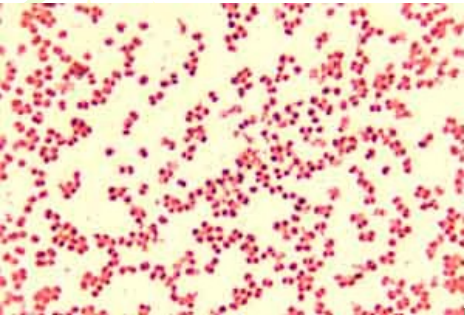
- Meningokok se může podílet na běžných **neinvazivních infekcích** v krku, i když častěji je tam nalézán jen jako náhodná, v podstatě běžná flóra
- Klonální kmeny meningokoka ale mohou způsobovat **invazivní infekce: meningitidy** (záněty mozkových plen a prostorů omývaných mozkomíšním mokem), **seps**e (infekce krevního řečiště), kombinace obojího, vzácně i **pneumonie** (záněty plic)
- **Akutní meningokoková meningitida** vyžaduje okamžitou pomoc, obnovení životních funkcí a rychlou diagnostiku i léčbu

# 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**



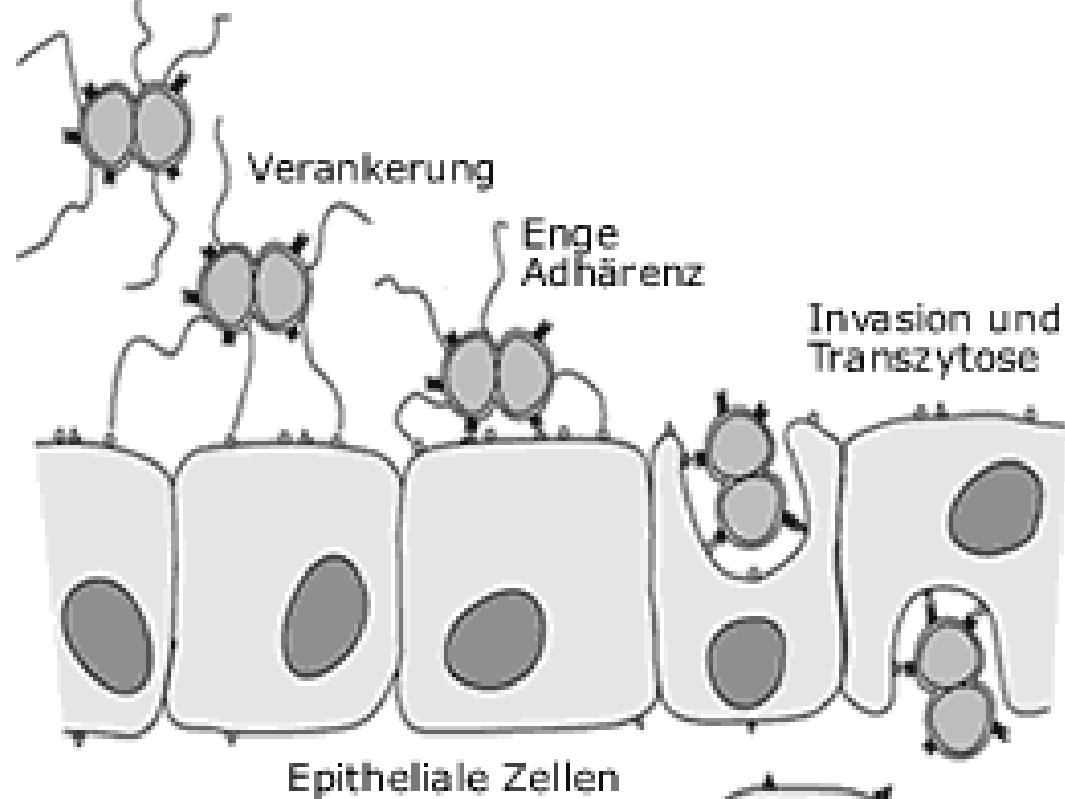
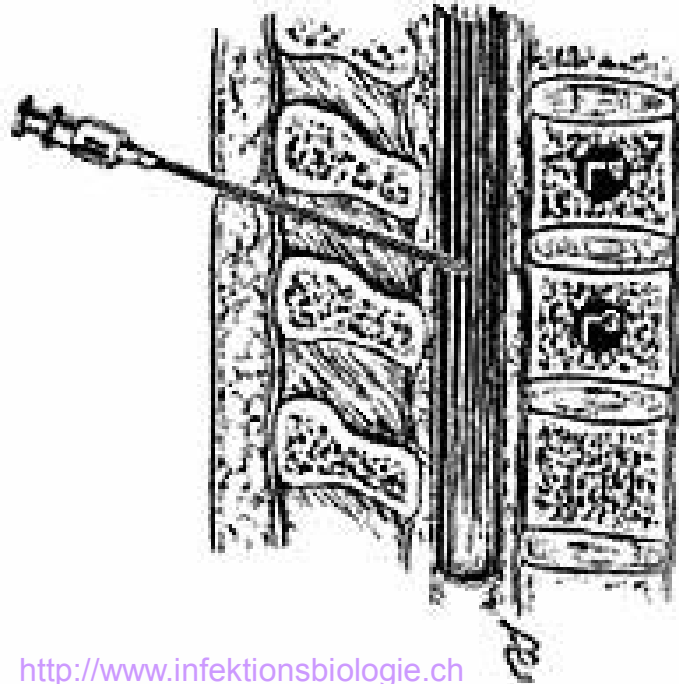
# Meningokoková meningitida je celosvětově velmi závažnou nákazou



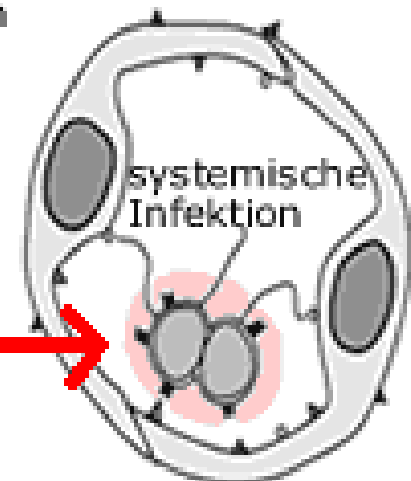
„Meningitis belt“,  
kde se hodně  
vyskytuje  
meningokoková  
meningitis

# Meningokokové invazivní infekce: odběr a diagnostika

- Vhodným vzorkem je mozkomíšní mok, získaný tzv. lumbální punkcí, a dále také hemokultura
- Okamžitě se provede **mikroskopie** a **přímý průkaz antigenů** ve vzorku mozkomíšního moku. (Kultivace také, ale ta trvá dlouho.)
- Vypěstované kmeny (na obohaceném krevním agaru) se pomocí **antigenní analýzy** určují na úroveň **seroskupiny** (A, B, C, W135, Y, Z). Na úroveň **serotypu** určuje meningokoky pouze Národní referenční laboratoř.



<http://www.infektionsbiologie.ch>



Endotheliale Zellen

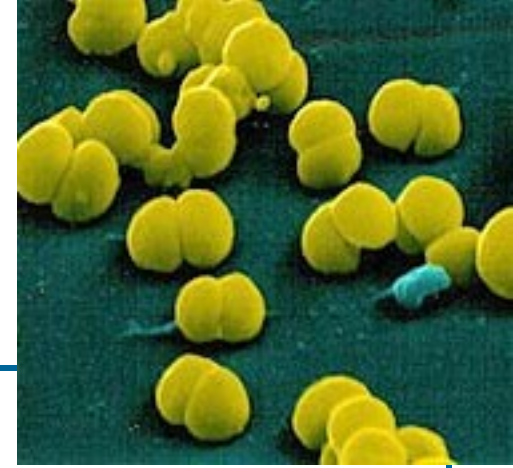
Mit freundlicher Genehmigung  
© Dehio

Odběr likvoru

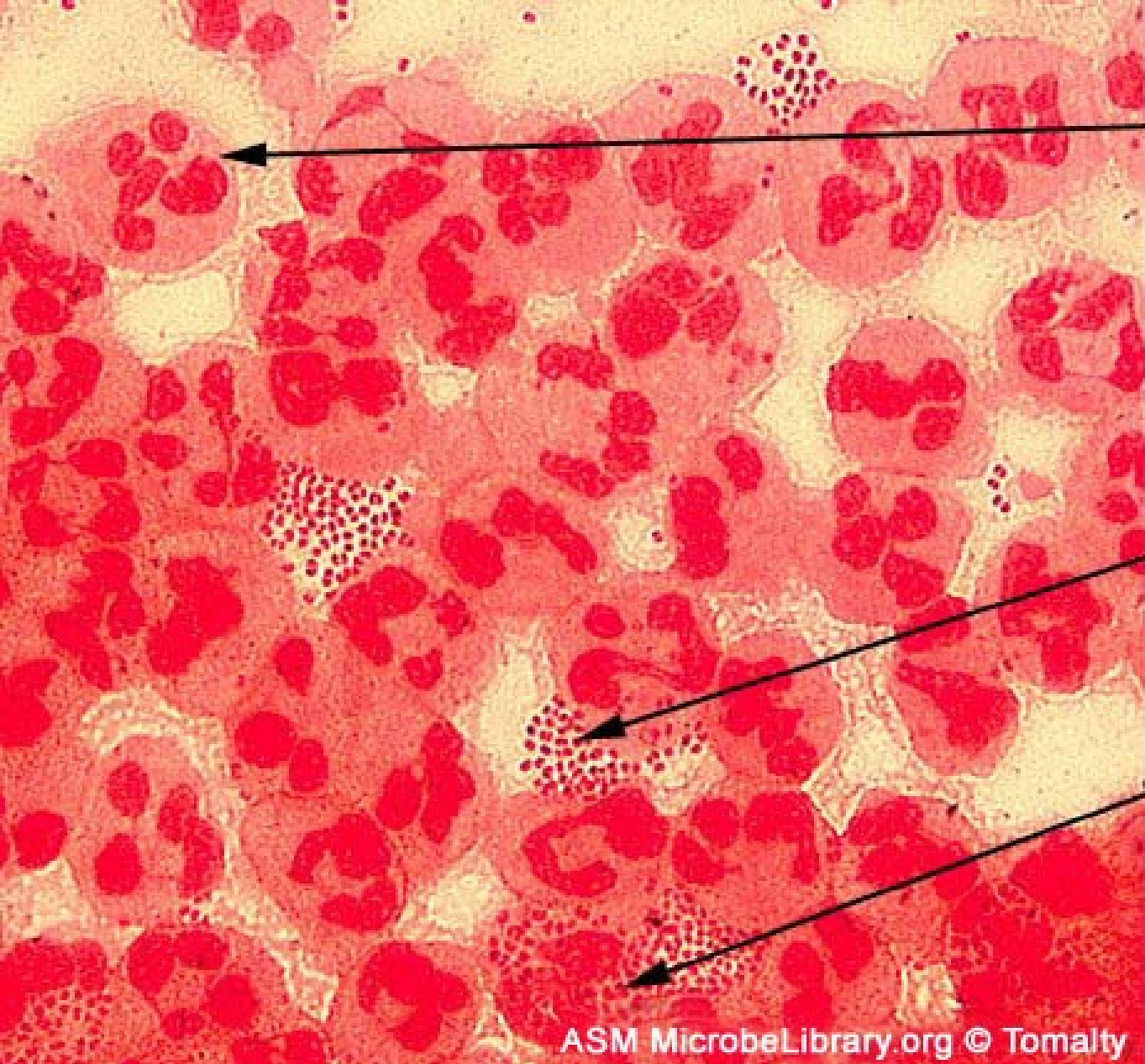
Takto  
pronikají do  
tkání

<http://www.infektionsbiologie.ch>

# Porovnejme neisserie:



	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>
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



polymorphonuclear leukocyte

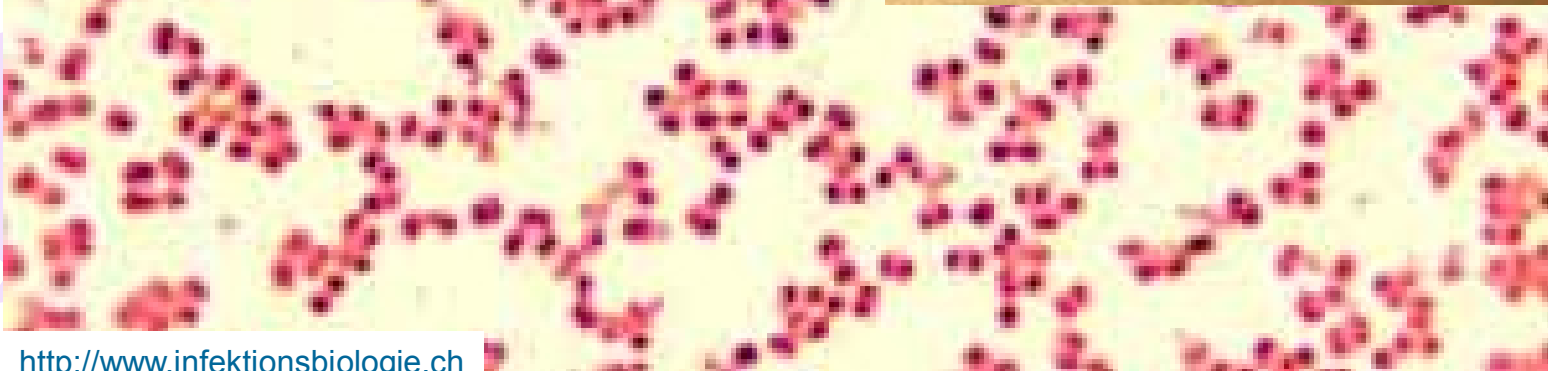
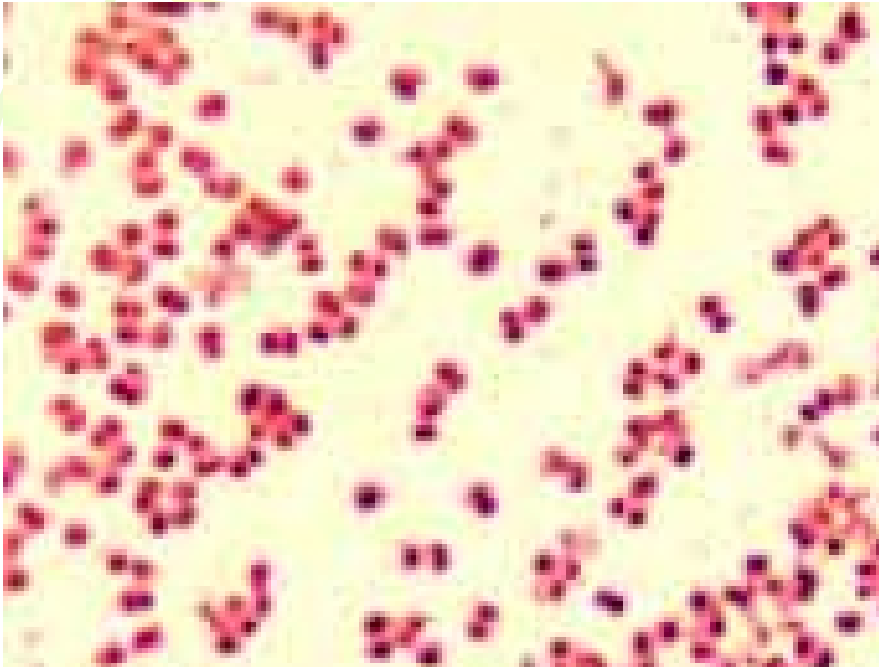
Extracellular gram-negative diplococci

Intracellular gram-negative diplococci

ASM MicrobeLibrary.org © Tomalty

# Meningokoky

Photo O. Z.



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

Neisseria Gonorrhoeae



Neisseria Meningitidis  
intracellularis in spinal fluid



■  $\beta$ -lactam drugs

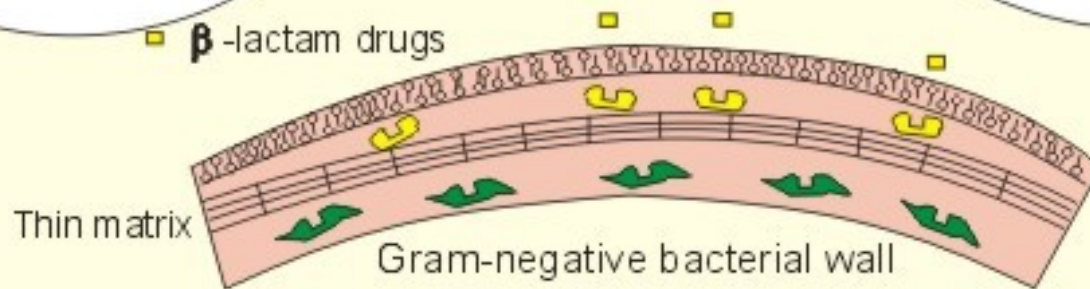


Fig. 33-3

# Příběh

- 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**

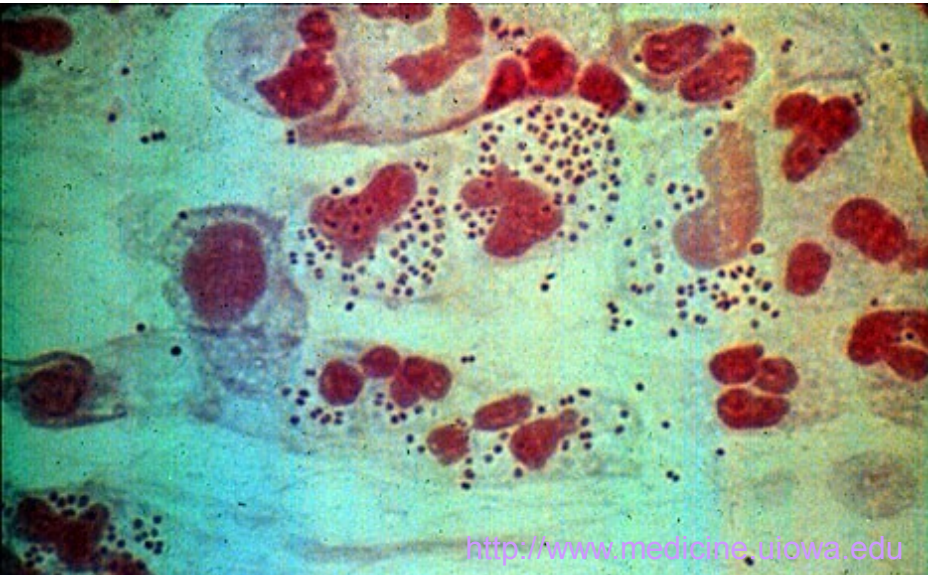




# A tím patogenem byla

- ***Moraxella* (podrod *Branhamella*) *catarrhalis***
- Tento organismus bývá přítomen u zdravých osob v malém množství **ve faryngu**
- V čisté kultuře způsobuje **záněty dutin, středního ucha, případě hlitanu** a podobně.
- Jméno podrodu *Branhamella* je odvozeno od Sáry Branhamové, jedné z prvních žen-badatelek. Byla to jedna ze statečných žen, které ukázaly mužům, že nejen oni mohou být dobrými vědci
- **Druhý podrod (*Moraxella*)** zahrnuje občasné původce zejména očních infekcí

# *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*



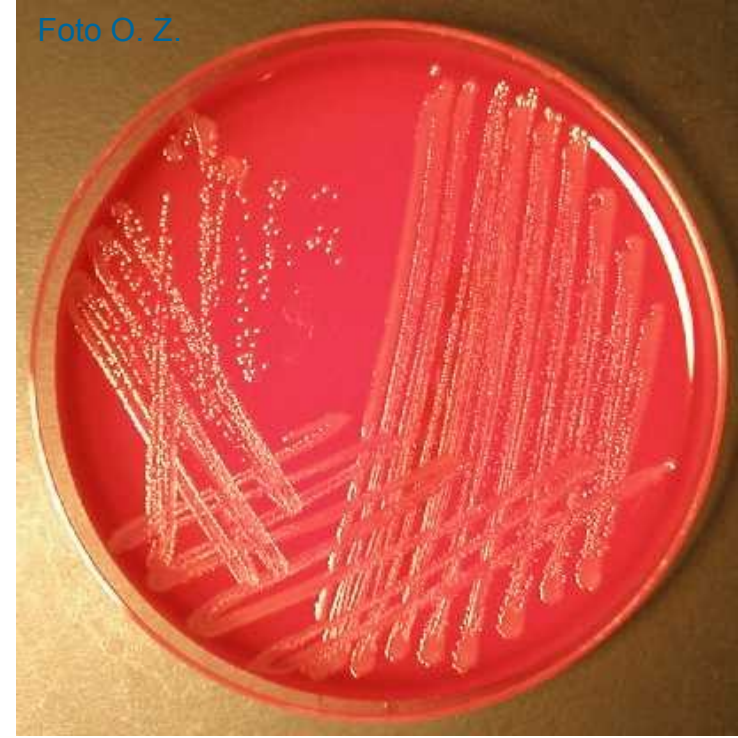
# Neisserie a moraxely – charakteristika

- **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
- **MALDI**
- **Antigenní analýza:** velký význam u meningokoka, seroskupina B není preventabilní očkováním!

# Kultivace

- Popisujeme kolonie gramnegativních **koků na různých půdách**, a hlavně si všímáme, jestli tam vůbec rostou – kultivační náročnost je významným rozlišujícím znakem

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, MALDI
- Poměrně málo biochemicky aktivní jsou obě patogenní neisserie: **g**onokok štěpí jen **g**lukózu, **m**eningokok kromě glukózy navíc i **m**altózu.

<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 DNase β Lac</p>	 <p><i>N. gonorrhoeae</i></p> <p>C G M L S DNase β-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> + (2)	1395			

# Průkaz antigenu a antigenní analýza

- Je dostupná **souprava 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). To má smysl hlavně kvůli zjištění, jestli má smysl očkovat kontakty



# Očkovací látka proti skupině C



a aglutinační souprava 85

# 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 **mozkomíšní 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

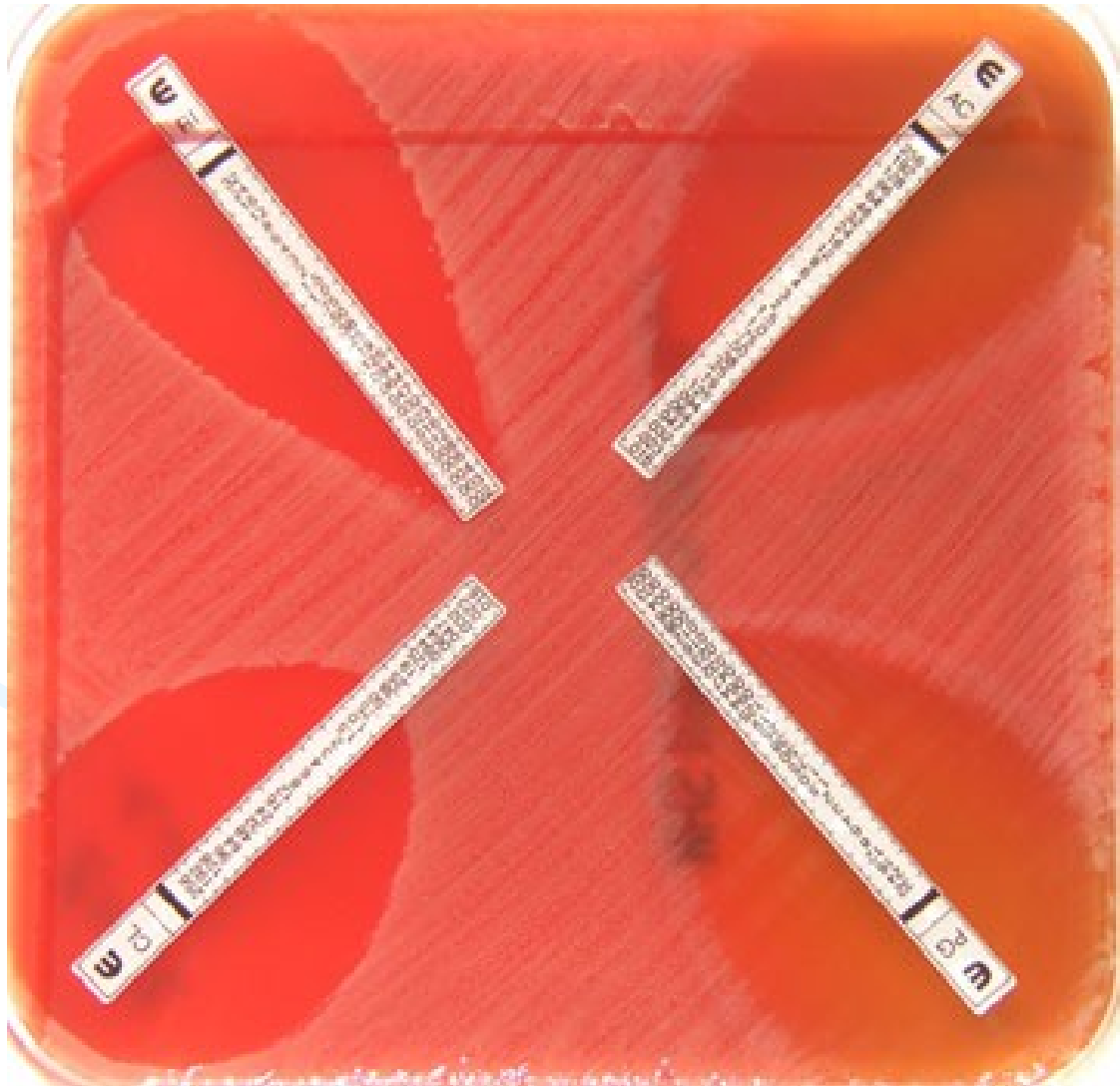
- **Antibiotická citlivost** se u patogenních neisserií určuje **na půdách, na kterých jsou schopny růst**, tj. nikoli na MH agaru
- Lékem volby u meningokoka je stále klasický penicilin. Ten se osvědčují i u gonokoka. Další možnosti jsou **makrolidy, chinolony či ceftriaxon.**

# Antibiotika užívaná u meningokokových infekcí

Antibiotikum	Zkratka	
Penicilin (základní penicilin)	P	
Chloramfenikol	C	
Azithromycin (makrolid)	AZM	
Doxycyklin (tetracyklin)	DO	
Ampicilin (aminopenicilin)	AMP	
Ko-trimoxazol (směs dvou látek)	SXT	

# Někde používají i E-test

[www.actu-pharo.com](http://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
- ***Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans***, původce infekcí připomínajících aktinomykózu a někdy ji i doprovázející
- Rody ***Eikenella***, ***Kingella***, ***Cardiobacterium*** a některé další jsou vzácní původci infekcí (endokarditid).

# Skupina „HACEK“

Zkratka „HACEK“ se používá jako souhrnný skupinový název pro kultivačně náročné bakterie, které způsobují sice občasné, ale zato závažné infekce, zejména **endokarditidy** u dětí:

- **Haemophilus** (*H. aphrophilus*, *H. parainfluenzae* a *H. paraphrophilus*)
- **Aggregatibacter** (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *A. aphrophilus*)
- **Cardiobacterium hominis**
- **Eikenella corrodens**
- **Kingella** (*Kingella kingae*)

**Lékem** volby jsou cefalosporiny 3. generace

# Děkuji za pozornost

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

