

Gramnegativní nefermentující tyčky

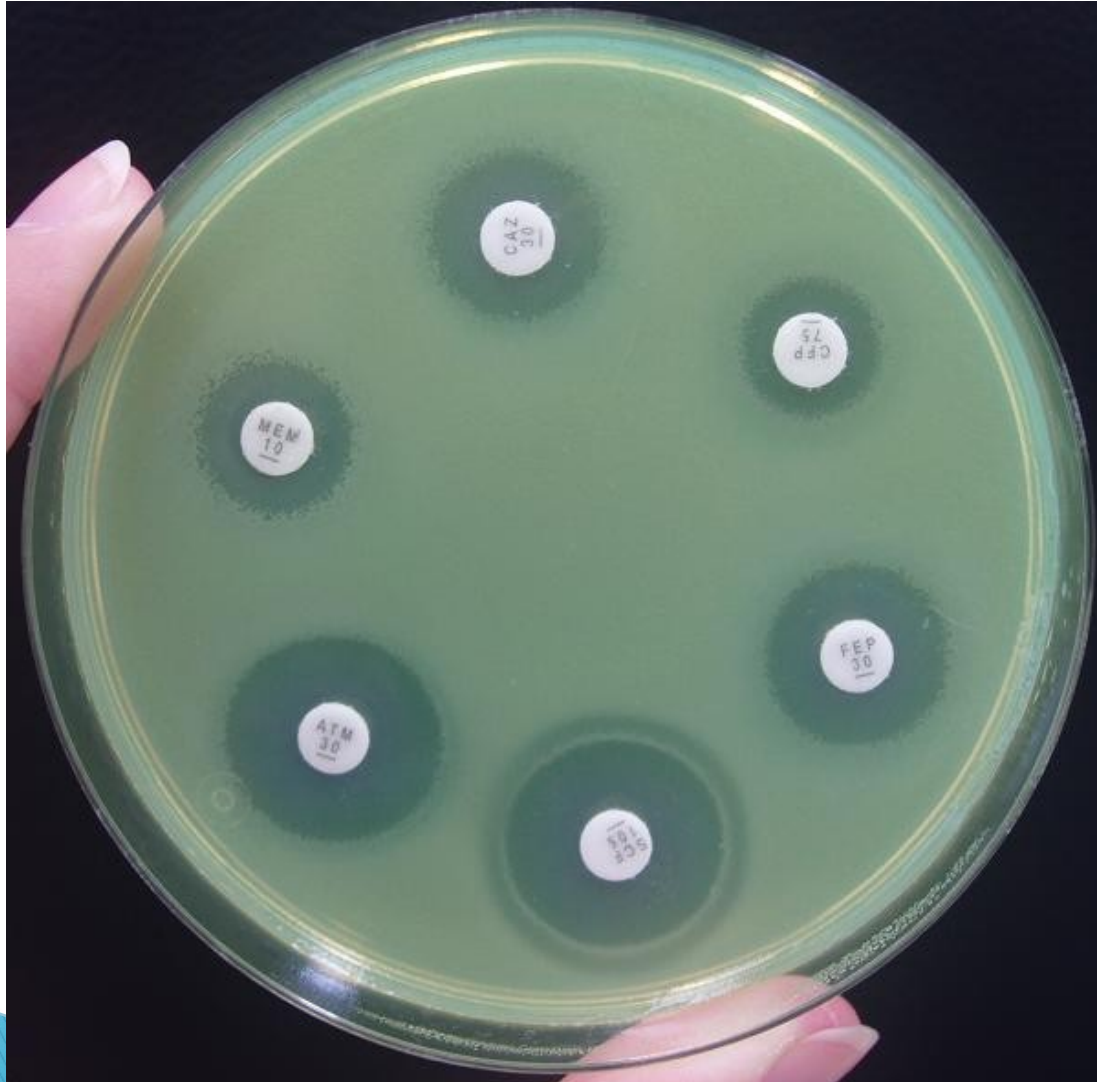
M. Hanslianová
OKM FN Brno

- ▶ = velká skupina rodů gramnegativních tyček neschopných fermentovat glukózu
- ▶ Nesourodá skupina mikrobů, běžně přítomné v půdě, vodě, na rostlinách
- ▶ Zařazení do čeledí je spíše formální
- ▶ Počet rodů gramnegativních nefermentujících tyček se mění v souvislosti s podrobnějšími studii genotypu

- Kultivačně nenáročné
- Dobře rostou na běžných půdách– krevní agar, Endova půda, McConkey agar
- Výhodnější kultivační teplota 30 stC
- Mnohdy prodloužená kultivace na 48 hodin
- Dostatečná vlhkost prostředí (zdravotnická zařízení– nebulizace, gely, roztoky)

- ▶ Kolonie na půdách nejsou většinou nijak typické (výjimky– *Pseudomonas aeruginosa*, *Chryseobacterium meningosepticum*)
- ▶ Identifikace podle biochemické aktivity
- ▶ MALDI–tof

Pseudomonas aeruginosa – typická pigmentace



Možnosti biochemické identifikace



MALDI-hmotnostní spektrometrie



- ▶ Patogenita pro člověka je u této skupiny mikrobů obecně velmi nízká
- ▶ Oportunní patogeny– infekce prakticky vždy u oslabených osob (primární imunodeficity, pac. s hematologickou malignitou, transplantovaní, popálení), u těch pak mohou mít těžký průběh s fatálním koncem

- ▶ Zdrojem infekce je místo kolonizované nefermentující tyčkou– tracheální kanyly, flexily, močové katetry...)
- ▶ Obtížné odlišení kolonizace a infekce
- ▶ Často jsou původci nozokomiálních nákaz
- ▶ Polyrezistentní vůči antibiotikům i dezinfekčním látkám, biofilm!
- ▶ Antibioqram se nedá odhadnout!

Rozdělení gramnegativních nefermentujících tyček podle abecedy

- ▶ **Acinetobacter**
- ▶ Agrobacterium
- ▶ Alcaligenes
- ▶ **Bordetella**
- ▶ Brevundimonas
- ▶ **Burkholderia**
- ▶ Comamonas
- ▶ Eikenella
- ▶ Flavimonas
- ▶ Chryseobacterium
- ▶ Kingella
- ▶ Methylobacterium
- Moraxella
- Ochrobacterium
- Oligella
- **Pseudomonas**
- Psychrobacter
- Ralstonia
- Shewanella
- Sphingobacterium
- **Stenotrophomonas**
- Suttonella
- Weeksella
- Xanthomonas

Bordetella

- ▶ Drobné gramnegativní kokotyčinky
- ▶ Tři druhy patogenní pro člověka:
- ▶ *B.pertussis*, *B.parapertussis*, *B.bronchiseptica*

Bordetella pertussis

- ▶ Gramnegativní nefermentující tyčka, **ale** kultivačně náročná
- ▶ Neroste na běžných kultivačních půdách, některé součásti agarů jsou pro ni toxické, vyžaduje suplementy (Bordet–Gengou)
- ▶ Kultivace trvá 3–5 dní, roste v drobných koloniích, mohou mít zónu hemolýzy


- ▶ Původce pertuse= dávivý kašel
- ▶ Kapénkový přenos, 7–10 denní inkubace

- ▶ 3 stadia onemocnění:
 - 1) Katarální
 - 2) Paroxysmální
 - 3) Rekonvalescentní



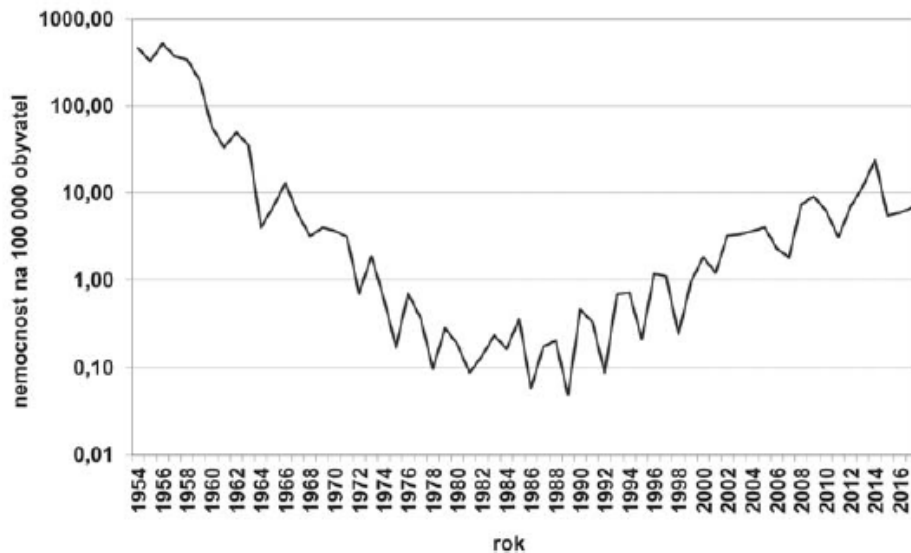
- ▶ Lokální poškození řasinkového epitelu dýchacích cest+ tvorba toxinu
- ▶ V katarálním stadiu lze bordetely vypěstovat a lze lépe ovlivnit průběh onemocnění antibiotiky
- ▶ Paroxysmální stadium– toxin, průkaz onemocnění sérologickými metodami
- ▶ Léky volby– makrolidová antibiotika

- celoplošná vakcinace 40.– 50. léta 20. století
- očkování probíhá více než 50 let
- člověk – jediný zdroj *B. pertussis*
- pertuse – adept na eliminaci ?!
- ALE

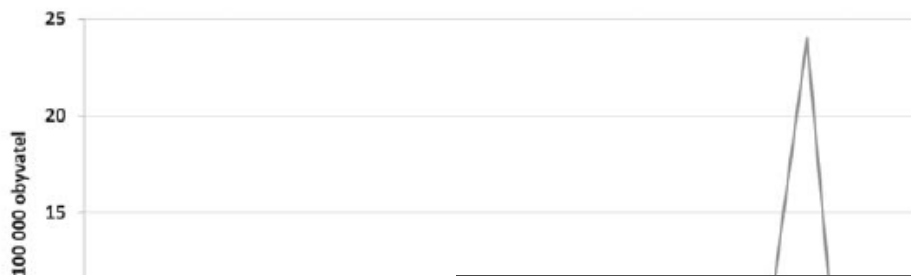
- ▶ Nárůst výskytu pertuse v posledních desetiletích
 - ▶ Výskyt onemocnění v adolescentní a dospělé populaci
 - ▶ Výskyt nových genetických variant, oslabení postvakcinační imunity
- 

Pertuse v ČR, trend

Graf 1: PERTUSE, ČR, 1954–2017, HLÁŠENÁ NEMOCNOST (semilogar.)



Graf 2: PERTUSE, ČR, 1992–2017, TREND HLÁŠENÉ NEMOCNOSTI (na 100 000 obyvatel)



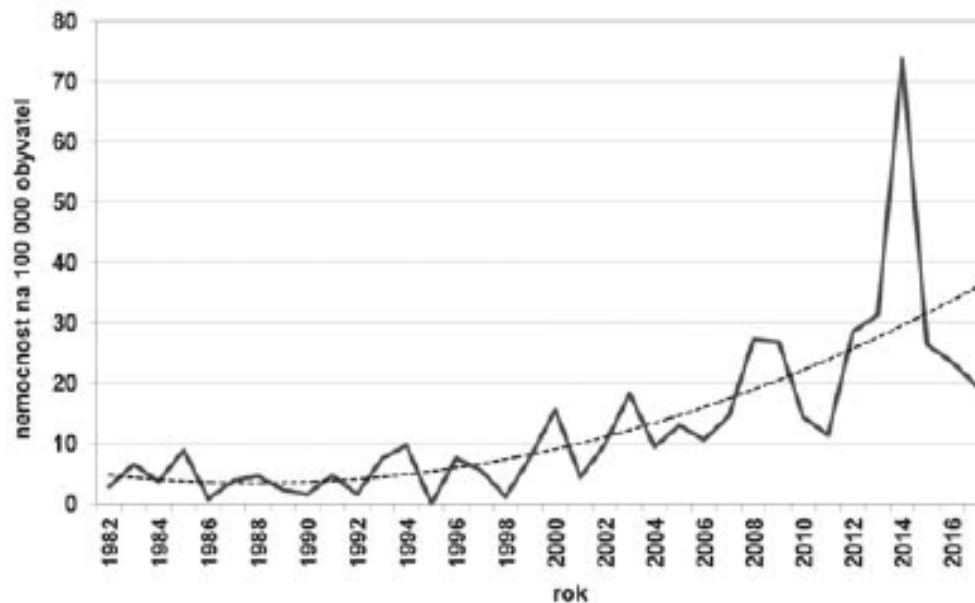
Tabulka 1: PERTUSE, ČR, 2017, POČET PŘÍPADŮ A NEMOCNOST NA 100 000 OBYVATEL, PODLE VĚKU

věk. skupina	počet případů	nemocnost
0	22	19,55
1–4	37	8,37
5–9	49	8,26
0–14	24	4,81
15–19	106	23,11
20–24	30	5,42
25–29	34	4,96
30–34	44	6,02
35–39	53	6,24
40–44	56	6,12
45–49	40	5,61
50–54	42	6,04
55–59	29	4,59
60–64	30	4,21
65–69	27	3,91
70–74	23	4,32
75–79	10	2,94
80–84	5	2,18
85+	6	3,07

Zdroj: Zprávy CEM

Pertuse v ČR, trend

Graf 5: PERTUSE, ČR, 1982–2017, TREND, DĚTI DO 1 ROKU, NEMOCNOST NA 100 000 OBYVATEL



Zdroj: Zprávy CEM

Imunita

- ▶ Po prodělaném onemocnění 4–20 let
- ▶ Po vakcinaci 3–12 let
- ▶ Transplacentárně přenesené protilátky mizí 4.–8.týden po narození

- ▶ Adolescenti a dospělí mohou být rezervoárem pro malé děti
- ▶ Doporučení přeočkování alespoň 1x v dospělosti

Gramnegativní nefermentující tyčky

- ▶ Klinicky nejvýznamnější pro člověka jsou rody

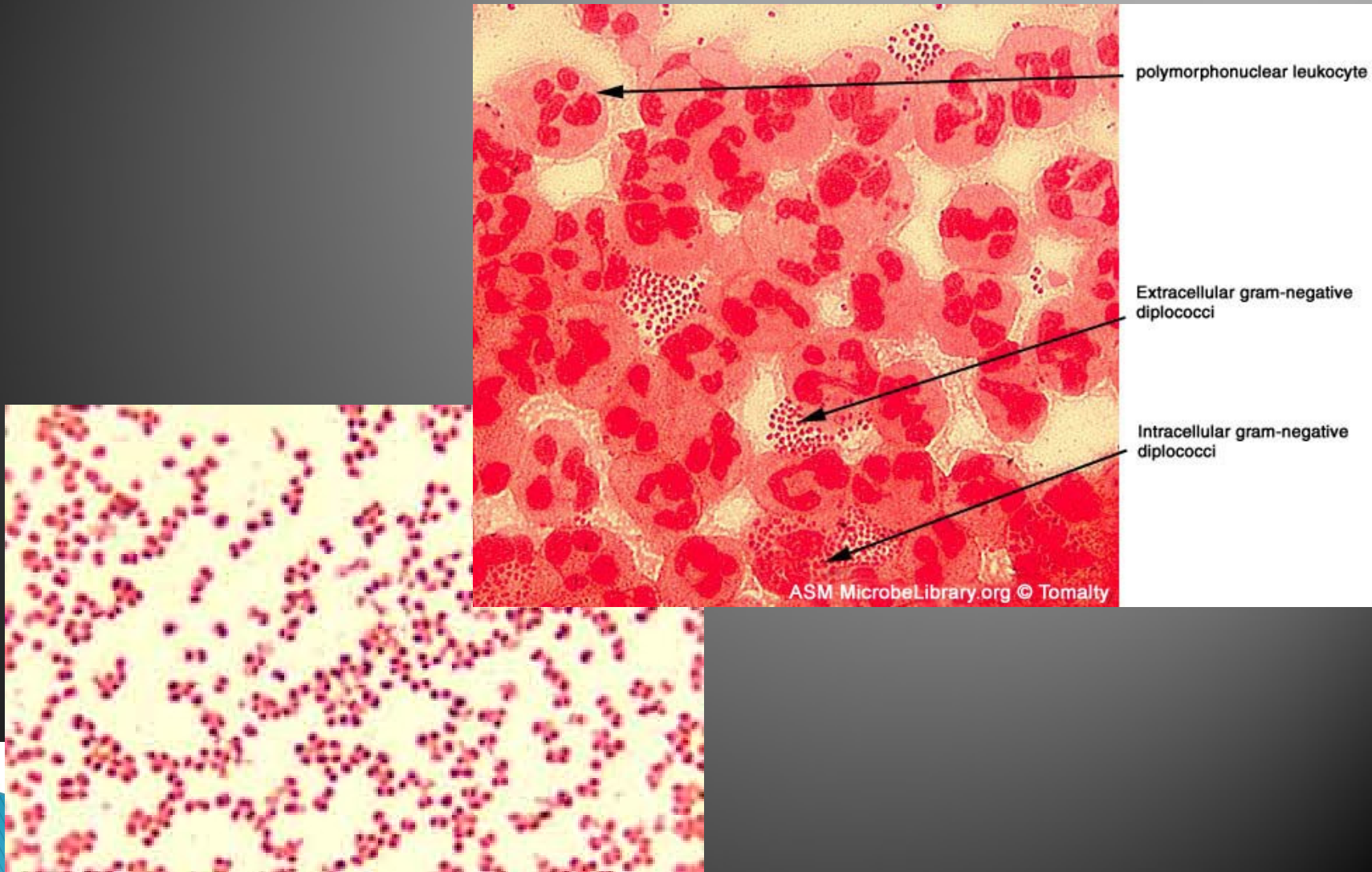
- 1) *Acinetobacter*
- 2) *Pseudomonas*
- 3) *Stenotrophomonas*
- 4) *Burkholderia*

1) *Acinetobacter*

- ▶ První kmen izolovaný z půdy v roce 1911
Micrococcus calcoaceticus
- ▶ Několikrát znovuobjeven a přejmenován
- ▶ V roce 1954 vytvořili Brisou a Prévot rod *Acinetobacter*, do kterého spadaly gramnegativní nefermentující tyčky netvořící pigment a nepohyblivé

- ▶ Zahrnuty i bakterie, které dle dnešní nomenklatury s rodem *Acinetobacter* nesouvisí (kmeny oxidáza- pozitivní)
- ▶ V roce 1968 Baumann prokázal odlišnost oxidáza- negativních kmenů od oxidáza- pozitivních
- ▶ V rodu *Acinetobacter* zůstaly oxidáza- negativní diplokoky


Gramnegativní diplokoky



- ▶ Většina kmenů izolovaných z klinického materiálu patří do rodu *A.baumannii*
- ▶ Fenotypově v podstatě neodlišitelný od *A.calcoaceticus*

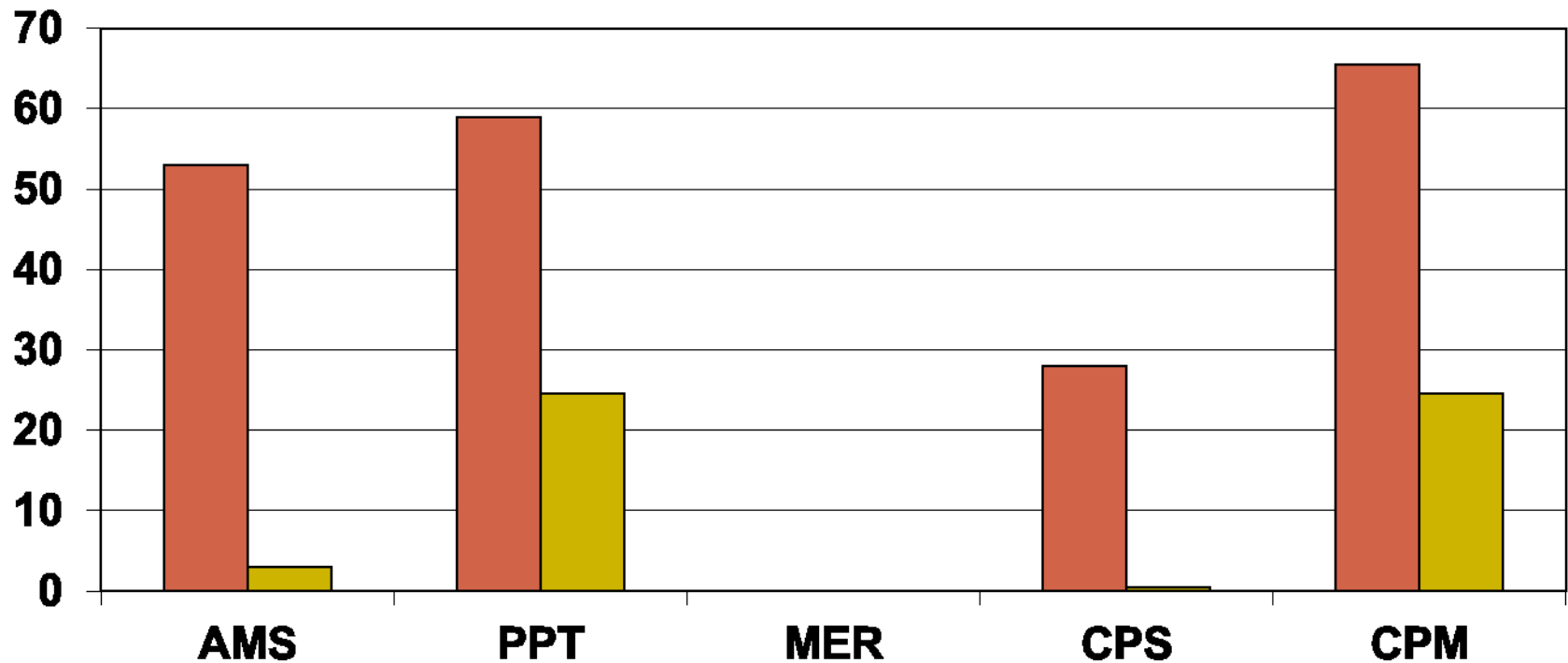


- ▶ *A.calcoaceticus*–*baumannii* komplex

- Válečná poranění (Iraqibacter)
 - Zástupci rodu *Acinetobacter* bývají izolováni z materiálu od oslabených pacientů
 - Široké spektrum infekcí
 - Často multirezistence k antibiotikům
- 

Acinetobacter sp.

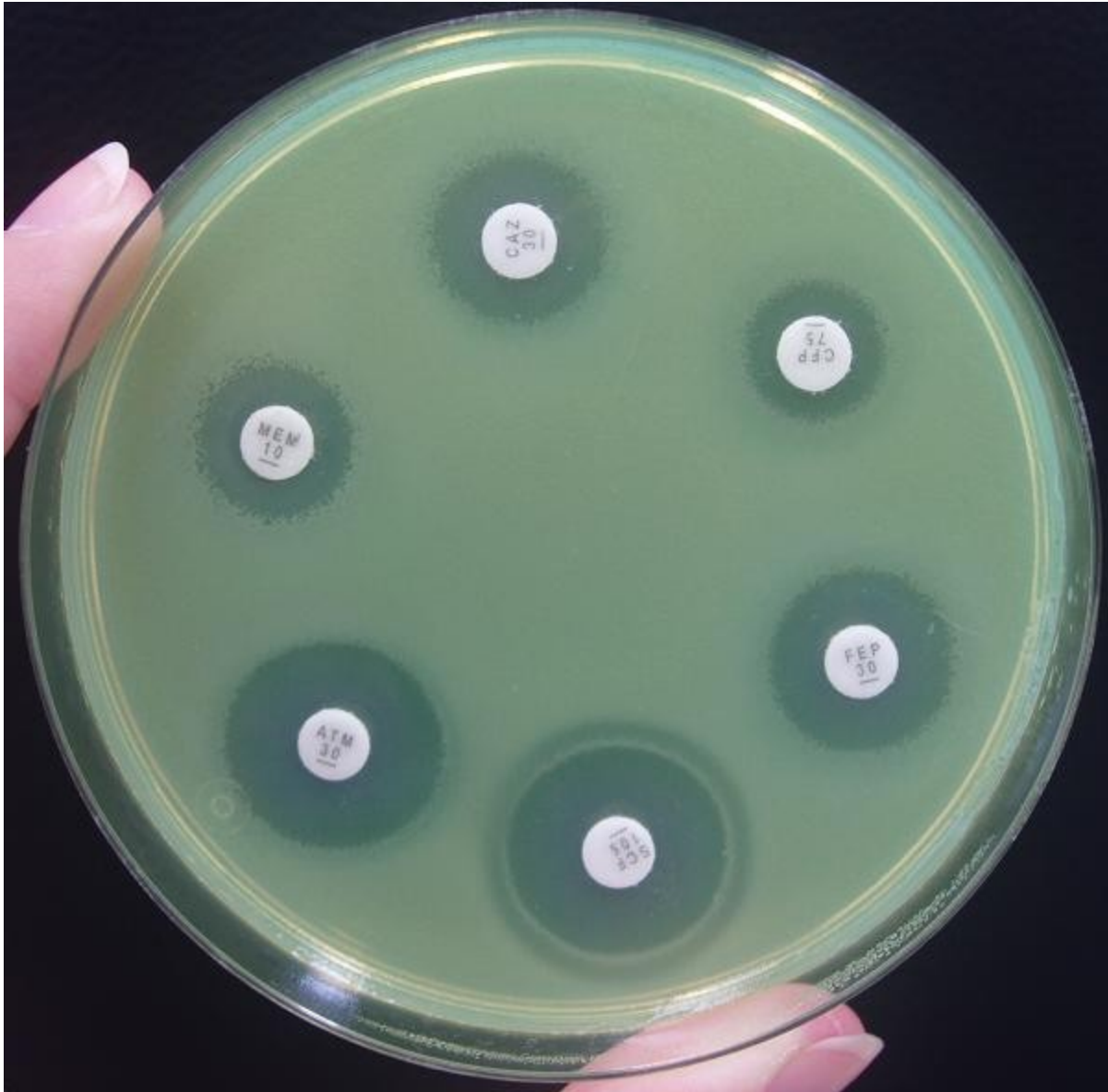
% rezistence k vybraným antibiotikům, srovnání let 2004 a 2006



Legenda: AMS=ampicilin/sulbactam (Unasyn), PPT=piperacilin/tazobactam (Tazocin), MER=meropenem,
CPS=cefoperazon/sulbactam (Sulperazon), CPM=cefepim

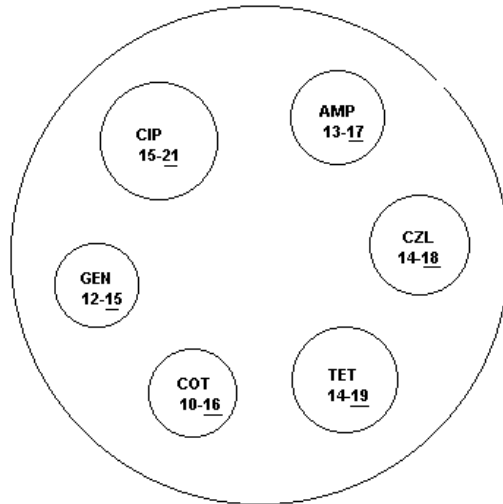
2) *Pseudomonas*

- ▶ Gramnegativní tyčinka řazená do čeledi Pseudomonadaceae
- ▶ Nejčastěji izolovaný a klinicky nejvýznamnější druh= *Pseudomonas aeruginosa*
- ▶ Výrazný pigment a vůně, hemolýza na krevním agaru, oxidáza- pozitivní, pohyblivé

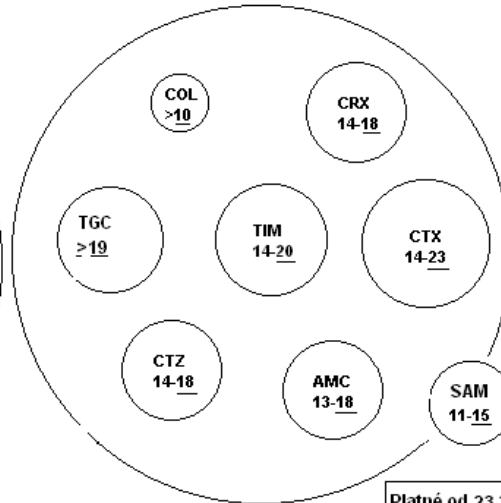


- ▶ Infekce u oslabených lidí
- ▶ Jeden z nejčastějších původců nozokomiálních nákaz (ventilátorové pneumonie, infekce u popálených, osteomyelitidy, otitidy, endoftalmitidy...)
- ▶ Svízelná terapie infekcí vyvolaných pseudomonádami– omezená škála antibiotik k užití i u citlivých kmenů

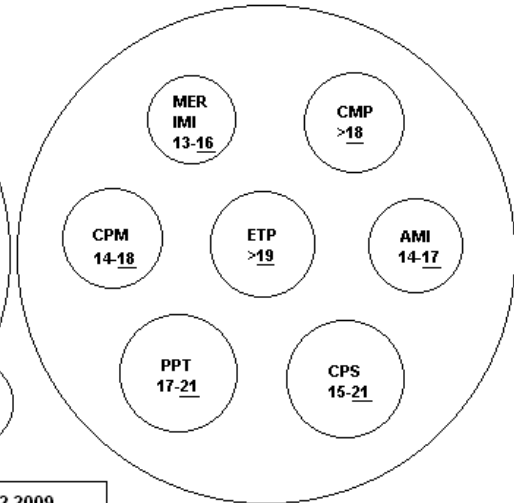
G-1V



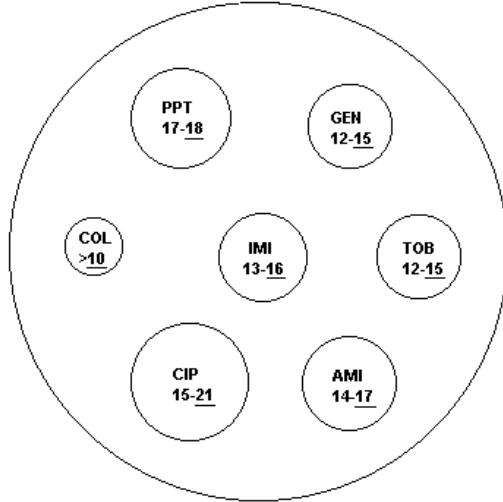
G-2 V



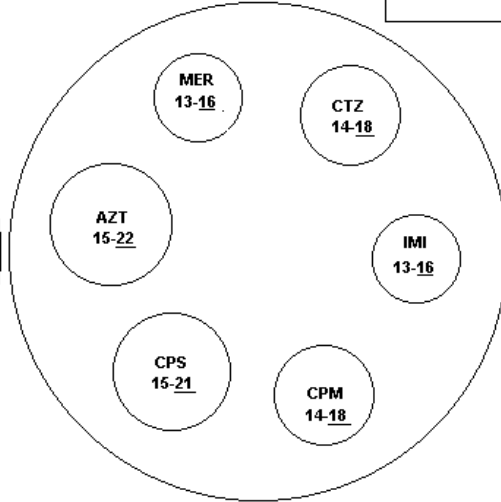
G-3 V, M



PS 1



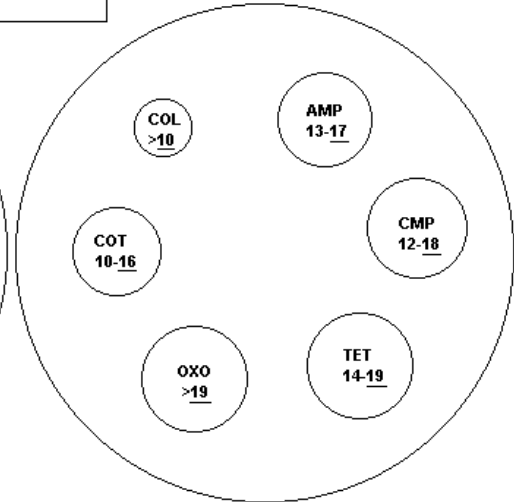
PS 2



Platné od 23.2.2009

SCHVÁLIL:

SALM.T.



Kasuistika

- ▶ Pacient LV, nar.1930, 4.6.2008 přeložen na Neurologickou kliniku FN Brno z FNuSA, kde provedena prostatektomie pro benigní hypertrofii
- ▶ Průběh hospitalizace ve FNuSA komplikován urosepsí vyvolanou citlivým kmenem *Pseudomonas aeruginosa* (PSAE), zaléčen kombinací antibiotik ceftazidim+gentamicin

- ▶ Na NK přijat pro lumbalgie, zjištěn opět uroinfekt vyvolaný PSAE rezistentní k chinolonům, febrilní, CRP 205
- ▶ Indikováno CT páteře, doporučena kombinace antibiotik– opět ceftazidim+gentamicin– ten, vzhledem k horší funkci ledvin v redukované dávce

- ▶ Dle CT a NMR zjištěna spondylodiscitis L3–4, předpokládané agens PSAE (hemokultivace negativní), navýšena dávka ceftazidimu na 12g/den+ ponechán gentamicin–monitorovány hladiny antibiotika v séru a následně zvednuty i dávky gentamicinu

- ▶ **9.6.2008**– CRP pokles na 20, pacient zlepšený, afebrilní, s úlevou bolestí
- ▶ **13.6.2008**– CRP 8, dobrý, atb 10 dní, vysazen gentamicin, ponechána terapie ceftazidimem
- ▶ **23.6.2008**– CRP 1, dobrý, 20 den na ceftazidimu, snížení dávky, na domů?

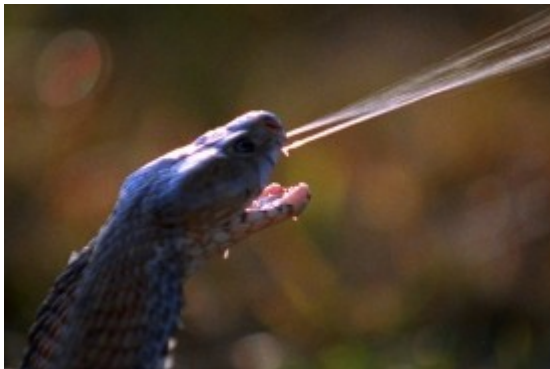
- ▶ Překlad pacienta z oddělení na oddělení– nutnost dlouhodobé terapie u PSAE vyvolané spondylodiscitidy, ale není k dispozici p.o. antibiotikum– parenterální terapie při hospitalizaci pacienta s nízkým CRP a v klinicky dobrém stavu

- ▶ **14.7.2008**– 42 dní i.v. terapie ceftazidimem, CRP nízké, klinicky dobrý, propuštěn bez antibiotik domů
- ▶ **21.7.2008**– opět přijat, ortopedie, CRP 150, febrilní, opět úporné bolesti zad, febrilie, dle CT opět progrese nálezu

- ▶ Opět hospitalizace na různých odděleních FN Brno i FNuSA– nutnost i.v. terapie ceftazidimem ve vyšších dávkách
- ▶ Jednání se ZP ohledně případné i.v. ambulantní aplikace a úhrady léků
- ▶ Pacient léčen za hospitalizace i ambulantně, celková doba terapie se blíží 6 měsícům

Polyrezistentní kmeny pseudomonád

- ▶ Nejčastější mechanismus rezistence– eflux
- Horší mechanismus rezistence- enzymy (**MBL, KPC**)

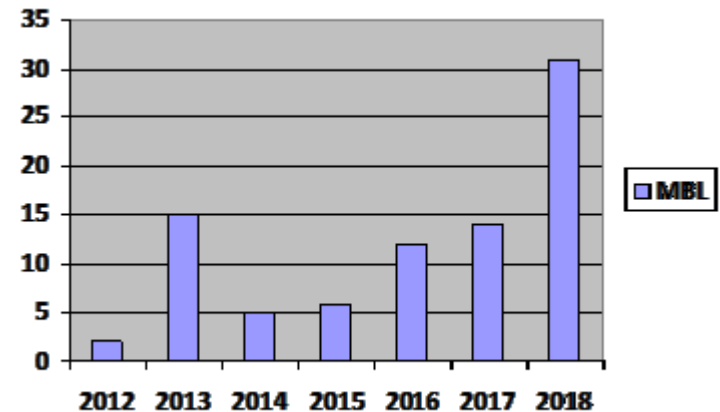


- ▶ Ve FN Brno rozšířený kmen polyrezistentní *Pseudomonas aeruginosa* citlivý pouze ke kolistinu a amikacinu (variabilně)
- ▶ Efluxový mechanismus rezistence
- ▶ Zavlečen do nemocnice v roce 2006 – transport kolonizovaného pacienta

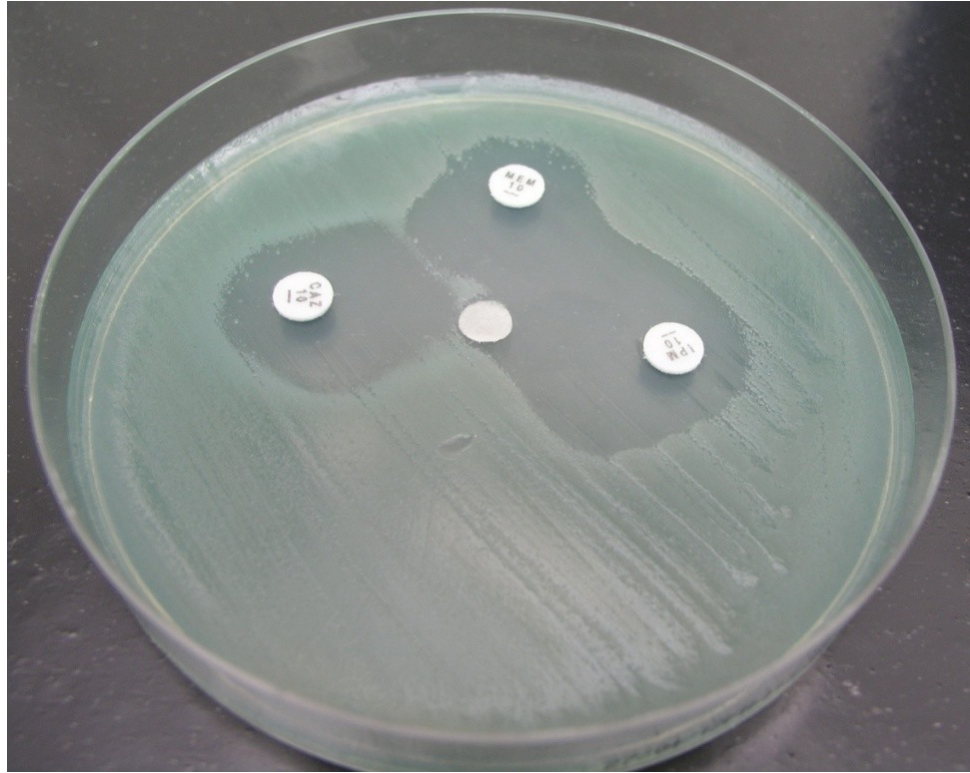
- ▶ V relativně krátké době rozšíření po celé nemocnici
- ▶ Nejvýrazněji JIP a ARO – vysoké procento ventilovaných pacientů
- ▶ Odolával snahám o eradikaci
- ▶ V posledních letech snížení výskytu kmene, ALE

Pseudomonády s produkcí MBL

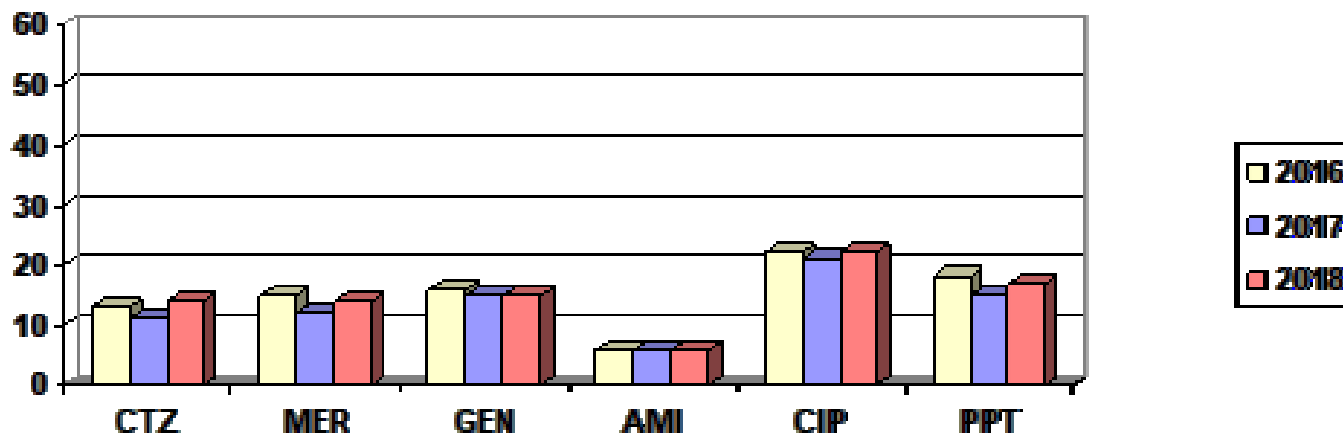
- ▶ Hrozba–kmeny s produkcí metalobetalaktamáz
- ▶ Obtížná terapie infekcí vyvolaných těmito typy pseudomonád



Počet pacientů s *Ps.aeruginosa* s produkcí MBL



Rezistence *Pseudomonas aeruginosa*, FN Brno, PMDV

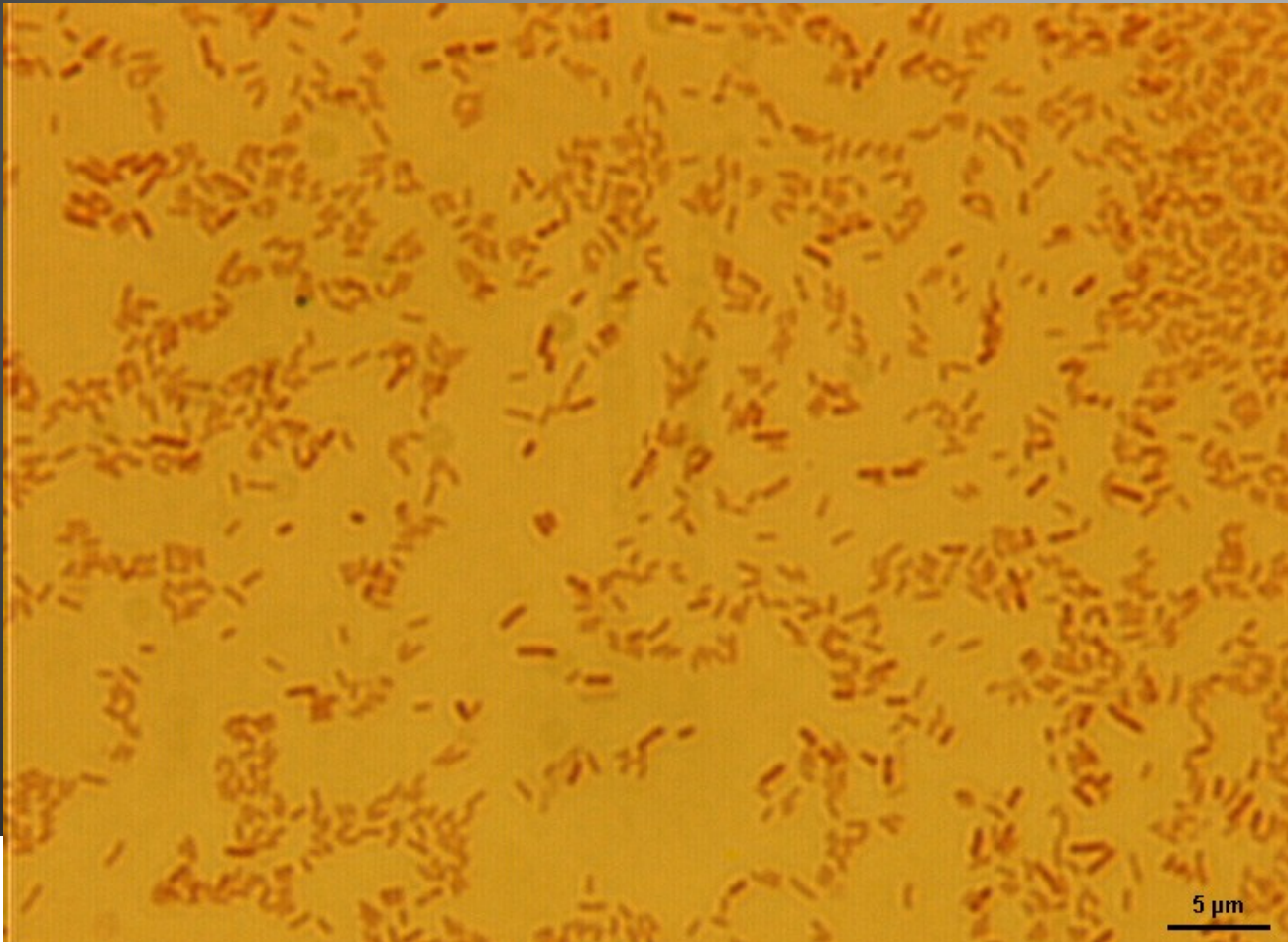


CTX=cefotaxim, CTZ=ceftazidim, KP= karbapenemy (zahrnuje v ČR užívané látky ertapenem, imipenem a meropenem), GEN=gentamicin, AMI=amikacin, CIP=ciprofloxacin, AMC=amoxicilin/klavulanová kyselina, PPT=piperacilin/tazobaktam

3) *Stenotrophomonas*


- Gramnegativní tyčinka, pohyblivá, aerobní, oxidáza negativní (opožděná)
- Čeleď Pseudomonadaceae
- *Stenotrophomonas maltophilia*
- Pseudomonas– Xanthomonas– Stenotrophomonas
- Přirozená rezistence k meropenemu, polyrezistentní

- ▶ Původce nozokomiálních infekcí:
 - ▶ bakteriémie
 - ▶ pneumonie
 - ▶ meningitidy
 - ▶ rané infekce
 - ▶ močového traktu



4) *Burkholderia*

- ▶ Gramnegativní tyčinka, pohyblivá, oxidáza-pozitivní
- ▶ Čeď Pseudomonadaceae
- ▶ V roce 1949 popsána Walterem Burkholderem jako původce onemocnění cibule (cepa=cibule)

- ▶ Oportunní patogen
 - ▶ Původce nozokomiálních infekcí
 - ▶ Nejvíce infekcí vyvolaných burkholderiemi u:
 1. nemocných s chlopenními náhradami a cévními implantáty
 2. nemocných s cystickou fibrózou
- 

- ▶ Ve FN Brno se nejčastěji setkáváme s infekcí *Burkholderia cepacia* u pacientů s cystickou fibrózou (centrum pro léčbu CF)
- ▶ CF– onemocnění s poruchou metabolismu minerálů a tvorby hlenu– v dýchacích cestách se tvoří hustý, vazký hlen, který je blokuje a je živnou půdou pro mikroorganismy

- ▶ Opakované infekce dýchacích cest vyvolané polyrezistentními kmeny– *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa*
- ▶ Kmeny *B.cepacia* u pacientů s CF jsou nezářídka rezistentní ke **všem dostupným antibiotikům**

Odeslání FN Brno
Oddělení klinické mikrobiologie
Prim. MUDr. Alena Ševčíková
Jihlavská 20
62500 Brno - Bohunice

KNPT FN Brno
Oddělení: KNPT-amb.přím.,2565
Jihlavská 20
625 00 Brno

Pro přednostku: KNPT-amb.přím.,2565

Pacient :
Vyzádal :
Diagnóza :
Komentář :
Vyšetření: Kulturašni vyšetření - Sputum

Odebrán: 5.1.2009: 00:00
Přijat: 5.1.2009: 12:37
Odeslán: 10.1.2009: 11:52
Číslo: 44/2009/1
Kdo hradi: VZP

Aerobní kultivace:

Nález: Růst sputa 10 na -7 *Burkholderia cepacia*

Stanovení kvalitativní citlivosti na antibiotika:

ampicilin.....R	Cefoper/sulb.(Sulperazon)...R
Augmentin, Unasyn.....R	cefepim (Maxipim).....R
piper./tazobact.(Tazocin)...R	ciprofloxacin (Ciprobay)...R
chloramfenikol.....R	kolistin.....R
tetracyklin.....R	gentamicin.....R
cotrimoxazol (Septrin).....R	amikacin.....R
cefazolin (Kefzol), cefalot...R	tebramycin (Breviamycin)...R
cefuroxim (Zinacef, Zinnat)...R	meropenem.....R
ceftazidim (Fortum).....R	aztreonam (Azactam).....R
cefotaxim (Claforan).....R	

Nález: Růst sputa 10 na -5 *Candida albicans*

Stanovení kvalitativní citlivosti na antimykotika:


Fluconazol (Mycamax).....C

Mikroskopické vyšetření materiálů:

Epitelie.....	ojediněle
Leukocyty.....	++
G+ koky ve dvojicích.....	ojediněle
G- koky v řetězích.....	ojediněle
G- diplokoky.....	ojediněle
G- tyčinky.....	++
Kvasinky.....	ojediněle

Vysvětlivka ke kvantitativnímu zpracování sputa:
nález v Růstě 10 na -3: pravděp. nejde o inf. DCD

- ▶ Prognosticky významný faktor (přežití)
- ▶ Transplantace plic – některá centra absolutní kontraindikace
- ▶ Multirezistence – panrezistence
- ▶ Eradikace velmi nepravděpodobná
- ▶ Závažné psychosociální aspekty izolace kolonizovaných

- ▶ Terapie těchto infekcí je velmi složitá
 - ▶ V mikrobiologické laboratoři se zkoušejí „synergie antibiotik“ = pokud nefunguje ani jedno antibiotikum samotné, zda nefunguje některá z kombinací
 - ▶ Účinnost in vivo nejistá
- 

	Fermentace glukózy	Růst	Doba kultivace	Patogenita	Stanovení citlivosti
PSAE	Ne	Typický běžné půdy	24	oportunní častý	MIC i disková metoda
ACCA	Ne	Ne typický běžné půdy	24	oportunní	MIC i disková metoda
STMA	Ne	Ne typický běžné půdy	48	oportunní	MIC
BUCE	Ne	Ne typický běžné půdy (selektivní půdy)	48	oportunní CF	MIC

PSAE=*Pseudomonas aeruginosa*, ACCA=*Acinetobacter sp.*, STMA=*Stenotrophomonas maltophilia*, BUCE=*Burholderia cepacia*

Děkuji za pozornost

