

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

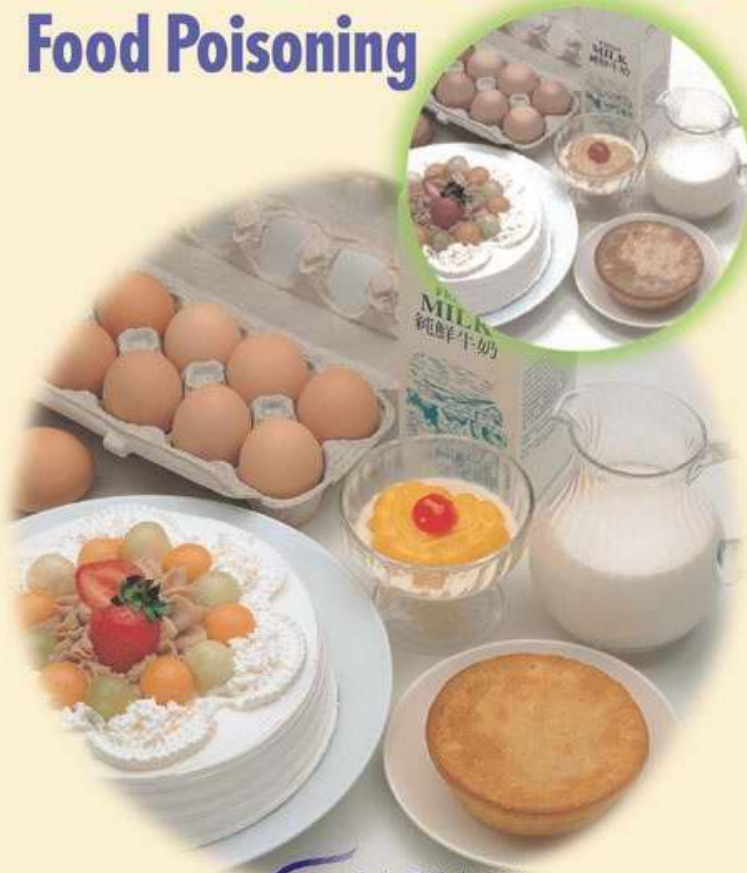
*Poznámka: Tento přehled samozřejmě zahrnuje jen nejdůležitější medicínsky významné G– aerobní bakterie. Ve skutečnosti je G– bakterií daleko víc. 3
V přehledu také nejsou anaerobní G– bakterie, budou probrány jindy.*

1. Enterobakterie

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

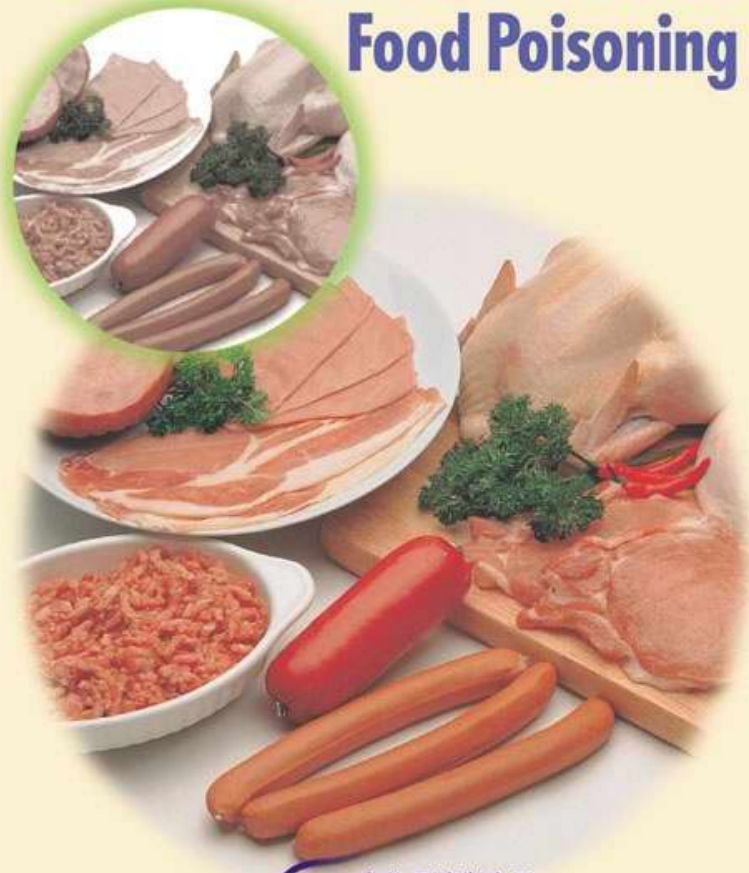
Salmonella

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**,, 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

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*

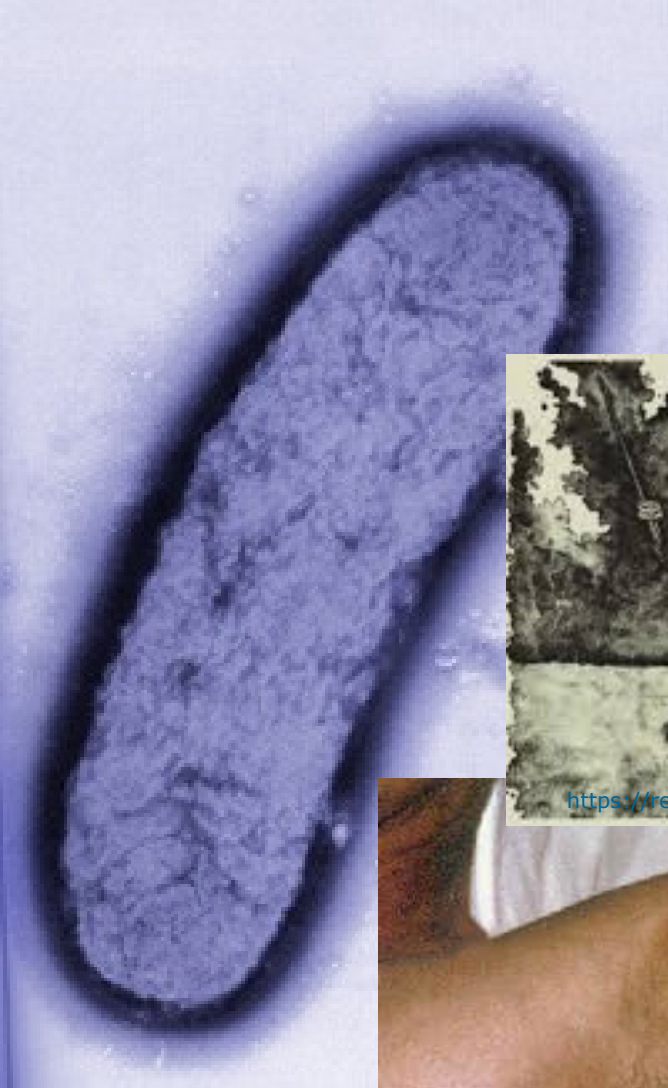


1a. Těžká systémová onemocnění způsobená enterobakteriemi

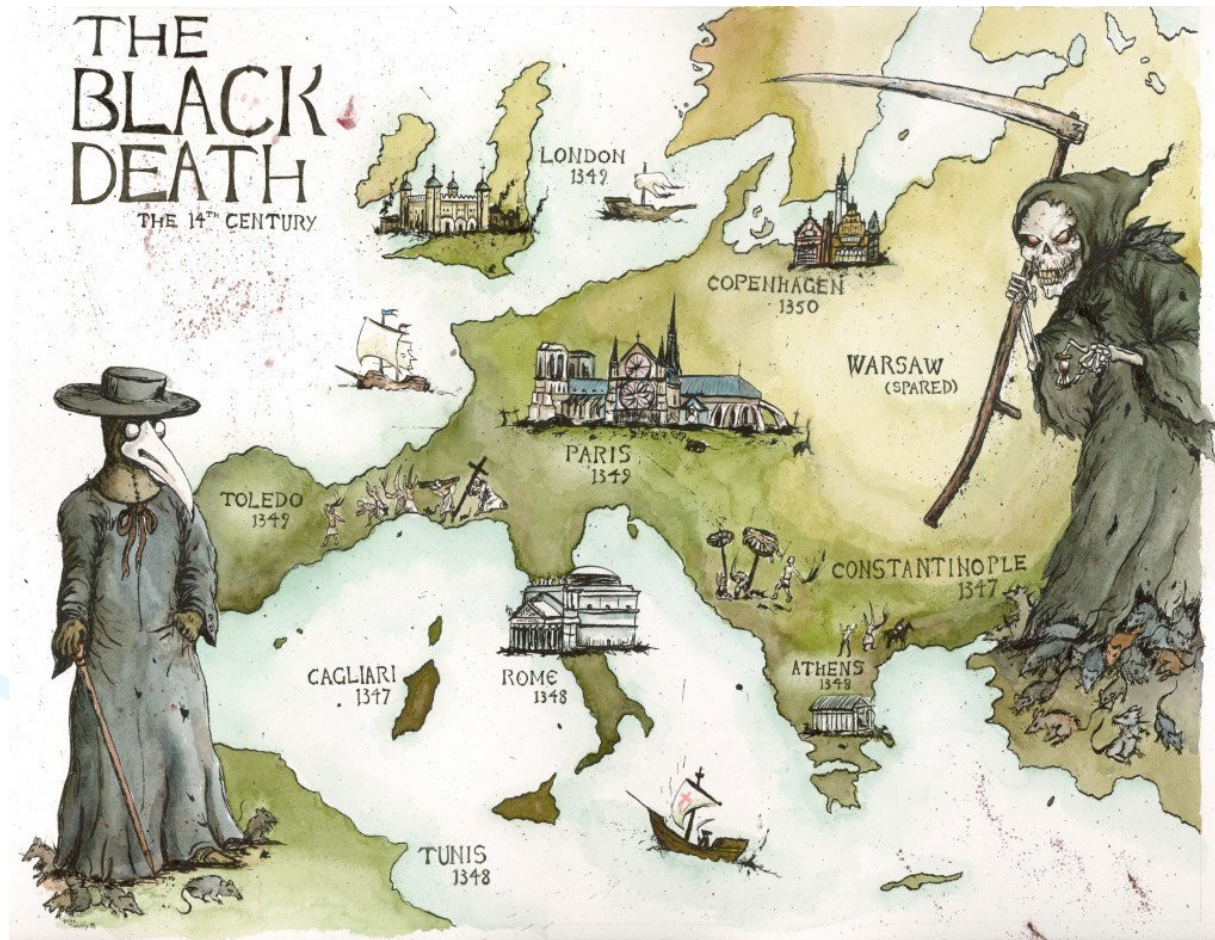
Yersinia pestis – původce moru

- **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*)



Černá smrt

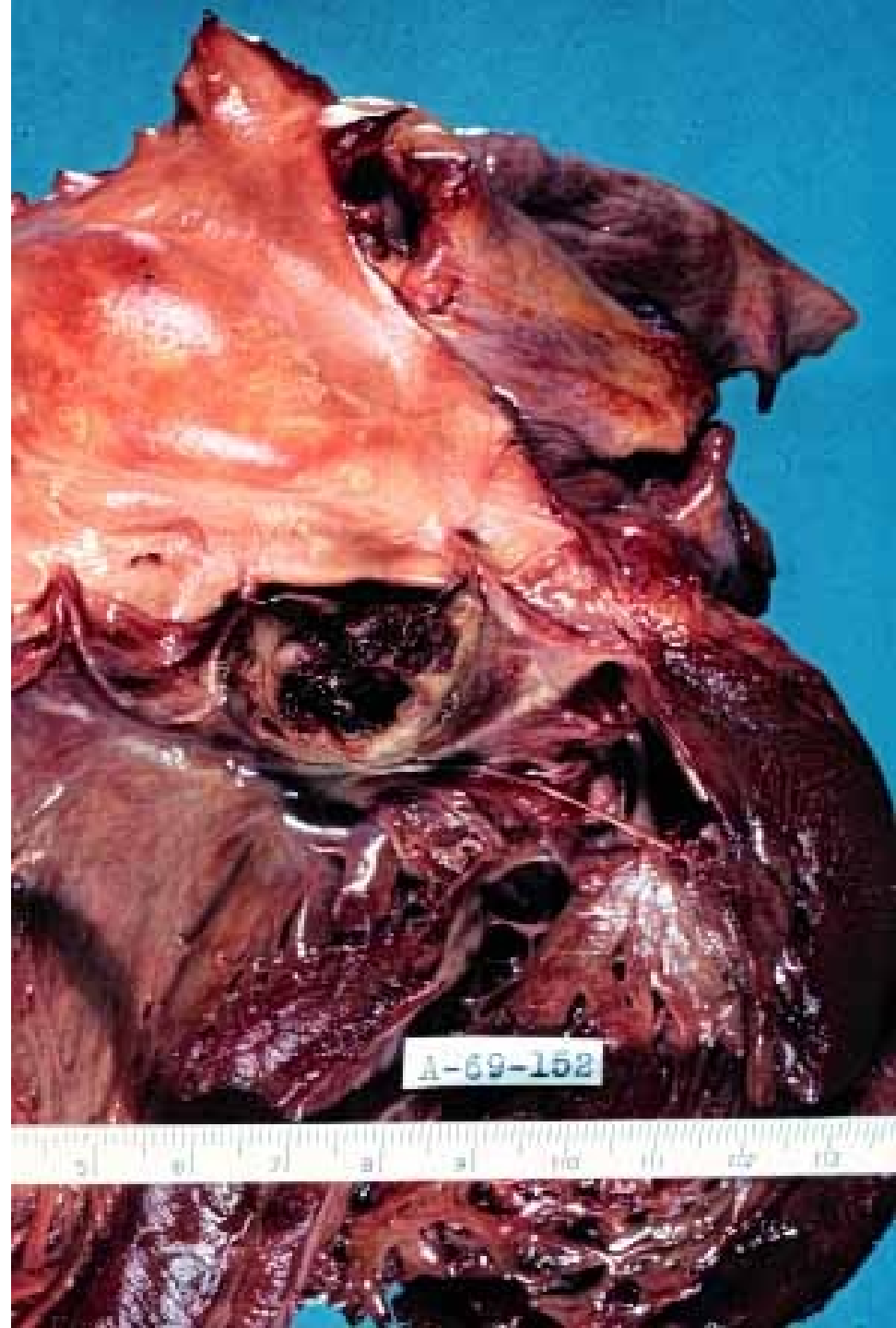


<http://kmit.in/emagazine/article/the-black-death>

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** - 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

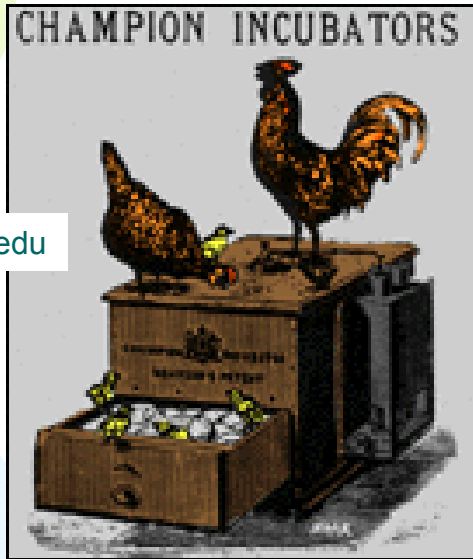
Bacilární úplavice

- ***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 cytoplazmě
- Napadené enterocyty podléhají nekróze
- *S. dysenteriae* sérotyp I produkuje shiga toxin

Salmonely a shigely – přenos

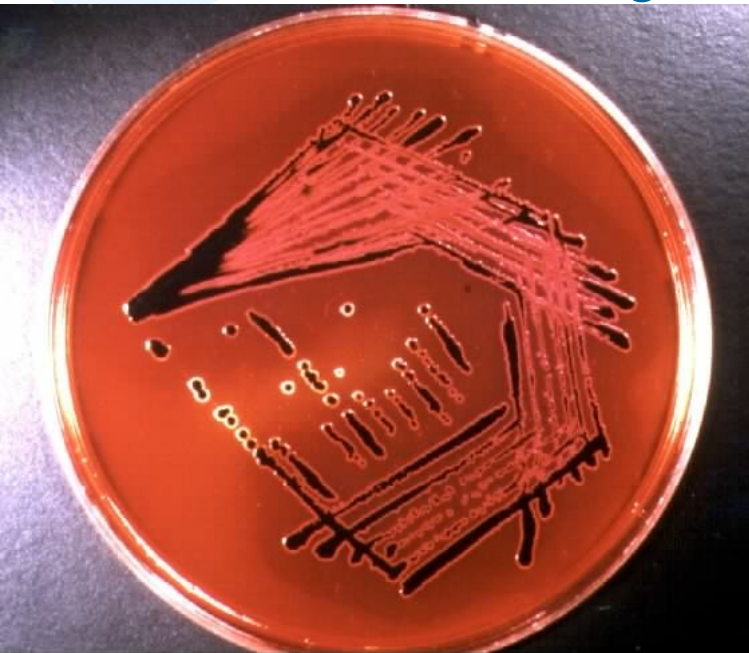
- I když salmonelóza i bacilární úplavice (=shigelóza) jsou přenášeny fekálně orální cestou, ve skutečnosti se možnosti jejich přenosu liší
- **Salmonely** potřebují velkou infekční dávku. Musí se proto pomnožit v potravině – vehikulu. Infekce bývají z potravin (tzv. alimentární infekce)
- **Shigelám** 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://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



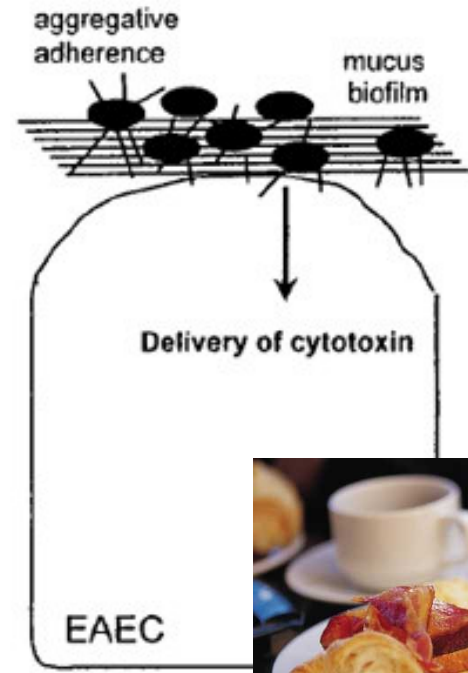
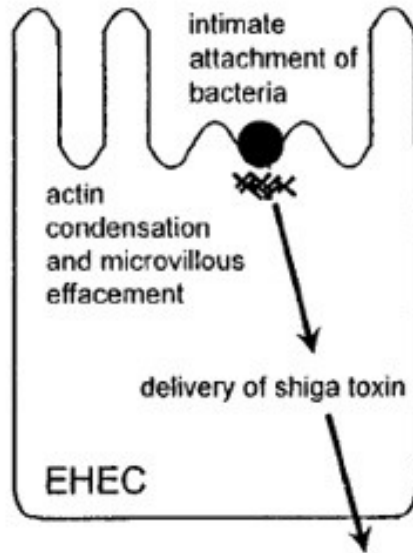
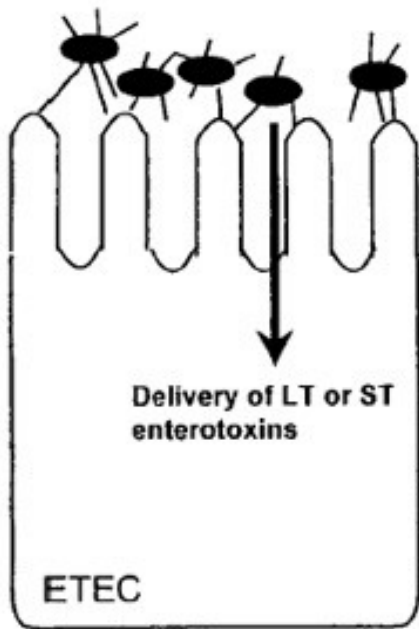
- *Escherichia coli* je jednou z nejdůležitějších **součástí střevní mikroflóry**, kde je zdraví prospěšná. Může však i škodit, a týká se to hlavně specifických kmenů. Patogenita je možná jak ve střevě, tak i mimo střevo
- Infekce močových cest
 - uropatogenní ***E. coli*** (**UPEC**)
 - nejen UPEC

Střevní patogenita *Escherichia coli*

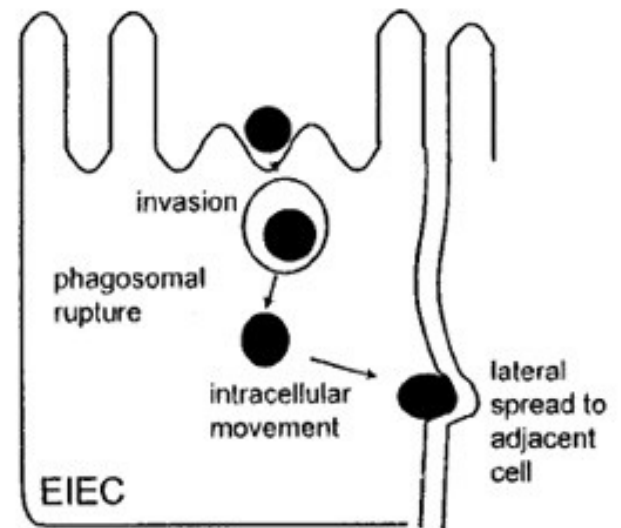
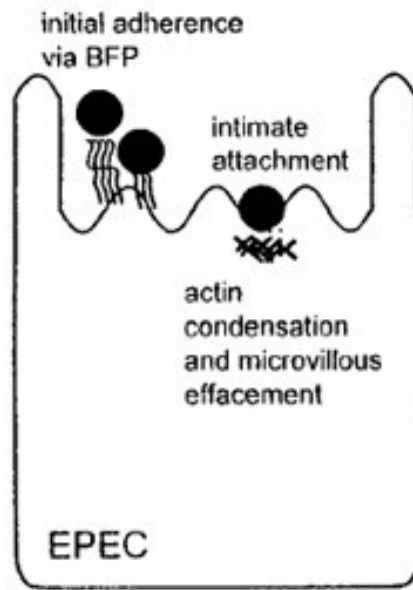
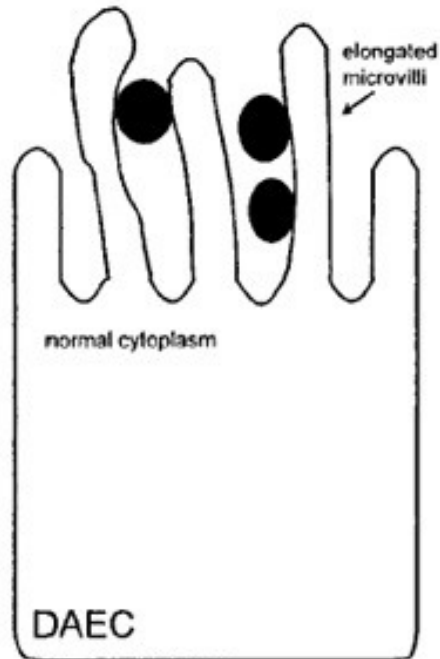
- Některé kmeny *E. coli* způsobují **průjmy novorozenců a kojenců**. Označují se jako **enteropatogenní kmeny *E. coli* (EPEC)** či jako kmeny **dyspeptické**
- Jiné kmeny *E. coli*, označované jako **enterotoxické (ETEC)** způsobují **průjmy cestovatelů**
- Další jsou **enteroinvazivní (EIEC)**
- Nejzávažnější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

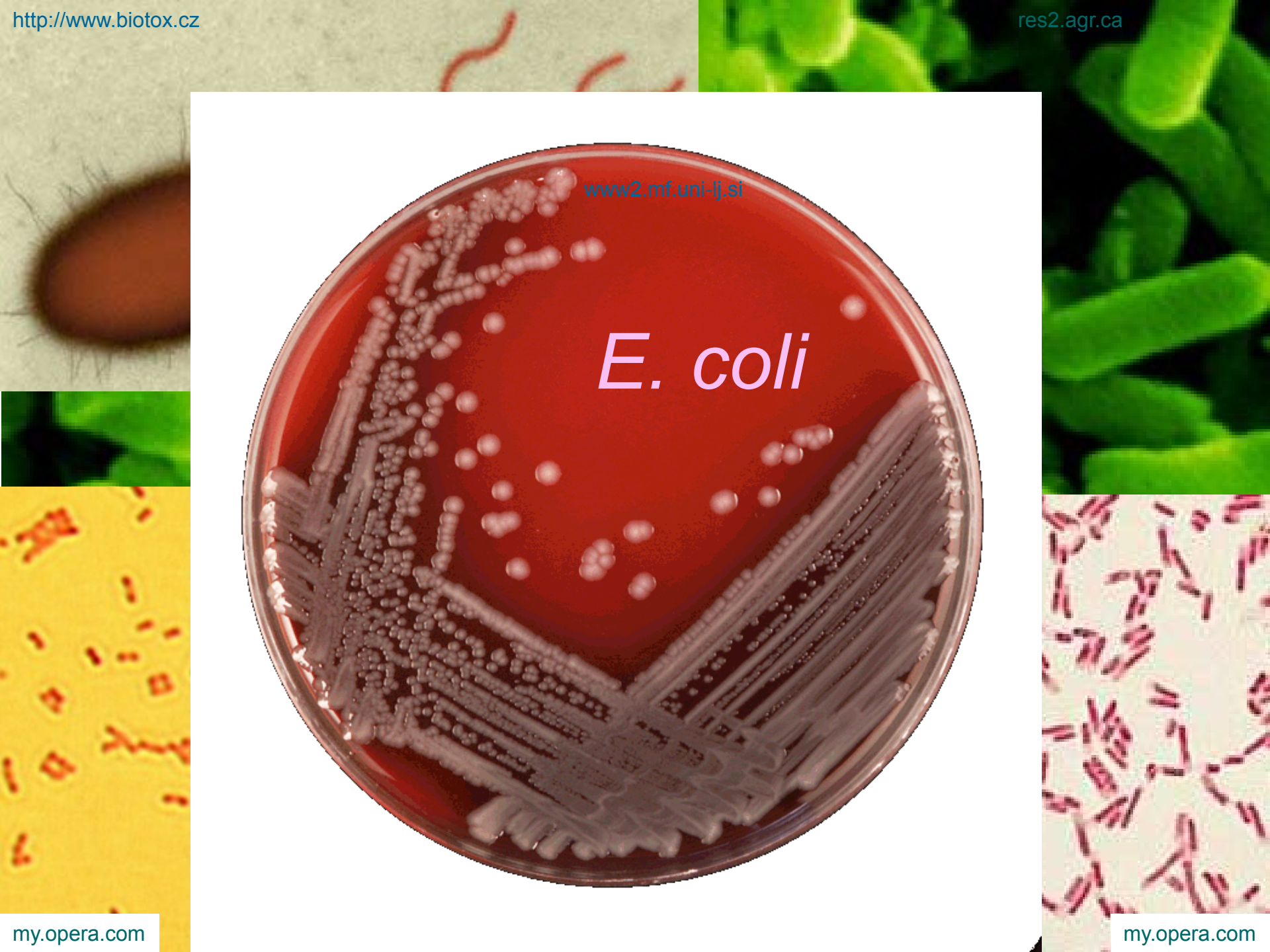
Přehled patogenních typů *E. coli*

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, EAggEC	adherující, agregující	vzácně	děti, někdy i dospělí	chronické průjmy



<http://www.frankpasternak.com>





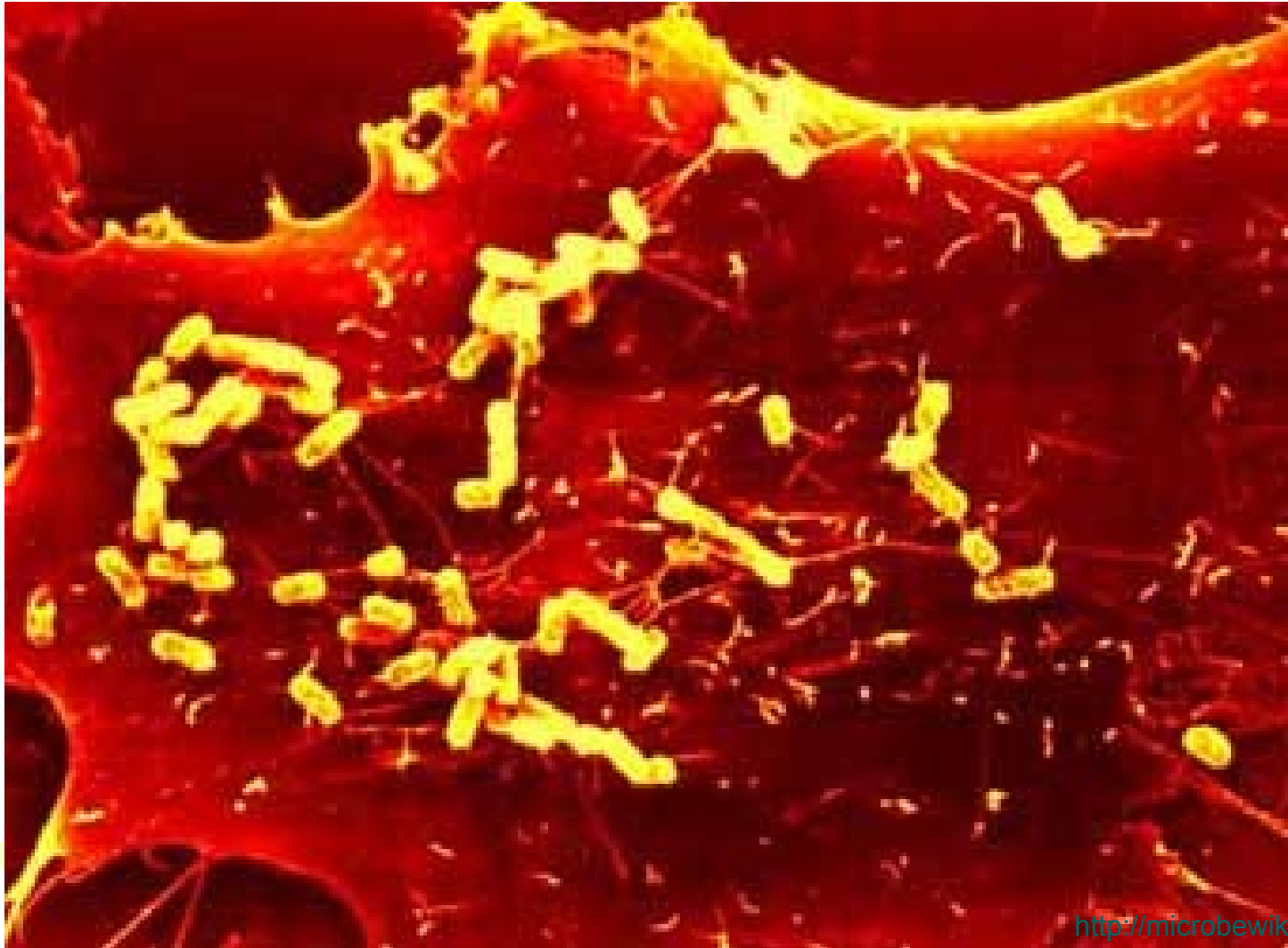
www2.mf.uni-lj.si

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



Další potenciálně (podmíněně) patogenní enterobakterie I

- ***Klebsiella, Enterobacter a Cronobacter***
 - - 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
- ***Citrobacter*** je občasným původcem močových i jiných infekcí.
 - může být zaměněn za salmonelu, odlišíme ho pozitivním testem ONPG

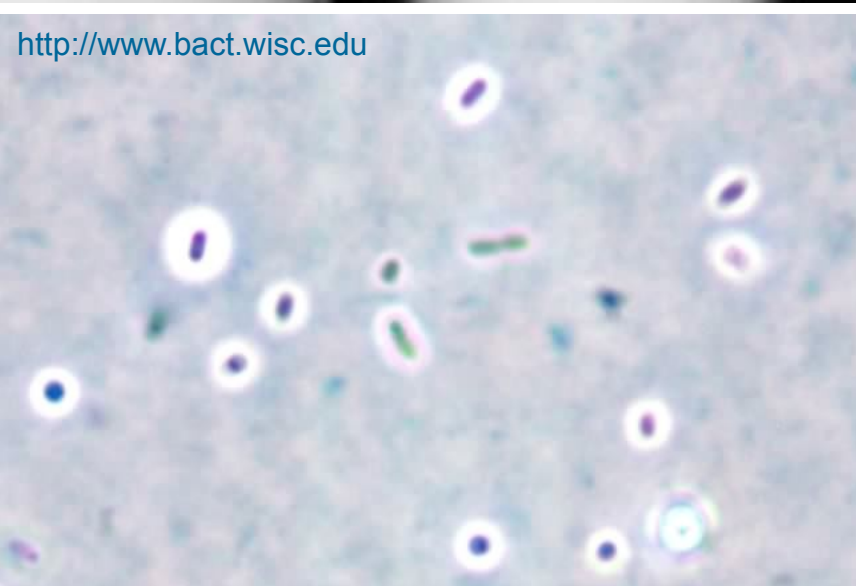
Další potenciálně patogenní enterobakterie I

- ***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

www.brown.edu



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)

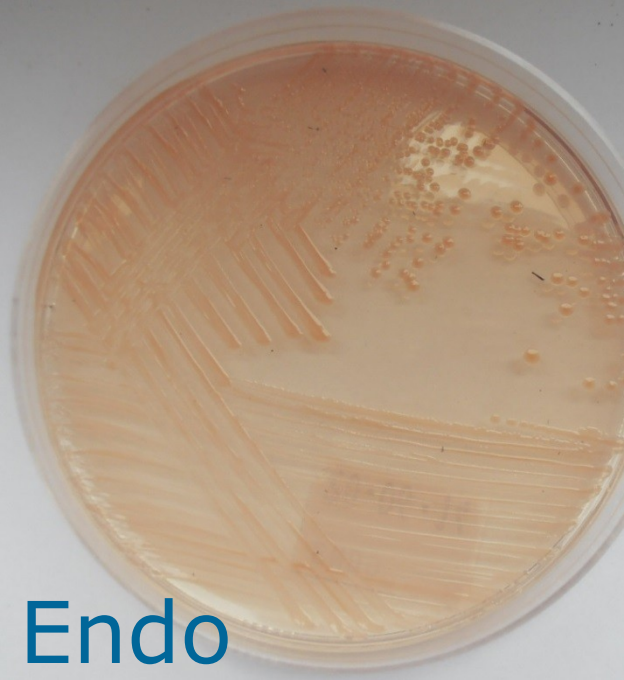
Enterobakterie – diagnostika

- 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

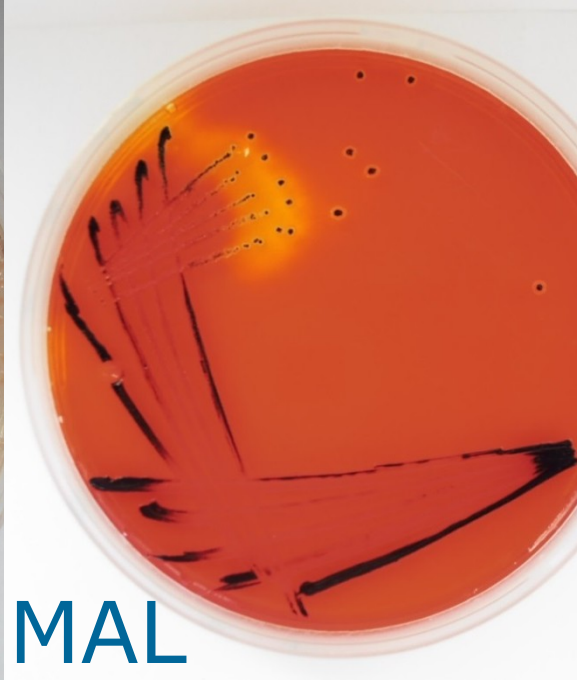
Štěpení laktózy

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“.

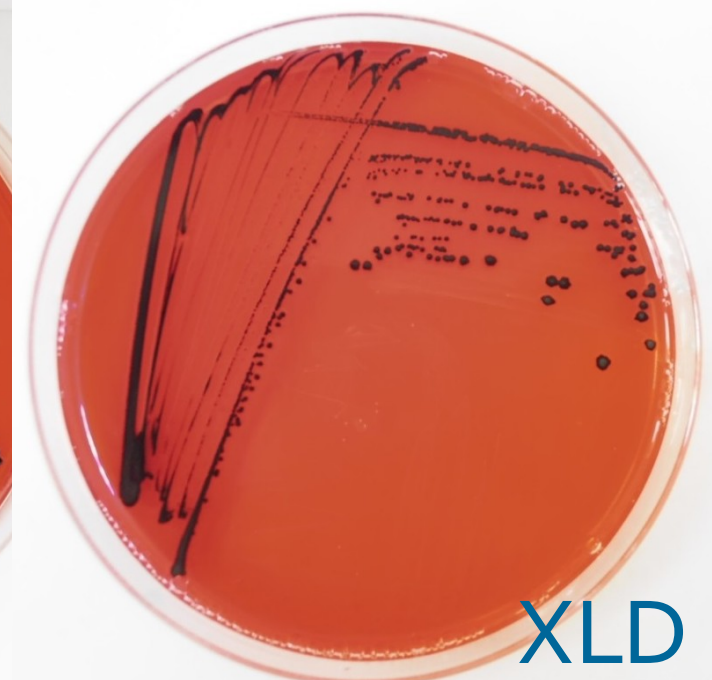




Endo



MAL



XLD



Salmonella

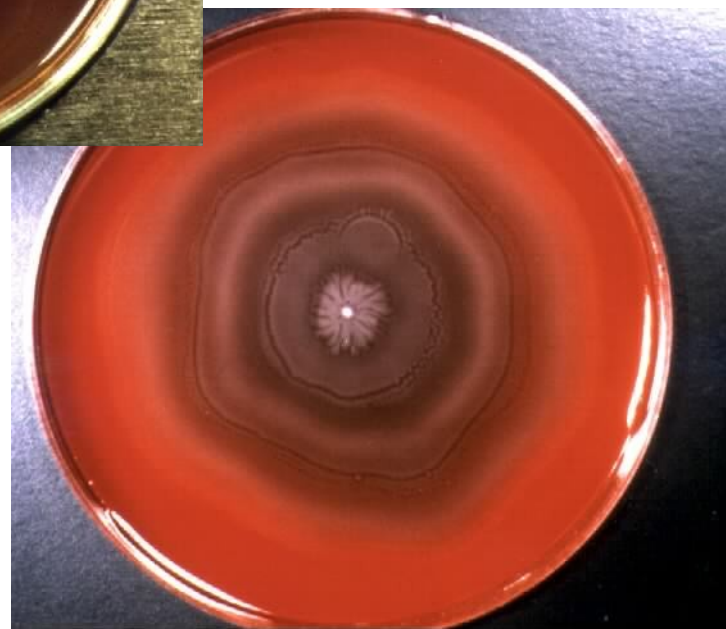


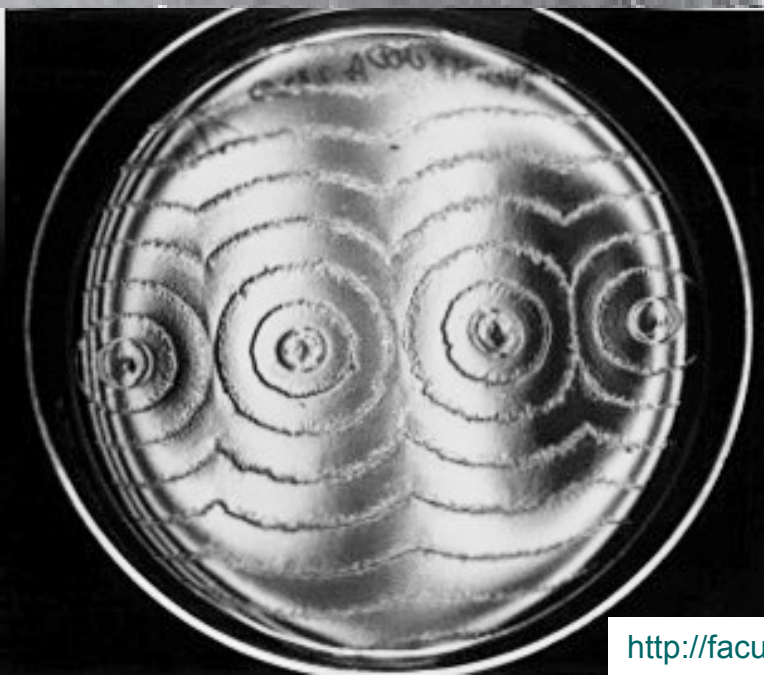
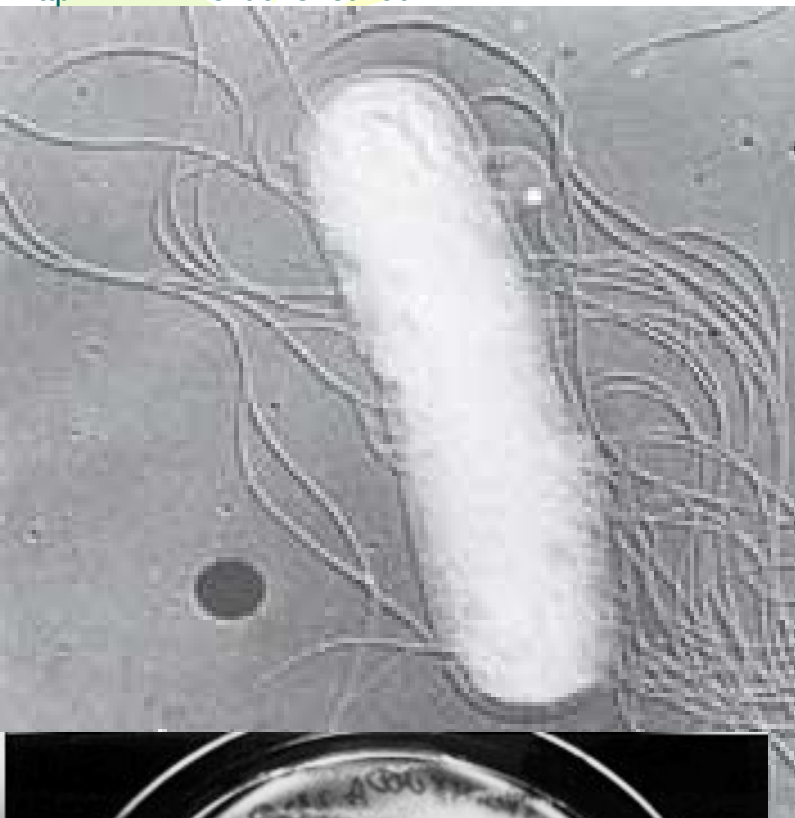
Proteus mirabilis, *P. vulgaris* (dole)



www.medmicro.info

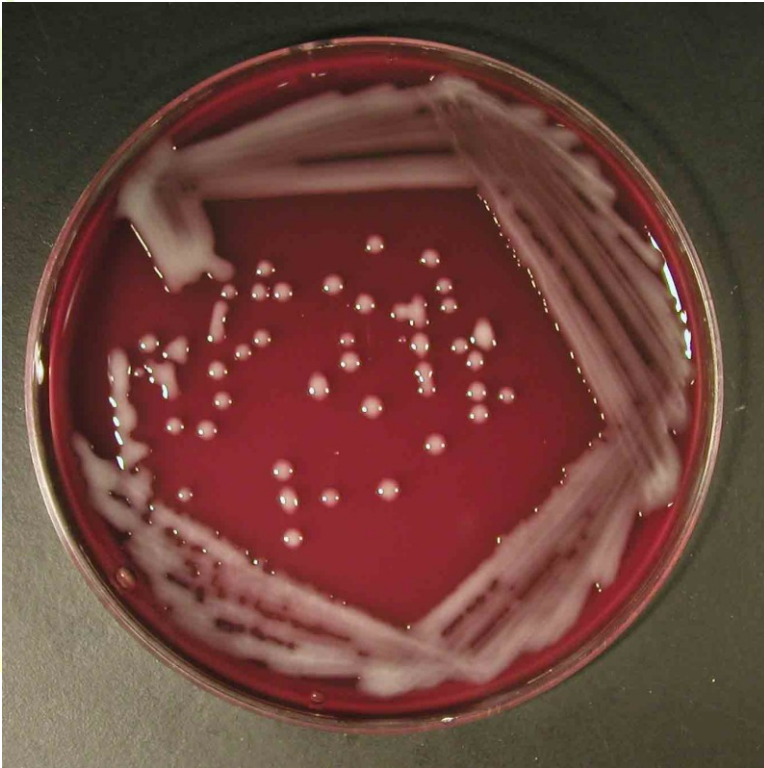
Pro protey je typické, že nerostou jen v místě inokulace, ale šíří se po povrchu agaru do stran (plazivý růst, Raussův fenomén, také fenomén příbojové vlny)





Proteus

Klebsiely a escherichie

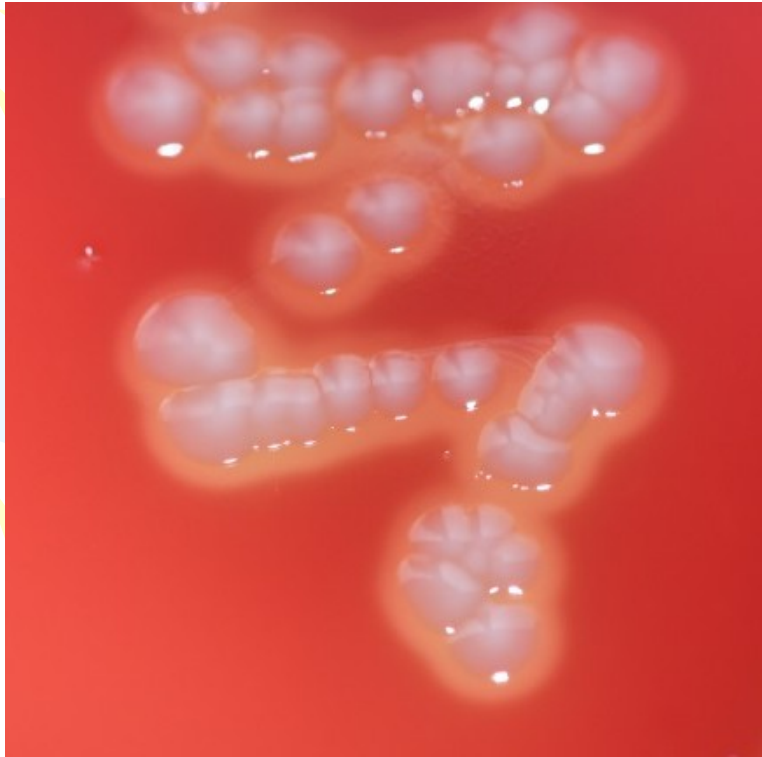


Kolonie klebsiel na KA jsou hlenovitější a bělejší než kolonie *E. coli*...



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

Escherichia coli



Pokud escherichia 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)

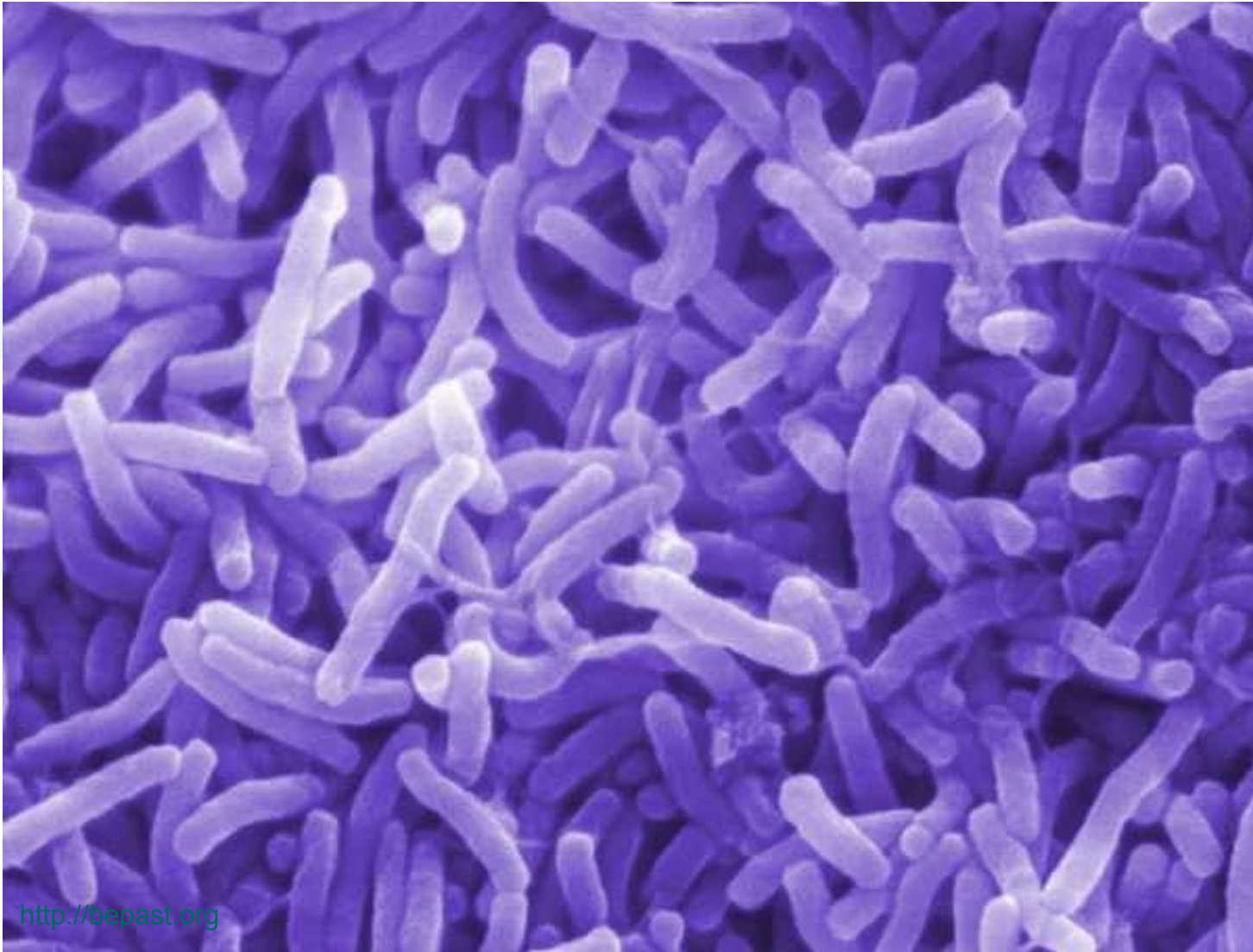
Antibiotikum	Zkratka	Referenční zóna
Ampicilin (rozšír. penic.)	AMP	17 mm
Cefalotin (CS 1 gen)	KF	18 mm
Ko-trimoxazol (směs)	SXT	16 mm
Nitrofurantoin (nirofuran)	F	17 mm
Ciprofloxacin (chinol 3G)	CIP	21 mm
Kyselina oxolinová*(ch1G)	OA	19 mm
Doxycyklin (tetracyklin)	DO	16 mm

*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 G⁻ tyčinek blízká enterobakteriím
 - Liší se **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

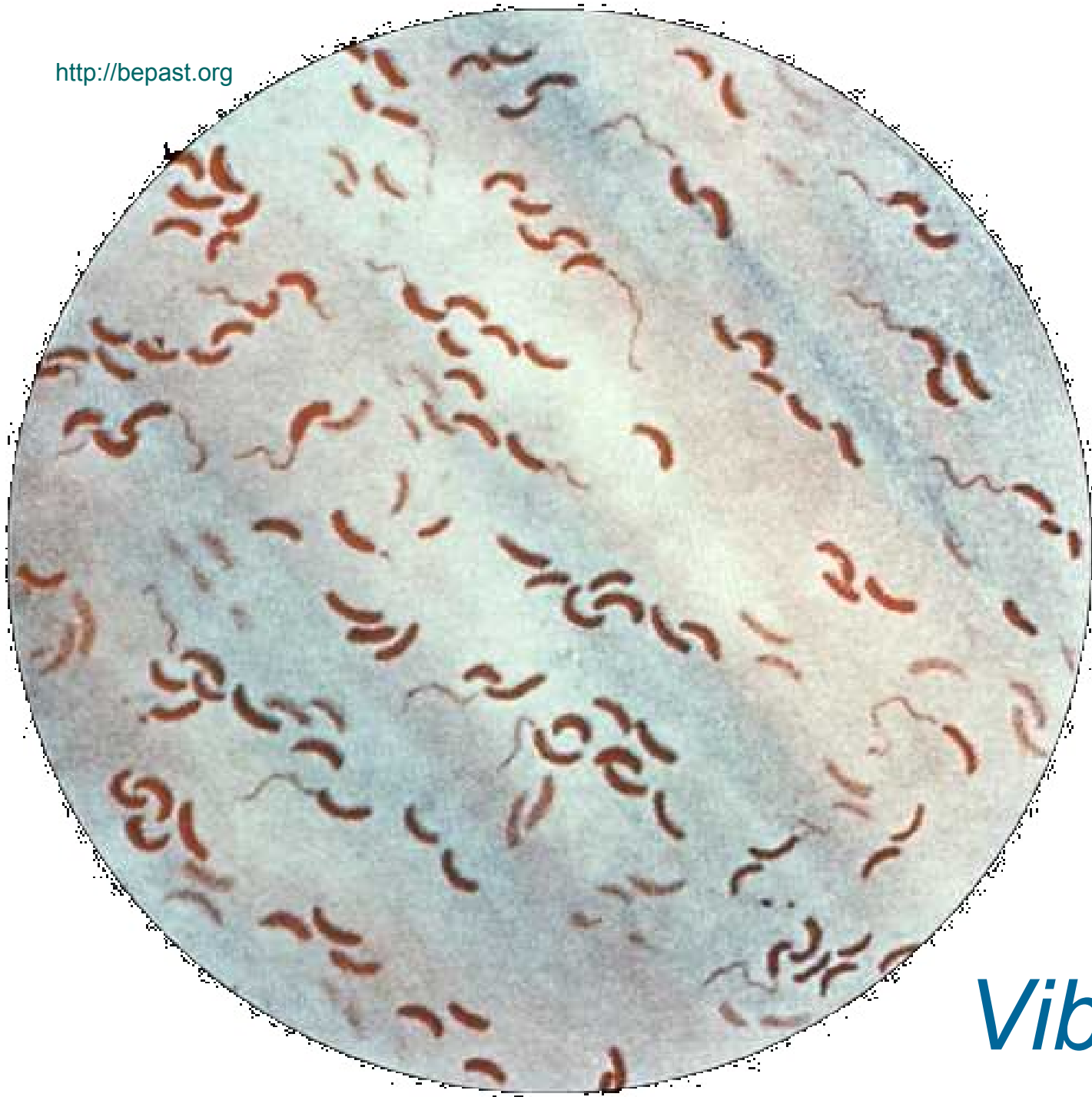
Přenos infekce

- 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*

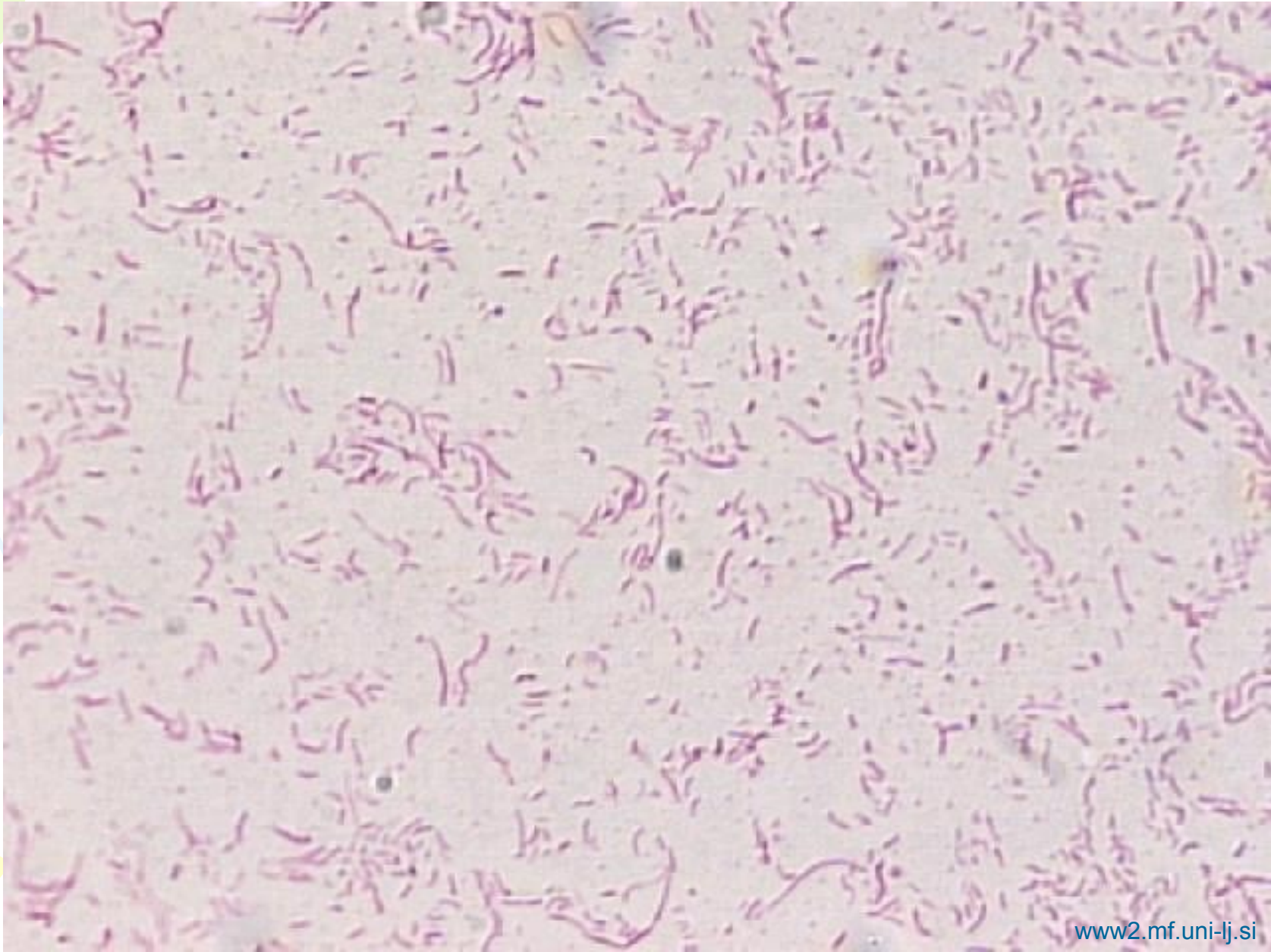
- Provádí se podobně jako u enterobakterií, ale jsou oxidáza pozitivní.
- **Mikroskopicky** jsou vibria pohyblivé, zahnuté tyčinky
- Používá se také **speciálních půd**, například alkalická peptonová voda a TCŽS (Thioglykolát, cystein, žlučové soli)
 - Používá se obdobných biochemických testů, jako u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

<http://bepast.org>

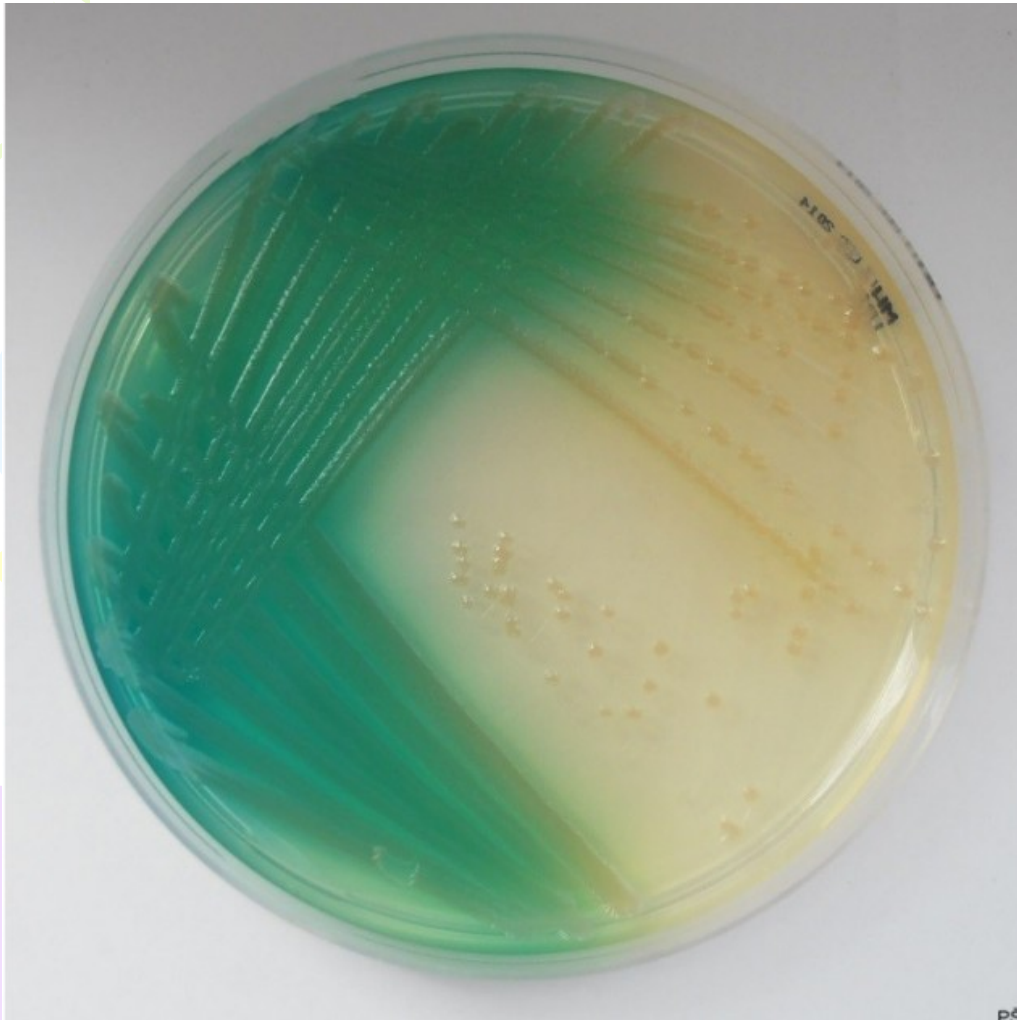


Vibrio sp.

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

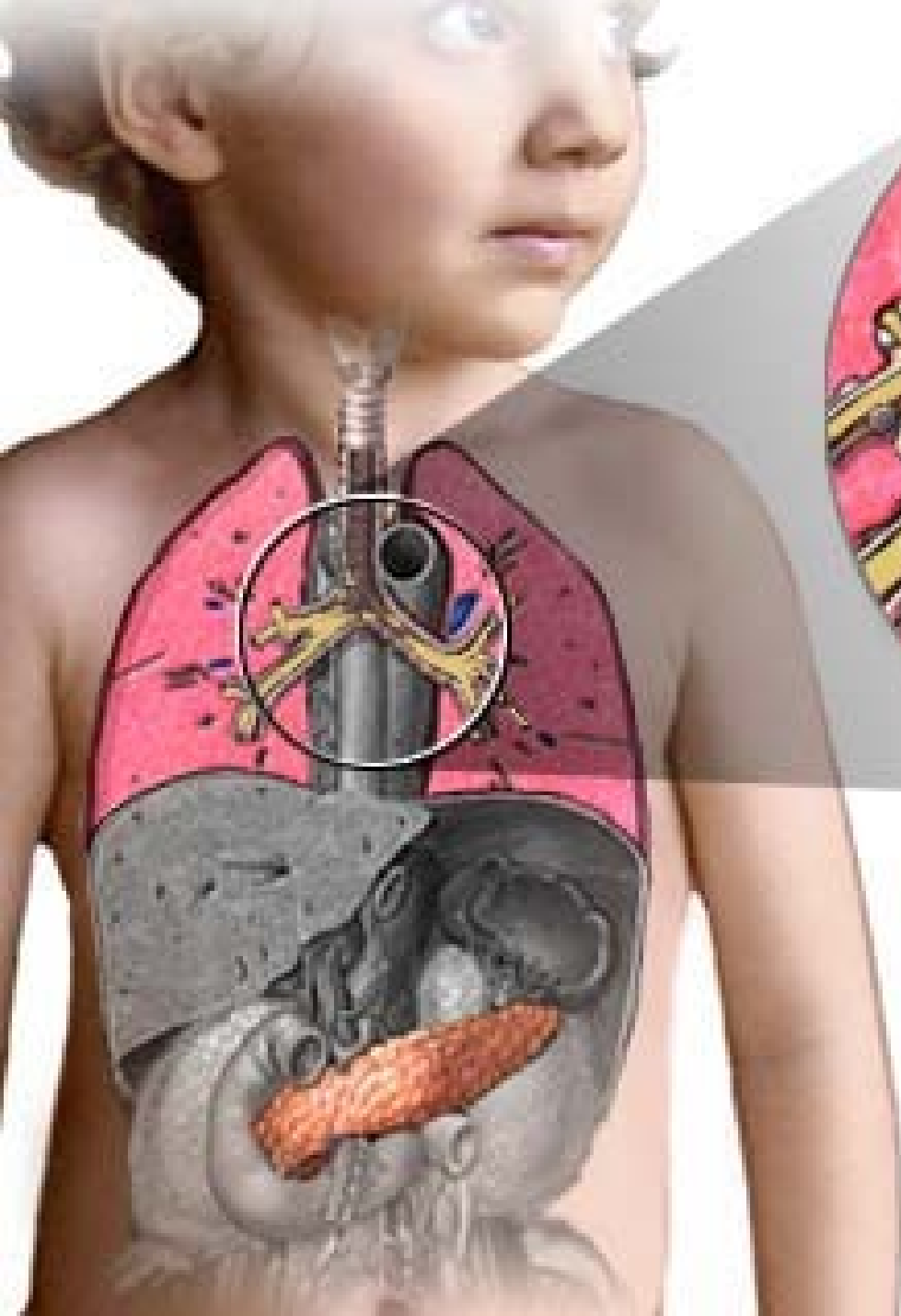
- Jak víte, klinicky významné bakterie používají zpravidla jeden ze dvou typů metabolismu: fermentaci a aerobní respiraci.
- *Escherichia coli*, která má dost živin, ale málo kyslíku (i když jiných plynů si užije dost 😊) preferuje fermentaci glukózy i jiných cukrů. Je fakultativně anaerobní
- Naopak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



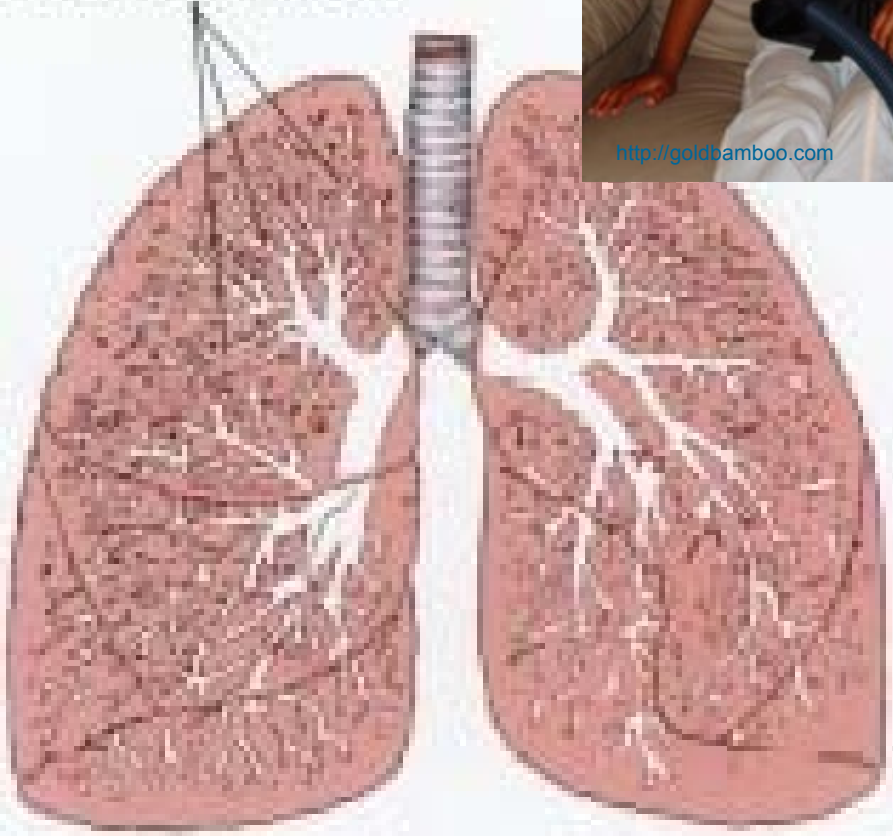
Cystic fibrosis is a hereditary disorder characterized by lung congestion and infection and malabsorption of nutrients by the pancreas



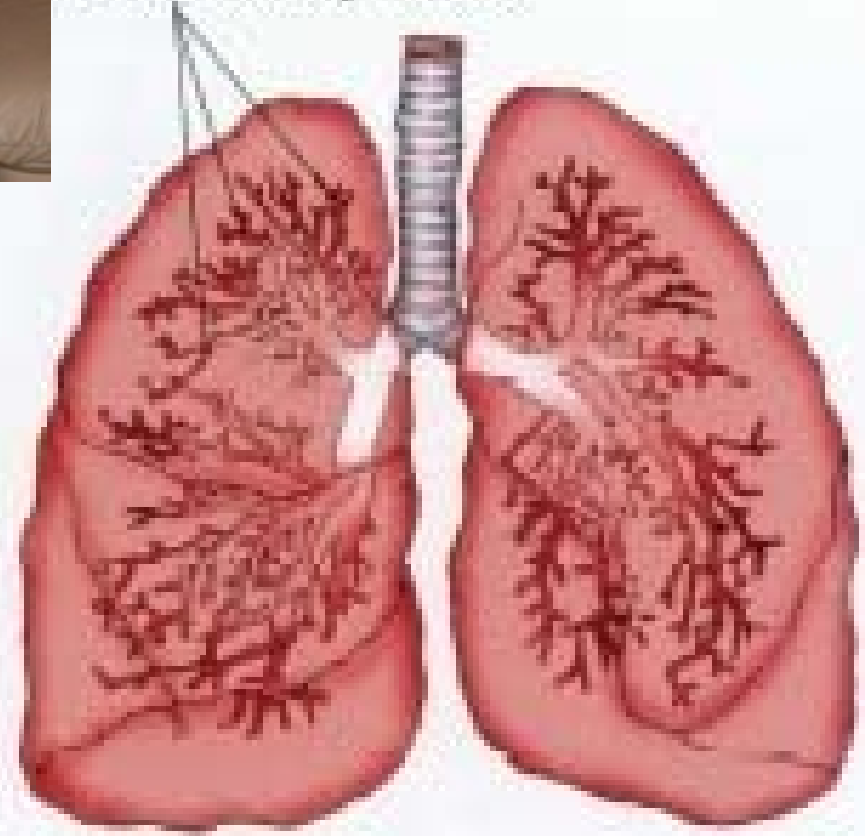
Unobstructed
bronchial tubes



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

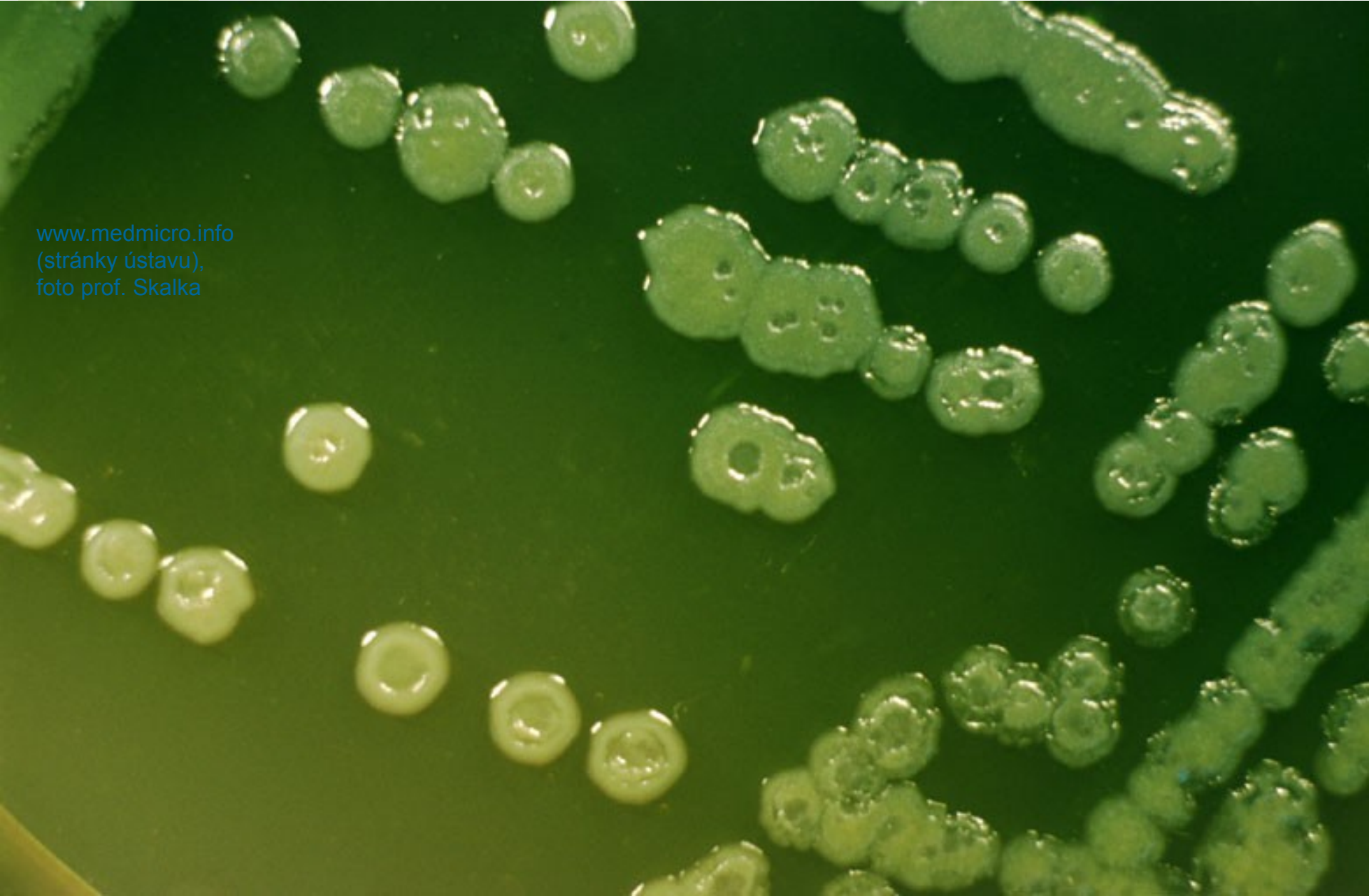
U oslabených osob
mohou způsobovat
např. i zánět
nehtového lůžka.



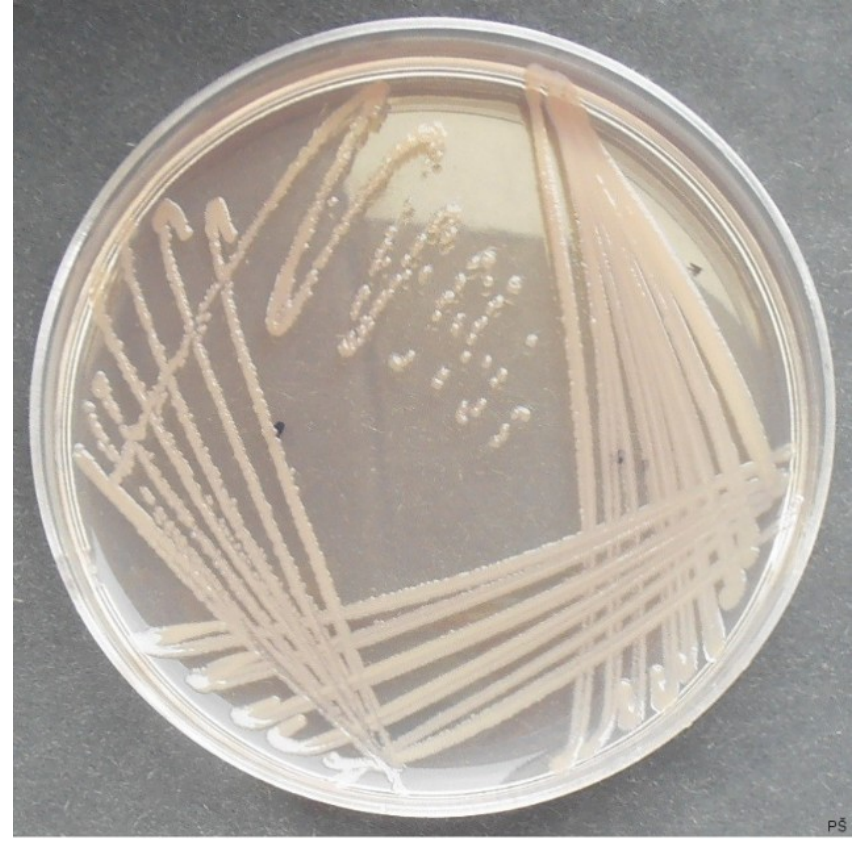
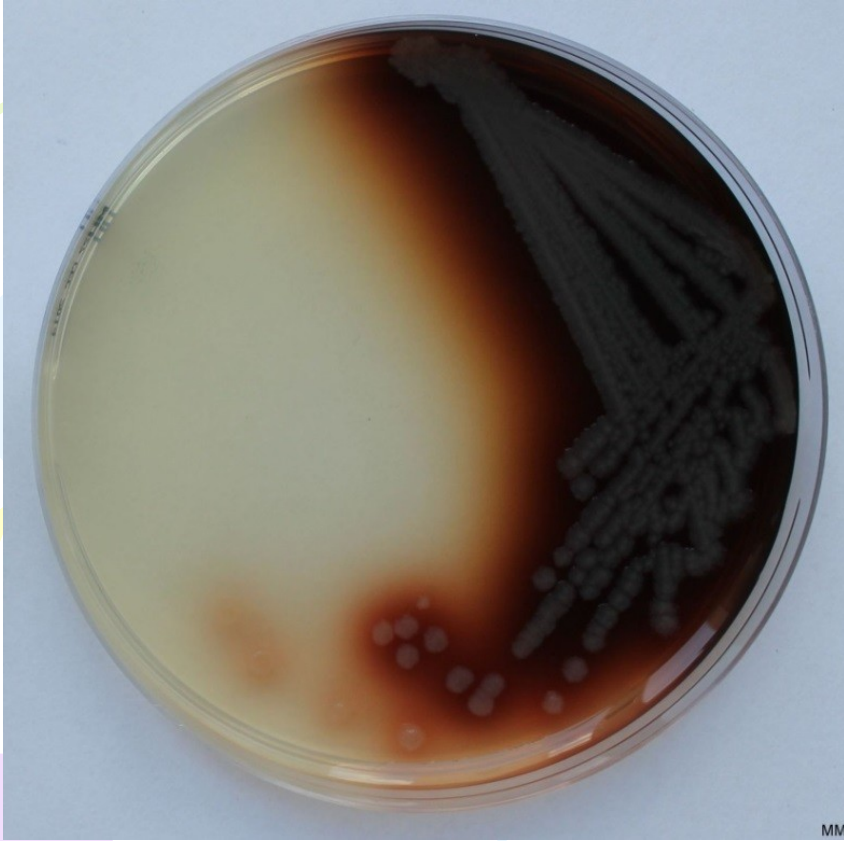
www.kvarts.is

Pseudomonas aeruginosa na MH

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



Pseudomonas aeruginosa



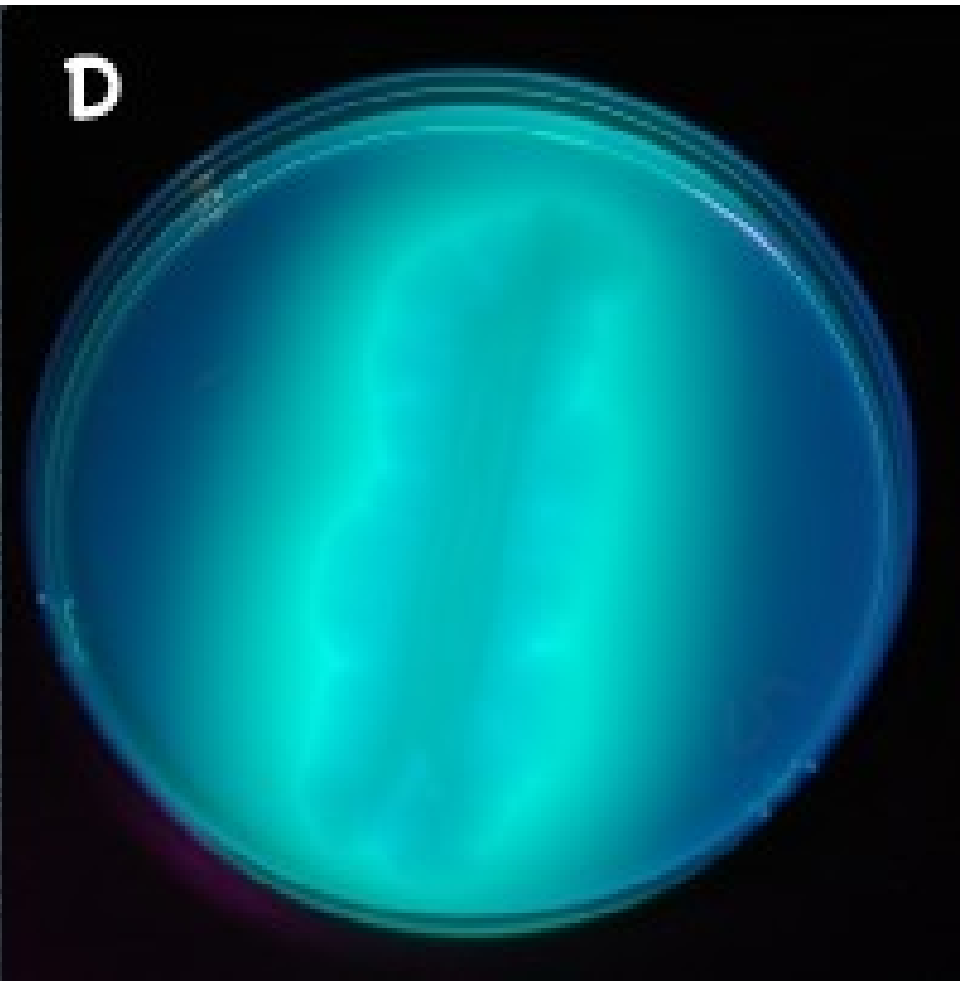
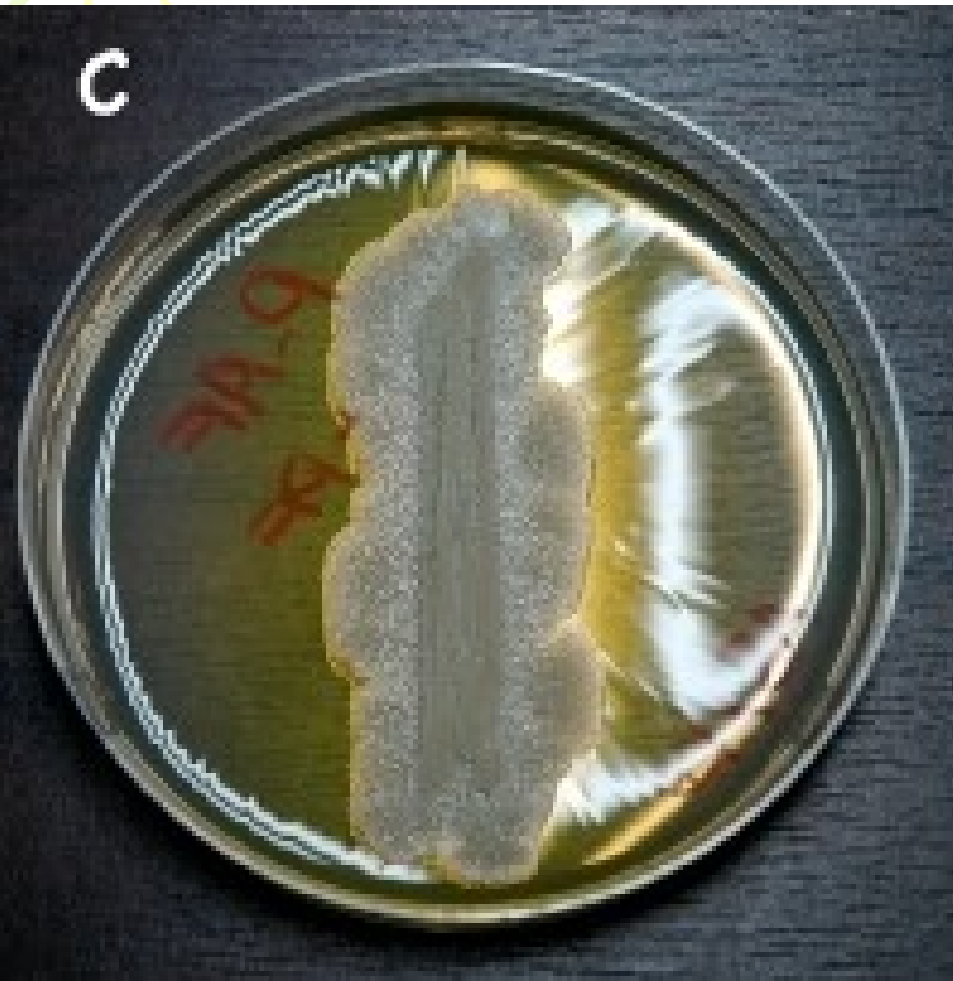


textbookofbacteriology.net

Výjimečný kmen
pseudomonády
s modrým
pigmentem

Další „nefermentující“: *Pseudomonas fluorescens*

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

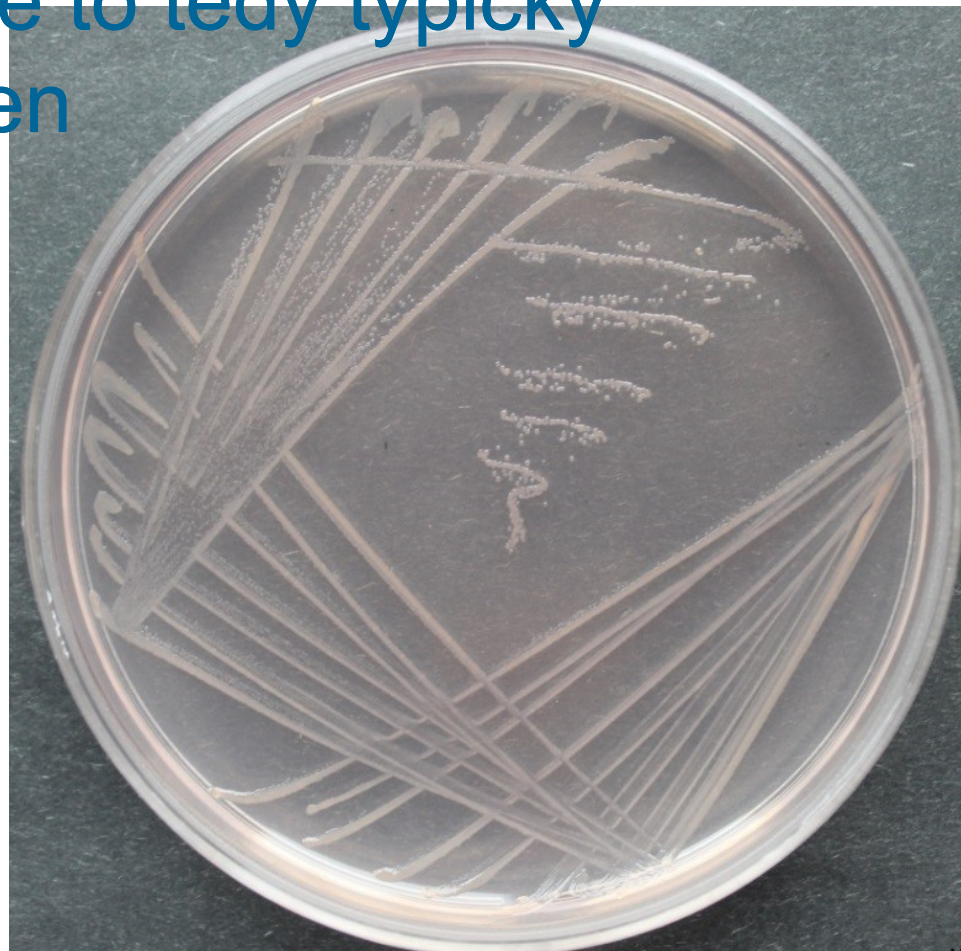


Burkholderia cepacia

Burkholderia **cepacia**

způsobuje hnilobu cibule

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



Burkholderia pseudomallei

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

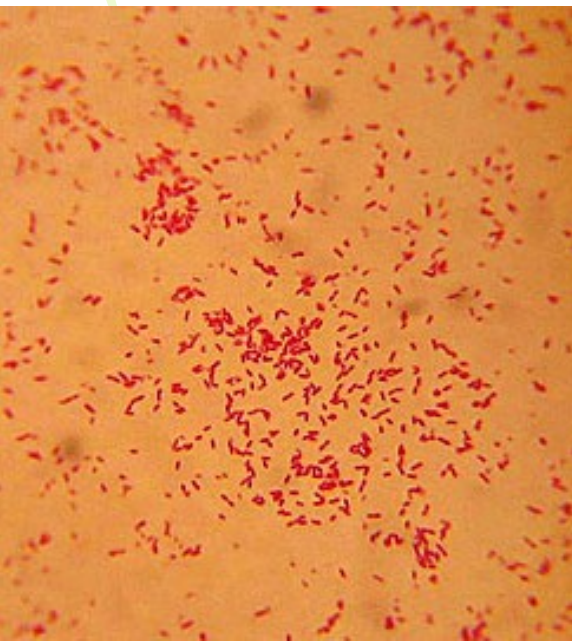


Stenotrophomonas maltophilia

<http://www.scielo.cl>

<http://clinicalmicrobiology.stanford.edu>

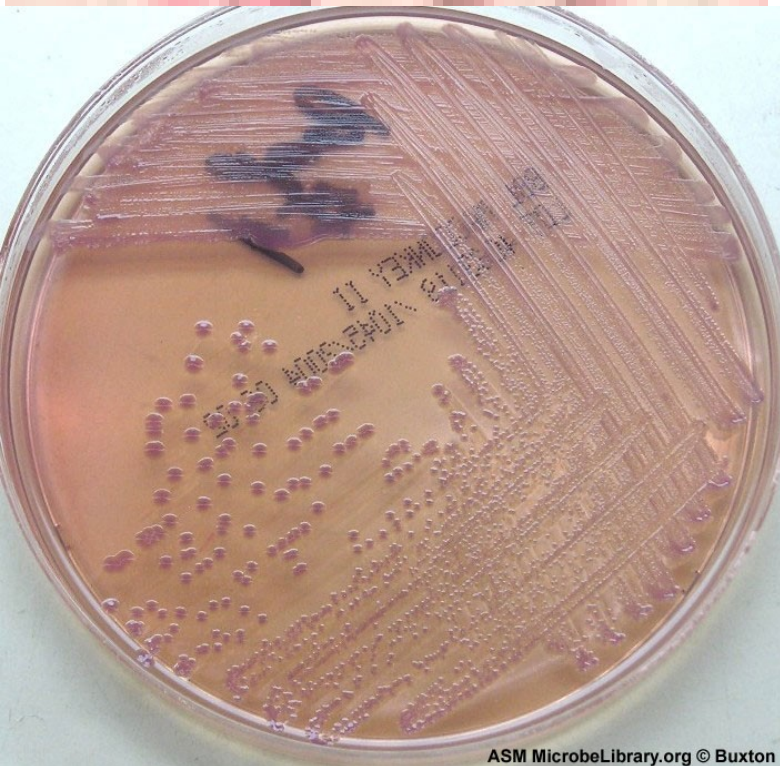
<http://www.microbelibrary.org>



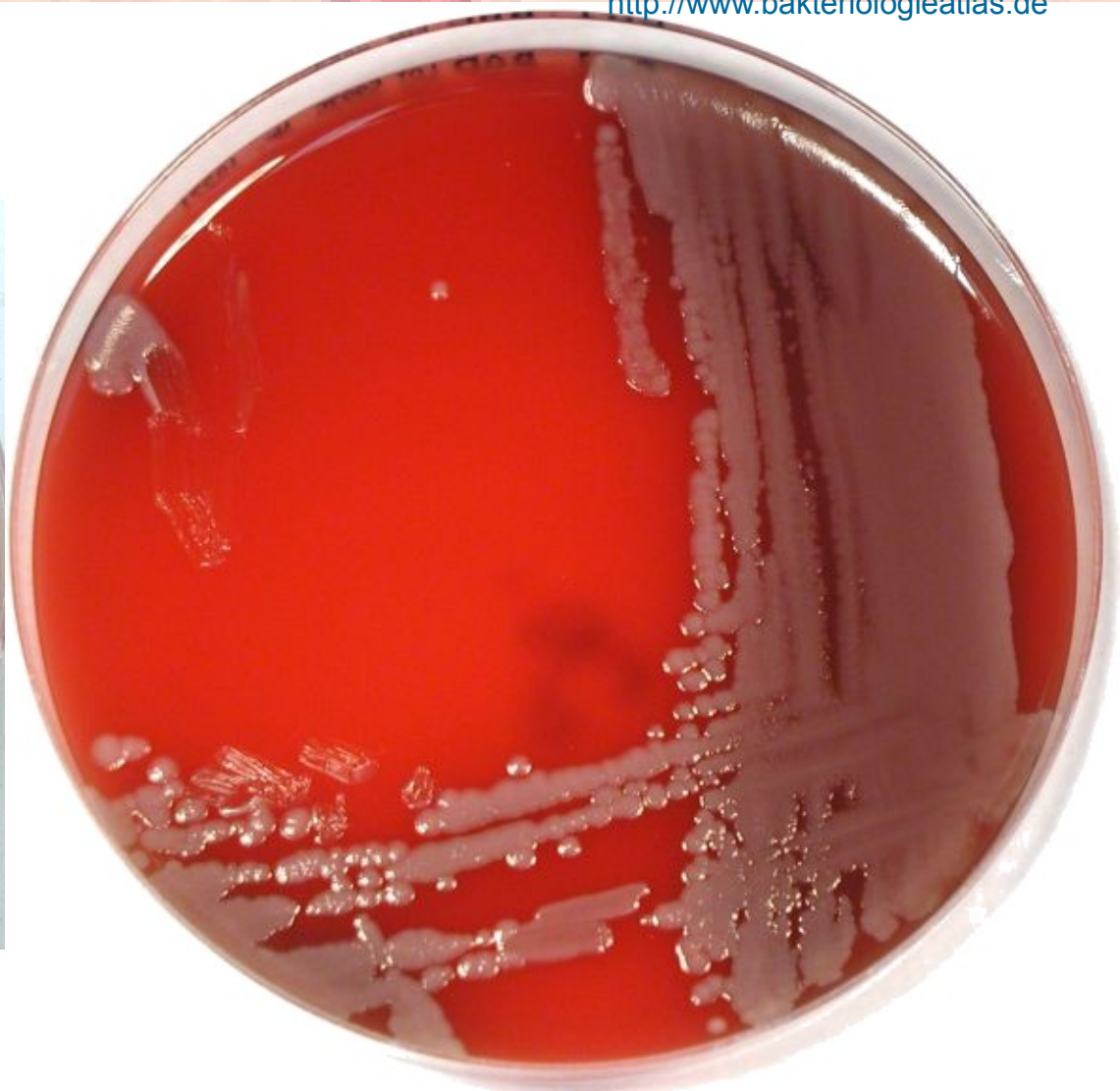
ASM MicrobelLibrary.org © Buxton

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>



<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

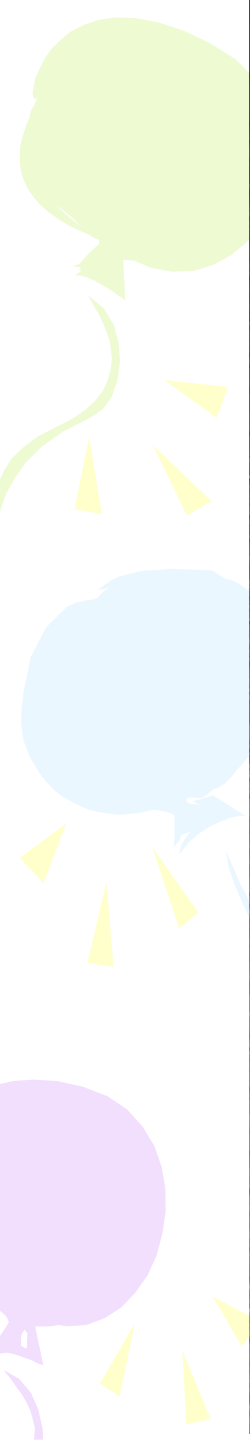
- **Pseudomonády** se zpravidla poznají:
 - Mají typickou **vůni** (mladé kultury)
 - Tvoří **pigmenty**, nejčastěji **zelené**, někdy modré či rezavé. Nejlépe jsou viditelné na MH, ale trochu i na KA či Endově agaru
 - Mají pozitivní **oxidázu**
 - MALDI, biochemicky,
- **Ostatní nefermentující** rozlišit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

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
- I na ATB testech pseudomonáda **barví MH agar na zeleno**

Příklady některých používaných antibiotik

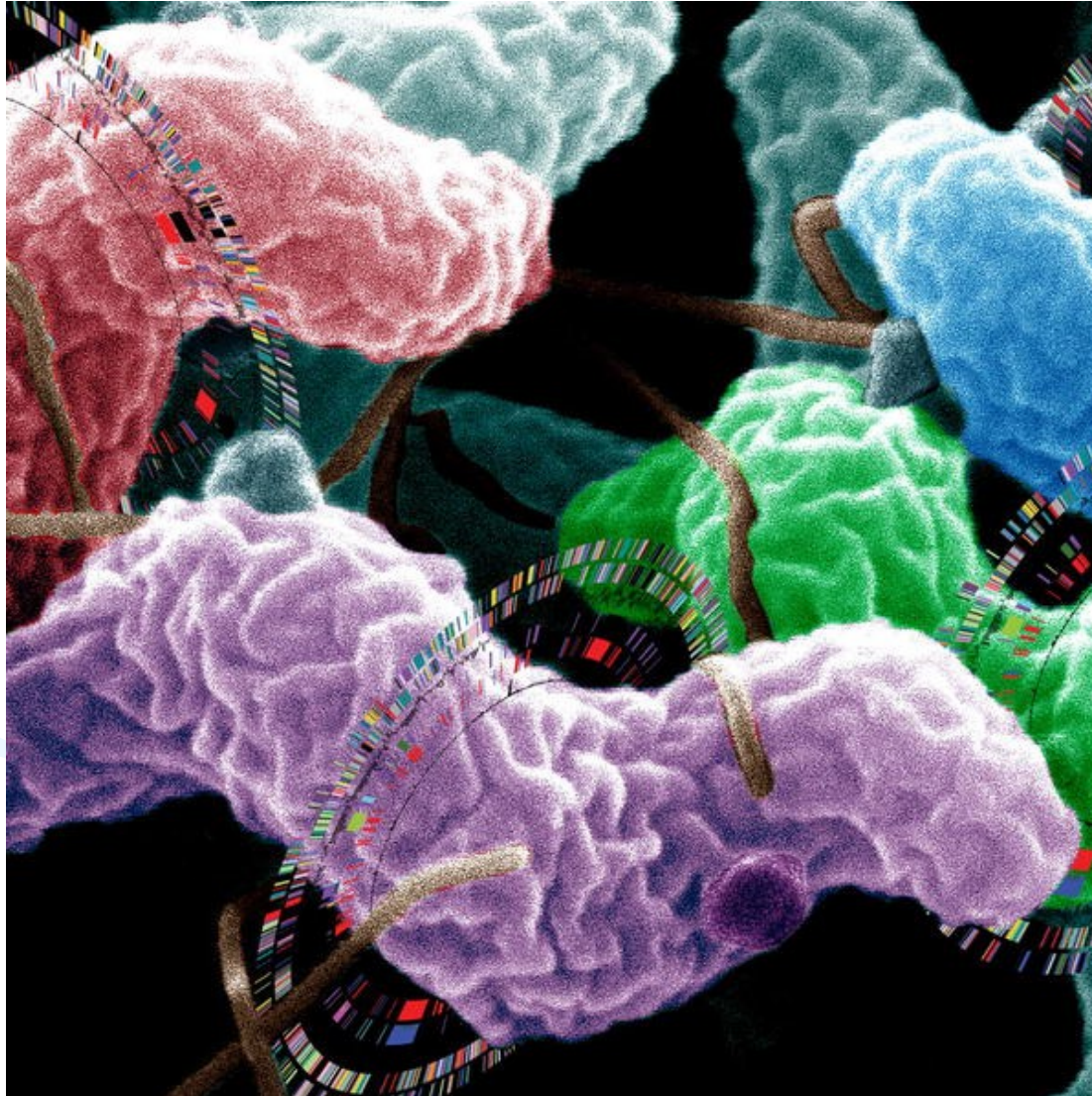
Antibiotikum	Zkratka
Piperacilin + tazobaktam (penicilin)	TZP
Gentamicin (aminoglykosid)	CN
Imipenem (karbapenem)	IMP/IMI
Ciprofloxacin (chinolon 3. generace)	CIP
Ceftazidim (cefalosporin 3. generace)	CAZ
Colistin	CT



Šlo by to i E-testem

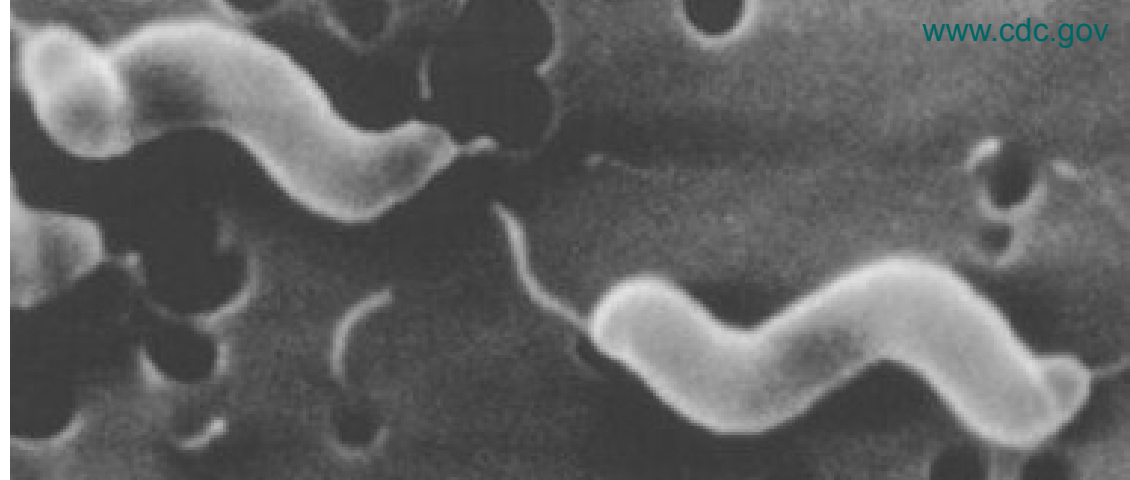


4. Kamylobakter a helikobakter



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



- ***Campylobacter jejuni***, gramnegativní zahnutá tyčinka. Nepatří mezi enterobakterie, ale kampylobakterióza je svým průběhem a závažností srovnatelná se salmonelózou
- Další zástupce např. *C. coli*

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...



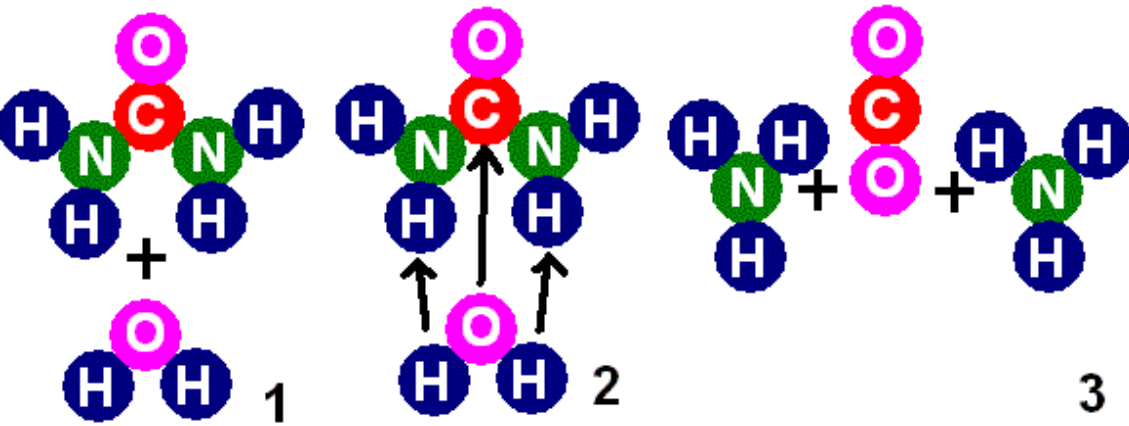
- **Peptické (tedy gastrické či duodenální) vředy** jsou onemocněním, které vzniká souhrou více příčin. Takovým onemocněním říkáme obvykle **multifaktoriální**.
- Dodnes se nejen mezi praktickými lékaři, ale i mezi odborníky liší názory na podíl bakterie ***Helicobacter pylori*** na vředové onemocnění.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

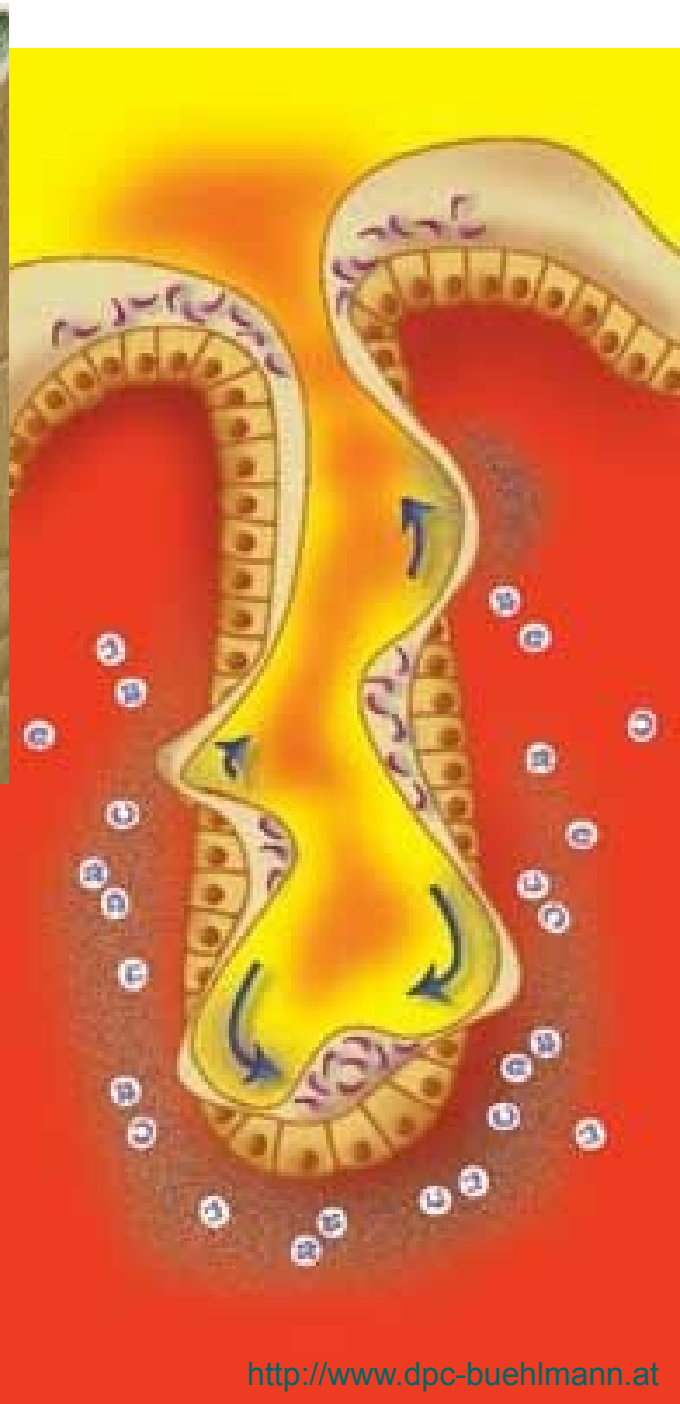
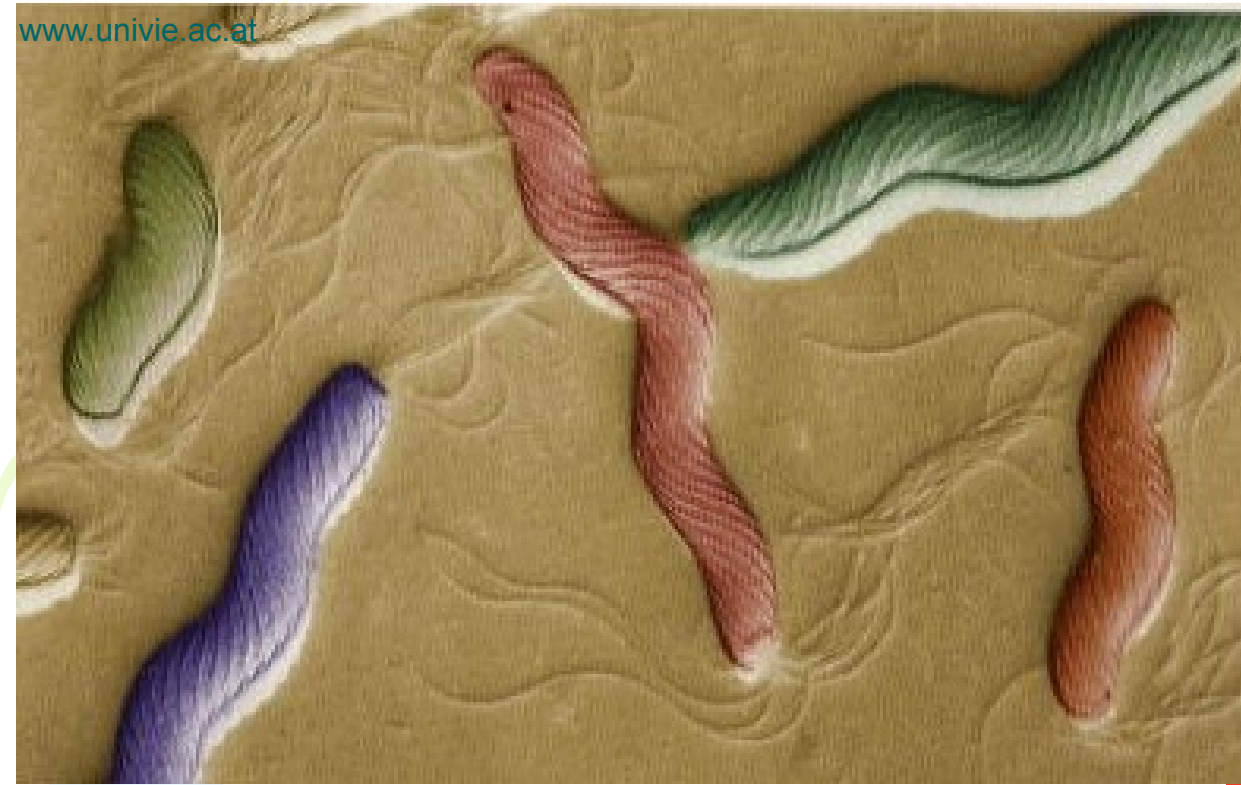
- **Upravuje si své mikroprostředí** – alkalizuje si ho, štěpě močovinu
- **Močovina** se rozštěpí na kyselý **oxid uhličitý**, který vyprchá, a zásaditý **čpavek**, který zůstane a alkalizuje prostředí
- Štěpení močoviny probíhá podle reakce:



Ještě jednou štěpení močoviny



(zde místo čpavku NH_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)



<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).



Die chronische Entzündung der Magenschleimhaut durch *Helicobacter pylori* verursacht Gewebeveränderungen, die als Krebsvorstufen gelten.

Magenkrebs

Schließlich kann sich Magenkrebs entwickeln.



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

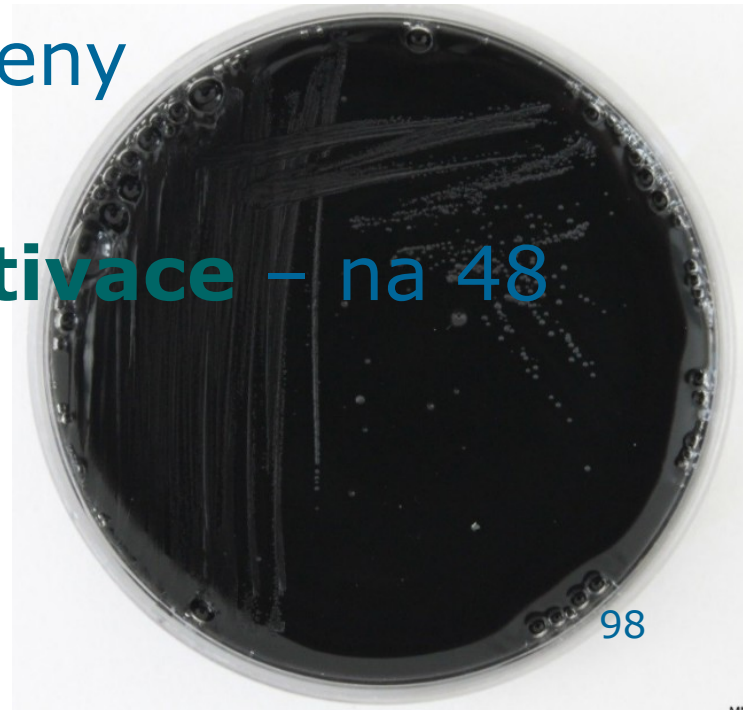
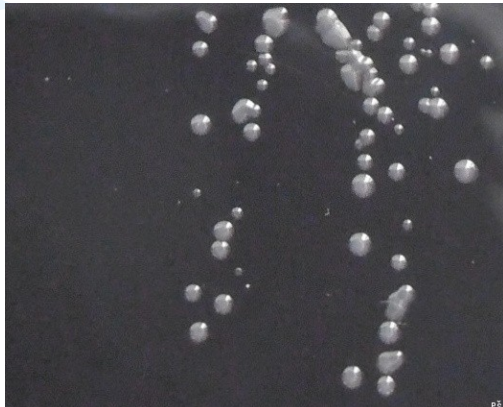
- **Peptické vředy** (mohou být žaludeční nebo duodenální) jsou onemocnění charakterizované chronickým pálením žáhy, zvracením, často s krví
- O **přenosu** se toho mnoho neví, ale zřejmě je fekálně orální
- **Léčba** je kombinovaná, viz dále

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
 - **Zvýšenou teplotu na cca 42 °C.** Jsou to totiž primárně ptačí patogeny
 - **Zvýšenou tenzi CO₂**
 - **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 - stolice
 - průkaz protilátek
 - zvláštností je tzv. **urea breath test**

Jeden méně známý helikobakter

Helicobacter cinaedi



Rychlý ureázový test

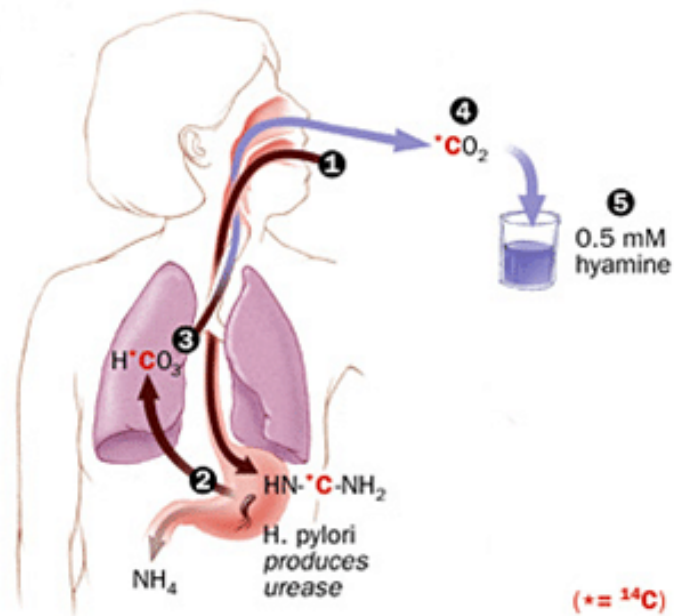


<https://www.amtech.co.nz/shop>

Urea breath test

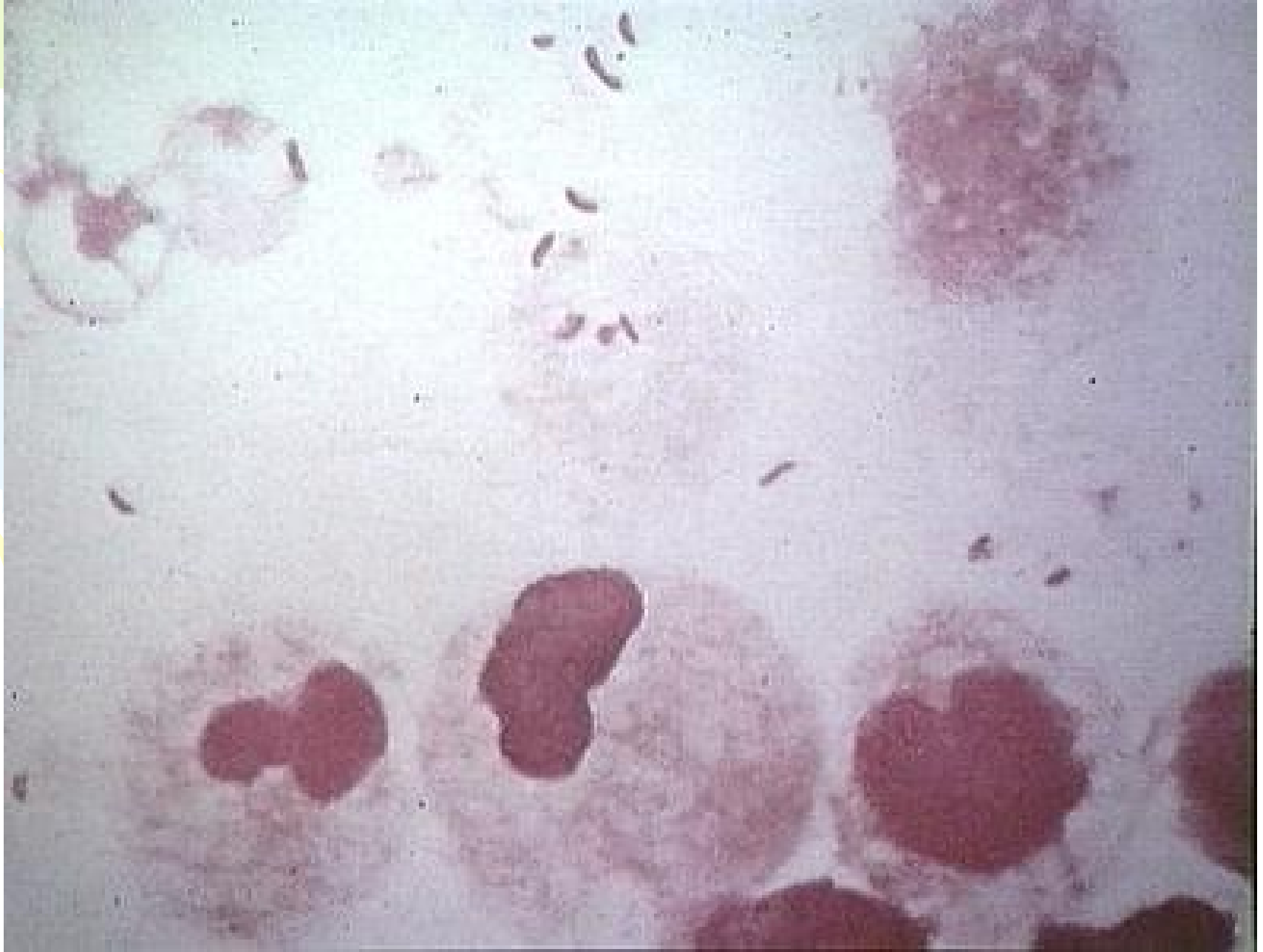
- Pacientovi se podá **značená močovina** (^{13}C , dnes už výjimečně ^{14}C)
- U **zdravého** močovina projde do dolní části trávicího traktu a **vyloučí se stolicí**
- Je-li přítomen **helikobakter**, rozštěpí se už v žaludku a **značený CO_2 se objeví ve vydechovaném vzduchu**. Čím více značeného CO_2 , tím více helikobaktera. Prokazuje se hmotovou spektrometrií (u ^{14}C scintigrafií).

1. Patient drinks $\text{HN}^{14}\text{C}-\text{NH}_2$.
In the stomach, $\text{HN}^{14}\text{C}-\text{NH}_2$ is broken down by urease into H^{14}CO_3 and NH_4 .
2. H^{14}CO_3 travels to the lung and is...
3. ...expired...
4. ... as $^{14}\text{CO}_2$ into...
5. ... a 0.5 mM hyamine solution, where a scintillation cocktail is added to test for ^{14}C .



<https://www.researchgate.net>

5. Čeľad' *Pasteurellaceae*



Základní charakteristika

- ***Pasteurellaceae*** - 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)
- 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 neopouzdrěné)



H

I

B

www.4to40.com

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 – přínosních 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



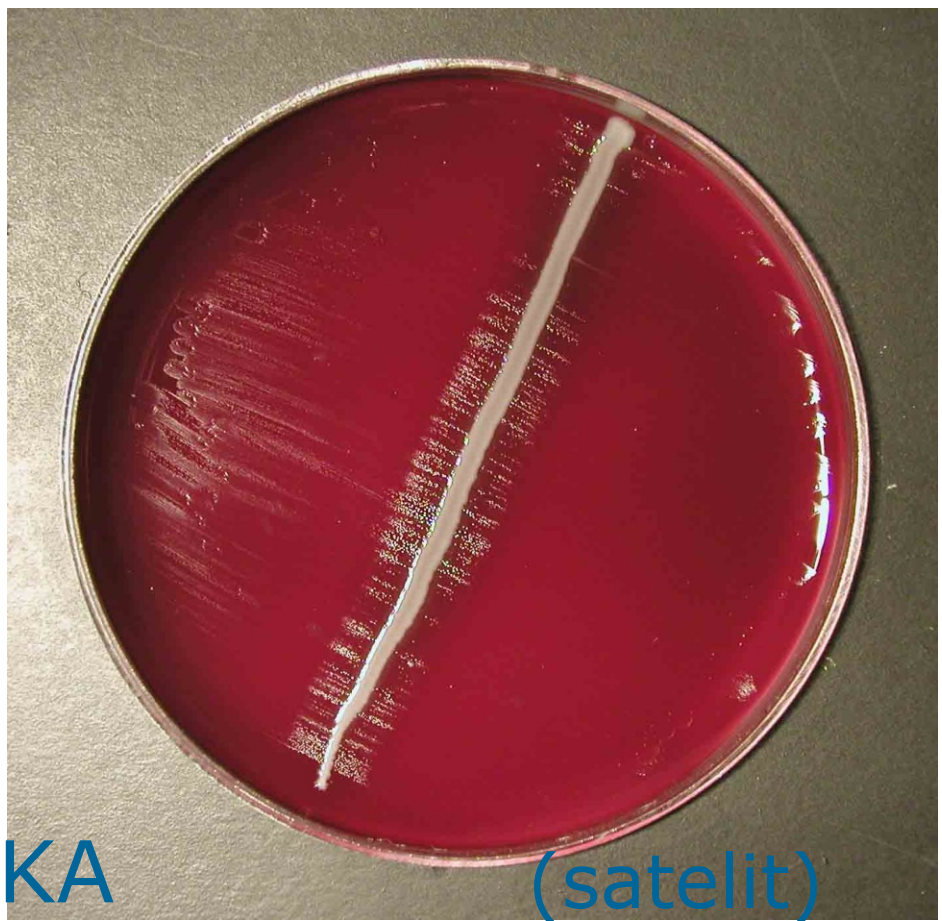
<http://www.uni-ulm.de>

- 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 např. *S. aureus*. 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

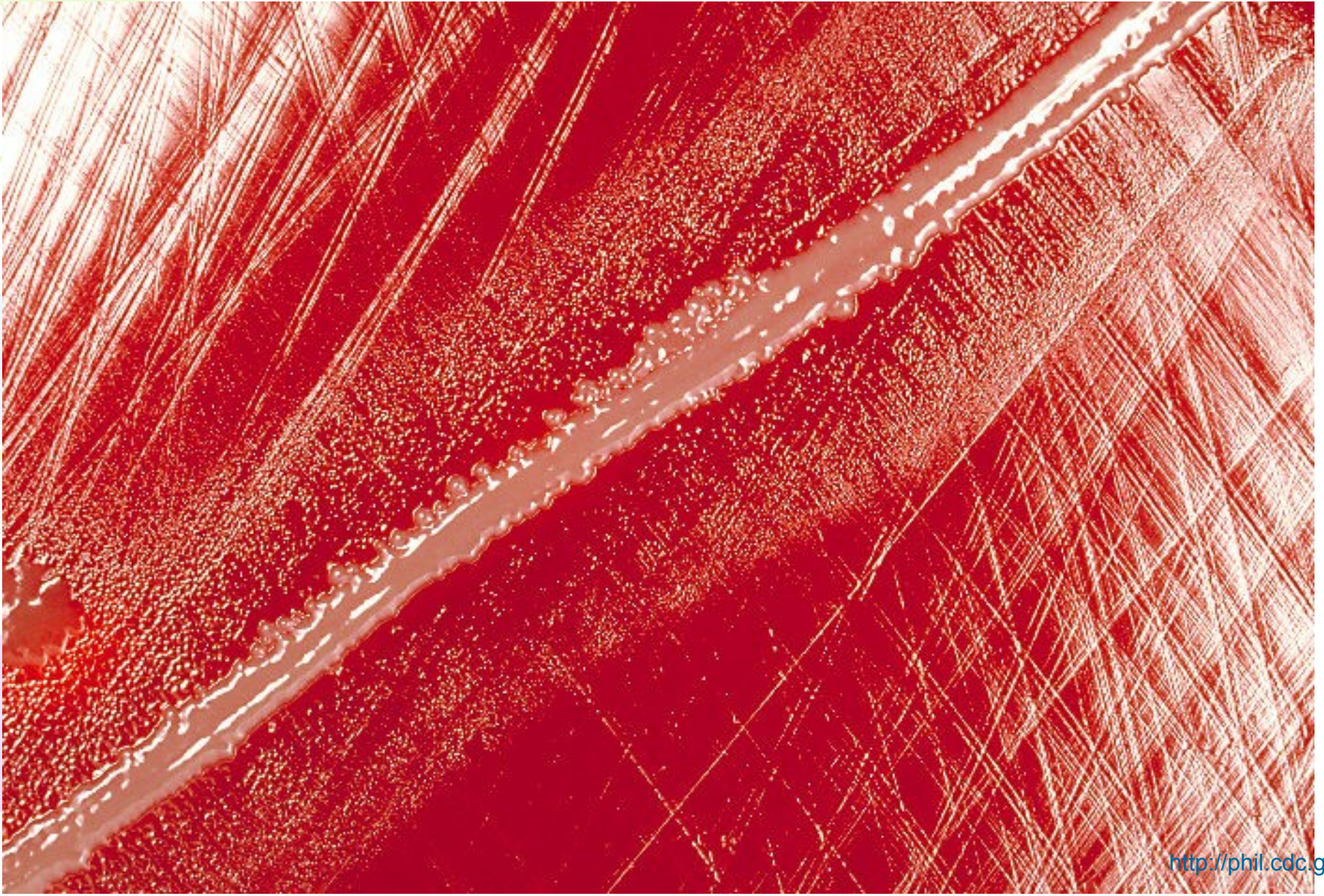


KA

(satelit)



Ještě jednou satelit

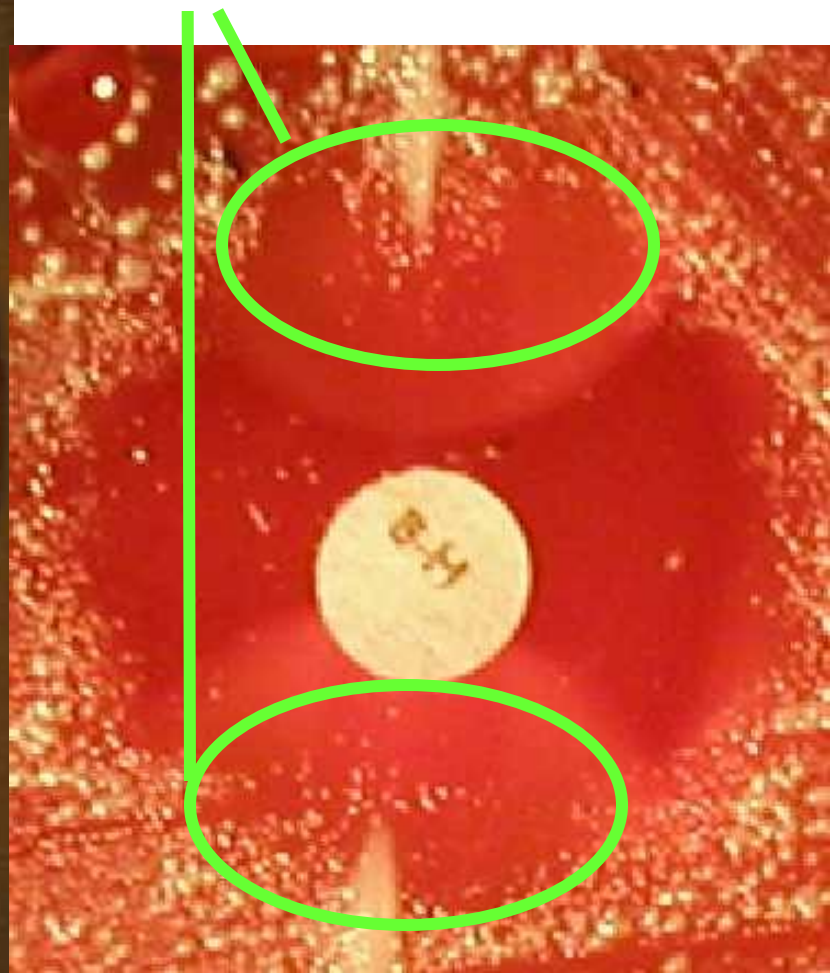


Kultivační výsledek výtěru z krku s běžnou flórou a hemofily

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* a *H. haemolyticus* potřebují **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“

**Identifikace není zcela spolehlivá -
MALDI**

Test růstových faktorů hemofilů

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

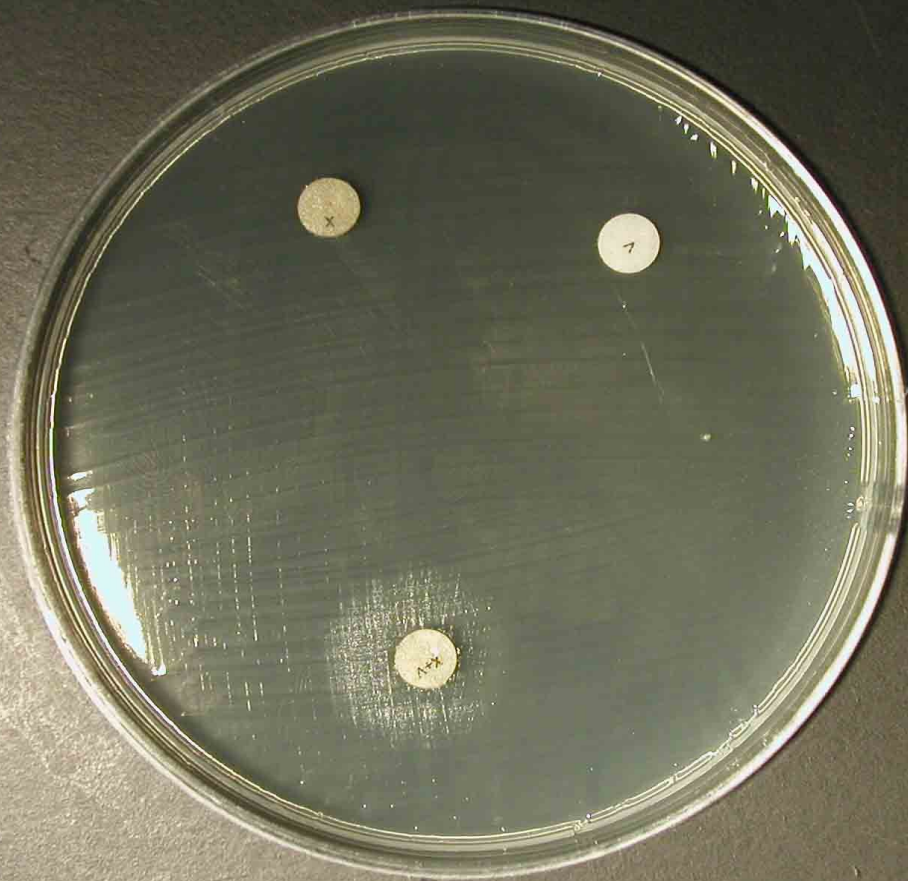
H. Influenzae roste pouze kolem disku se směsí obou faktorů.

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

A. aphrophilus (dříve ***Haemophilus***) roste kolem disku se směsí a kolem disku s faktorem X.

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

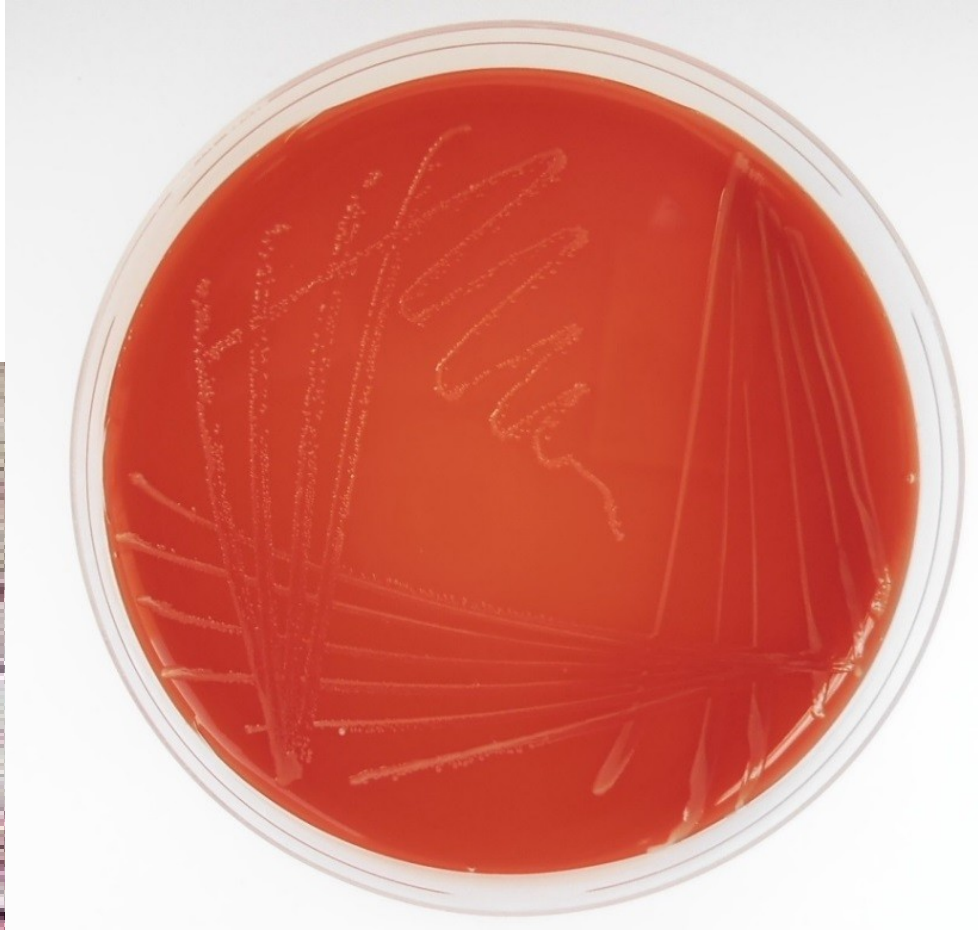
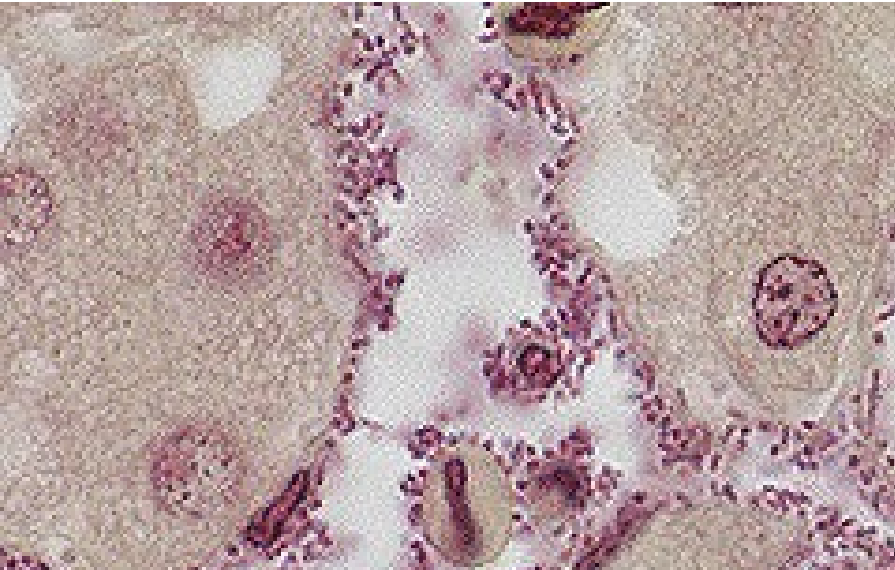


Pasteurella multocida

- ***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>

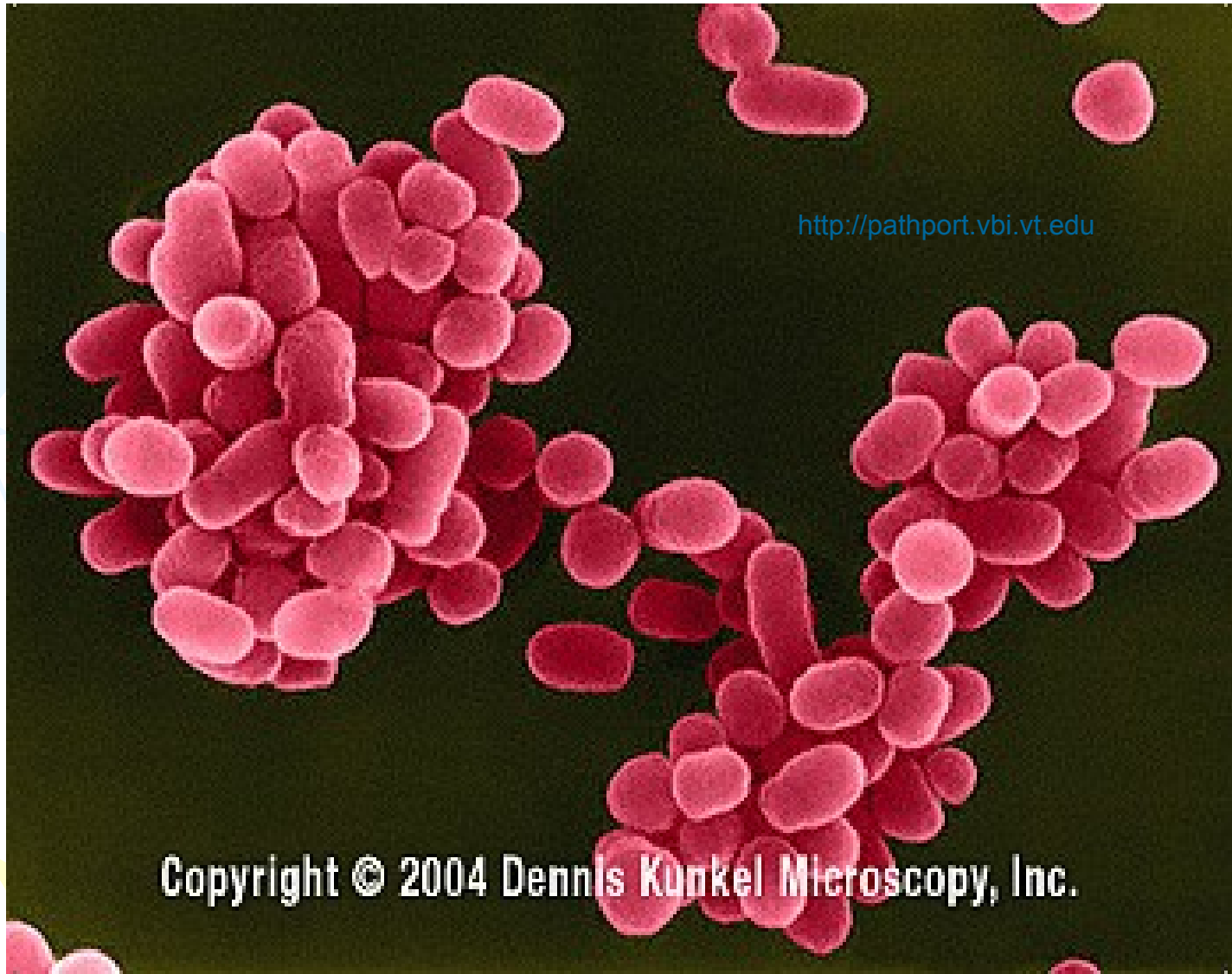


PŠ

Diagnostika pasteurel

- Roste na krevním agaru i sama. **Neroste** však 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

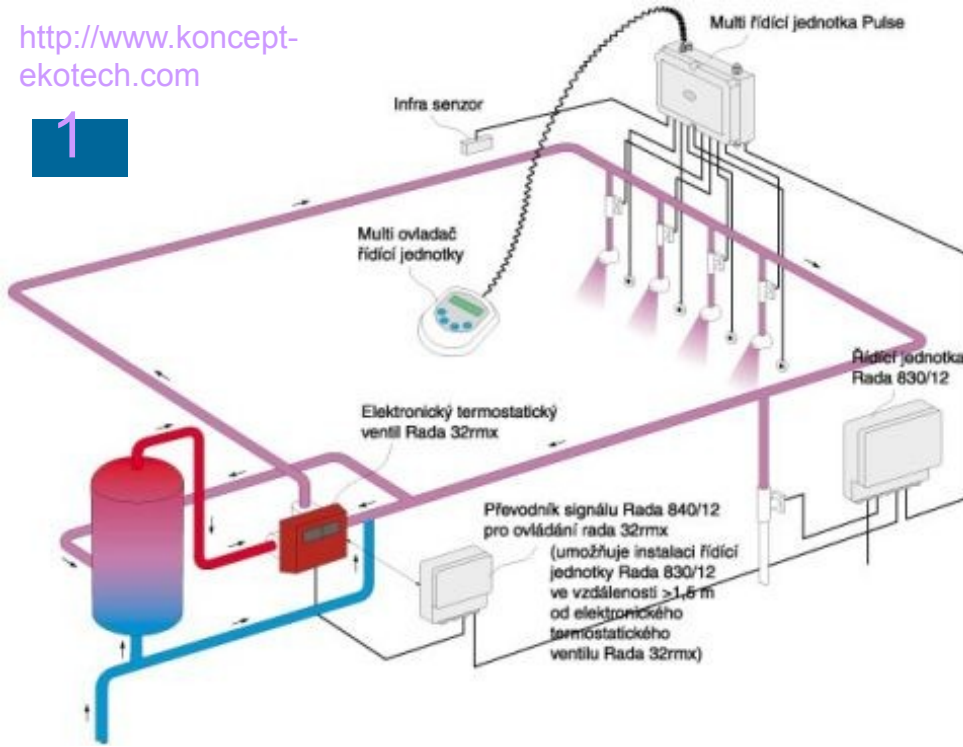
TAP WATER

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





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



Bordetella bronchiseptica: infekce kočky

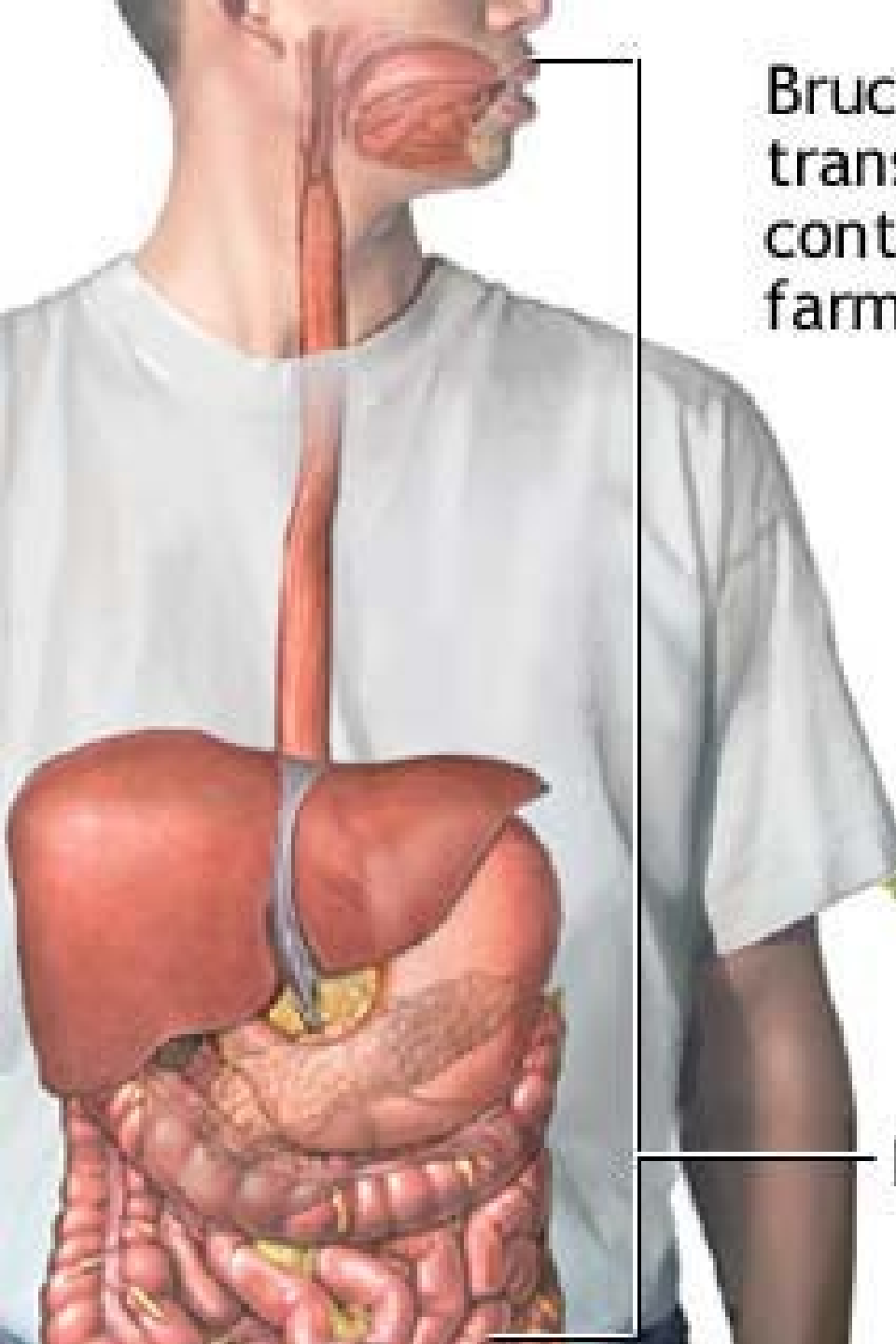


Rod *Brucella*



- Je to původce zoonóz
- ***Brucella abortus*** je kraví patogen. Často napadá hovězí placenty, způsobujíc zmetání (potraty) skotu. U lidí způsobuje **Bangovu nemoc** (horečka, orgánová postižení atd.)
- Dalšími brucelami, 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

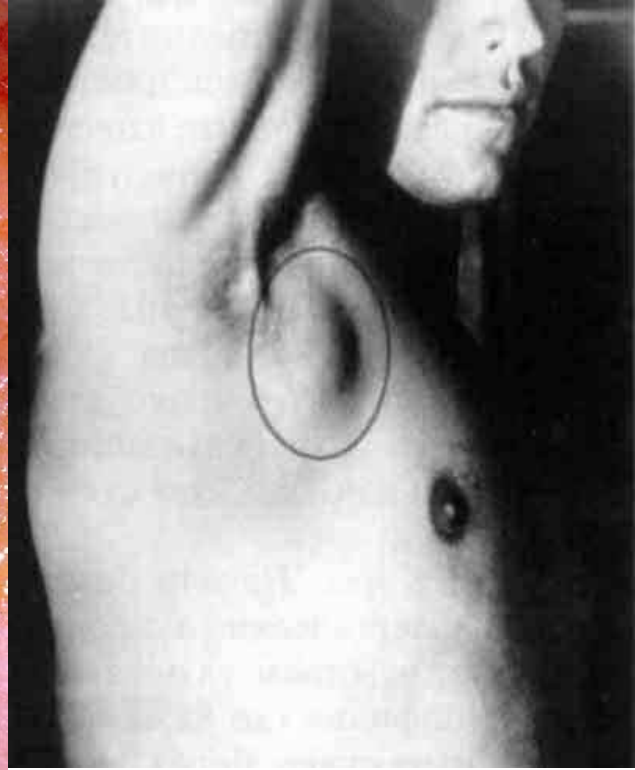
Brucella bacteria is usually transmitted to humans by contact with infected farm animals.



Digestive system

Rod *Francisella*

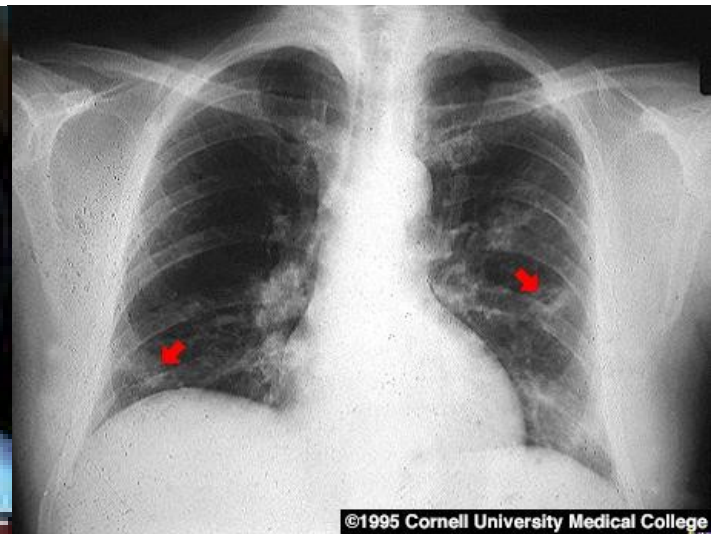
- Nejdůležitějším druhem je ***F. tularensis***
- Způsobuje **tularémii** – „zaječí mor“
- Tento organismus může napadat **rány**, často s následným uzlinovým syndromem. Ránou, ale také např. dýchacími cestami, se může dostat do krevního řečiště a **napadat různé orgány**. Při masivním vniknutí do plic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



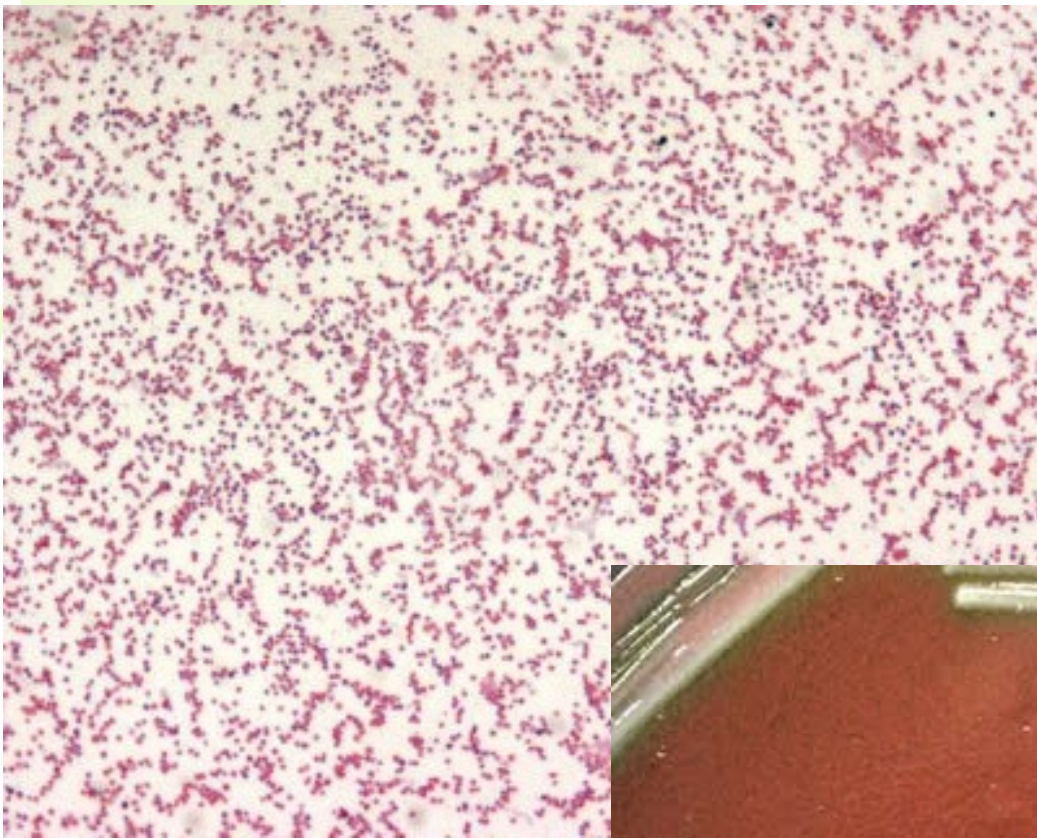
<http://www.antropozoonosi.it> (4x)



www.infektionsnetz.at



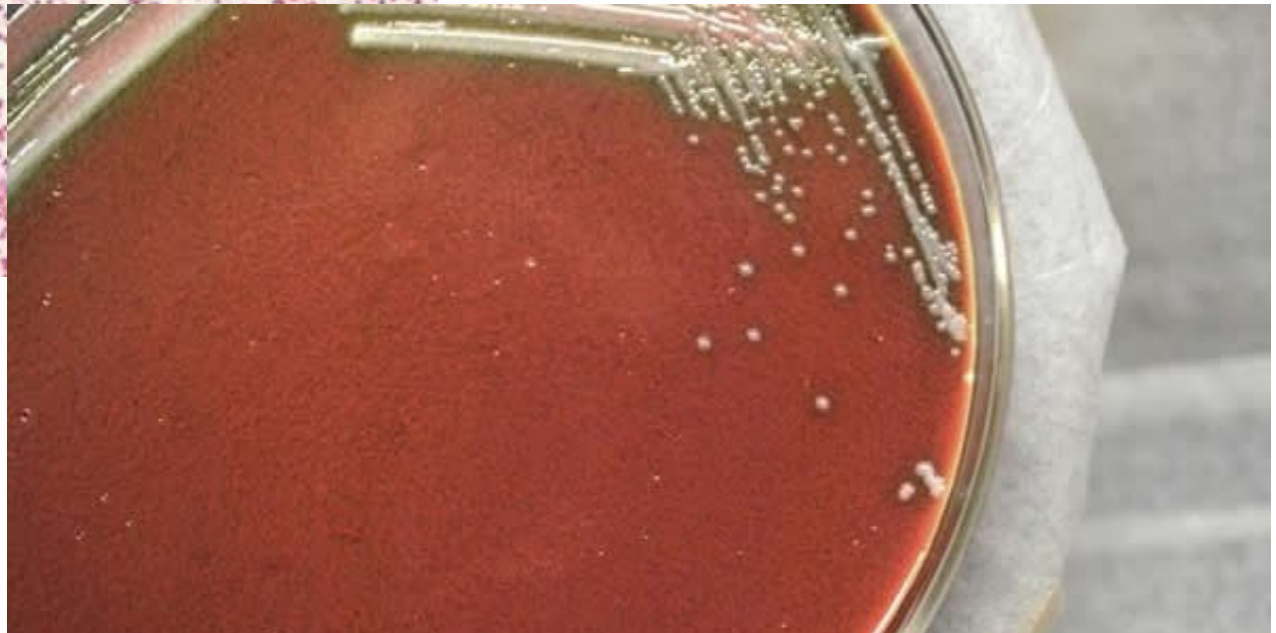
Francisella



<https://www.ppdictionary.com/bacteria/gnbac/tularensis.htm>



www.infektionsnetz.at



<https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/66/wr/mm6607a3.htm>

Legionella

<http://www.elderslp.com>

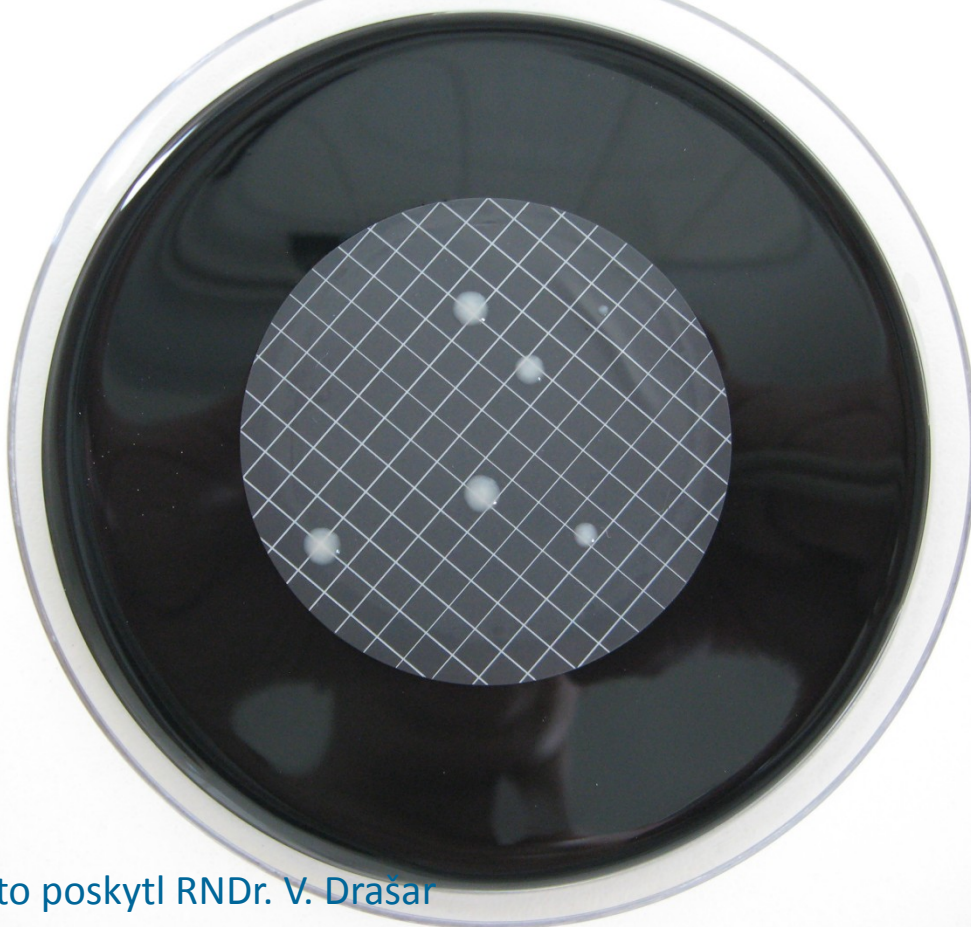
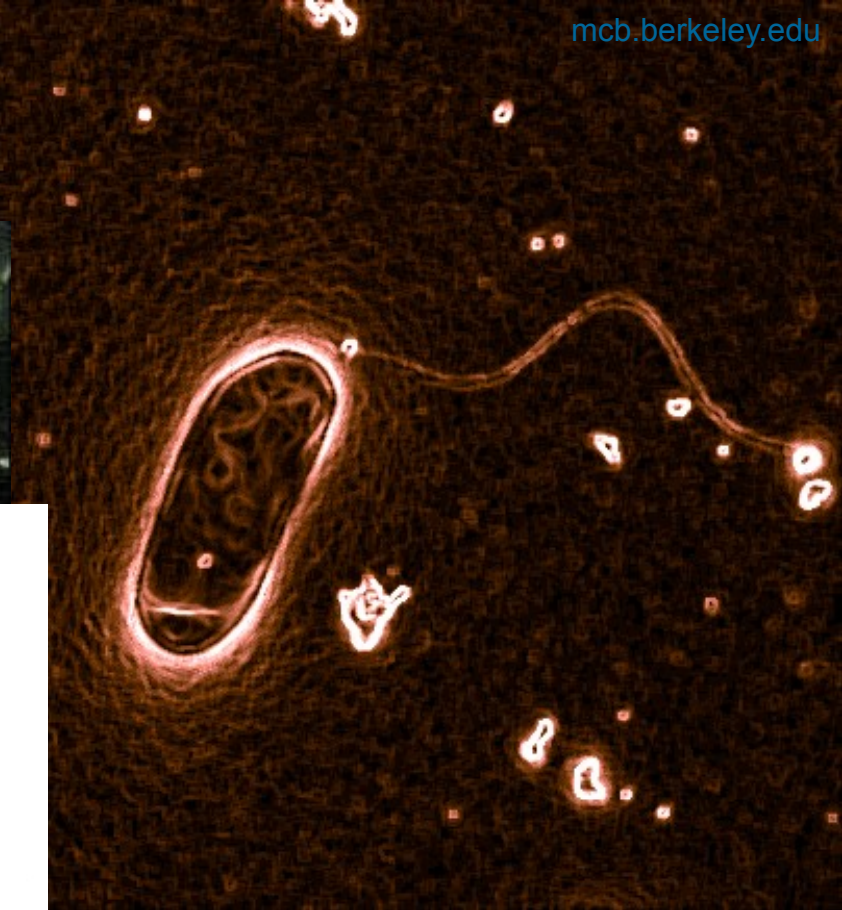
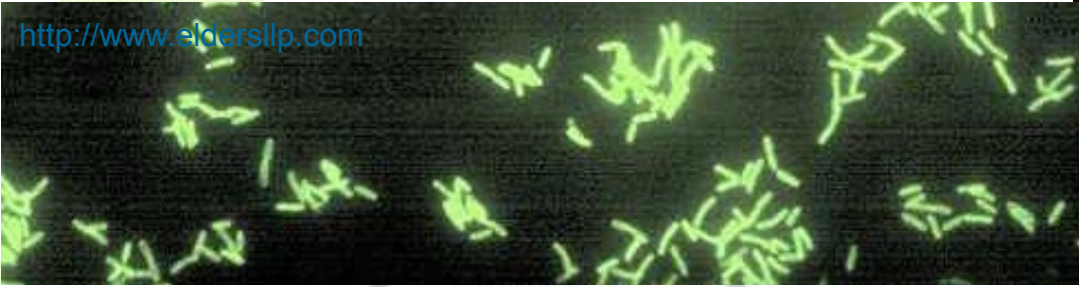
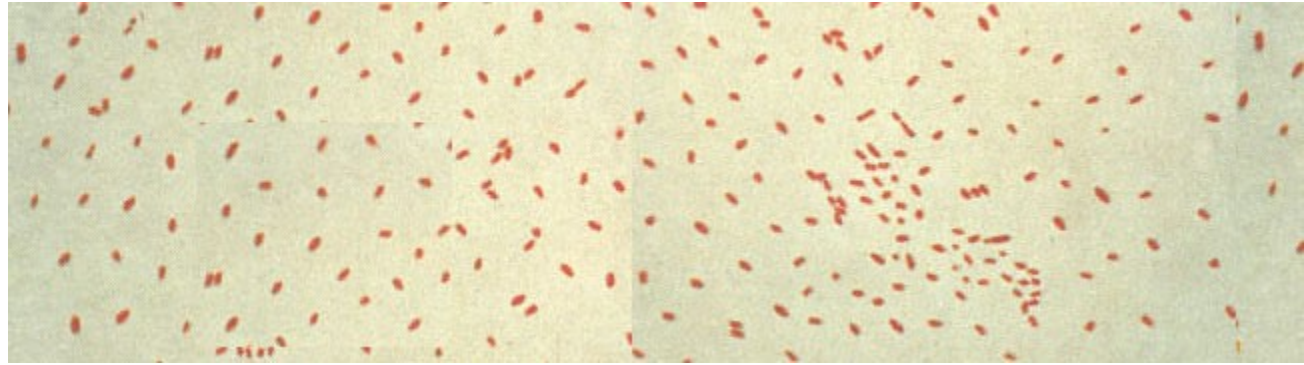


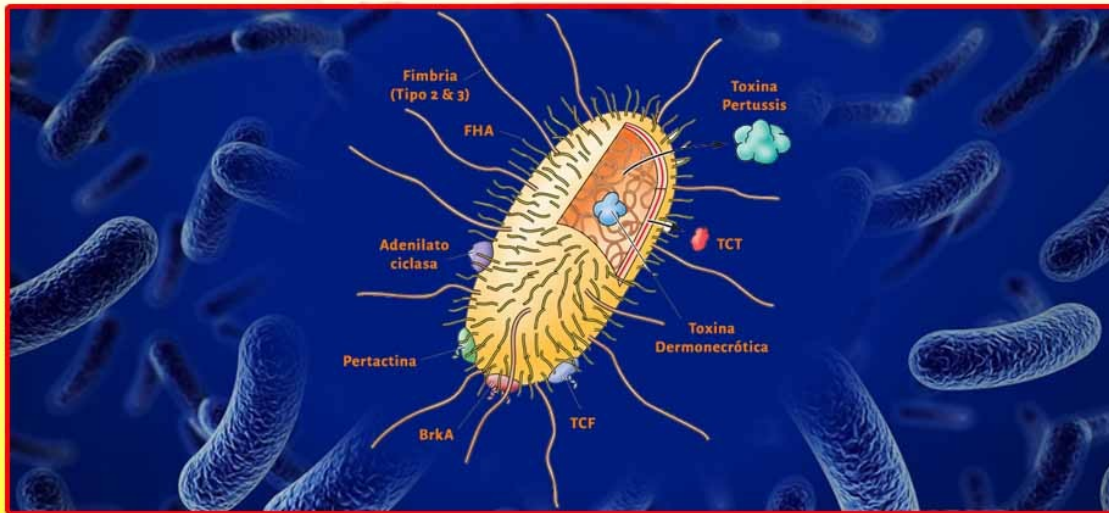
Foto poskytl RNDr. V. Drašar

Bordetella

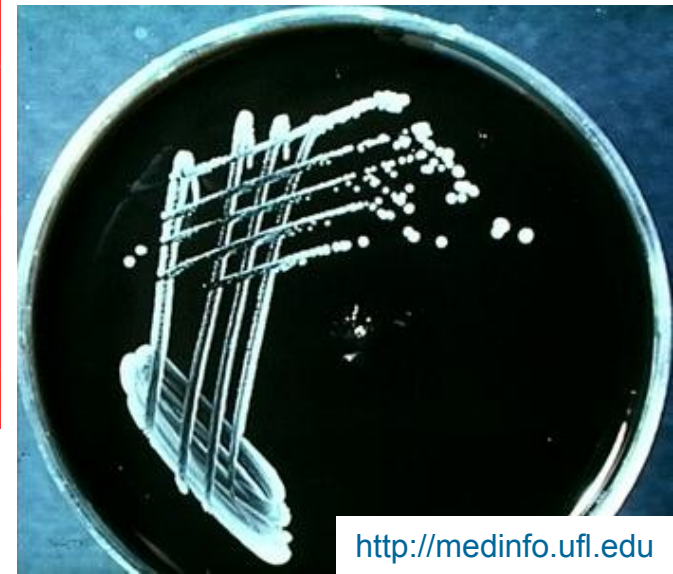


<http://textbookofbacteriology.net/pertussis.html>

Bordetella Pertussis



www.candidiasisweb.com



<http://medinfo.ufl.edu>

Brucella



<http://upload.wikimedia.org>



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

Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

Další G- bakterie“ – charakteristika

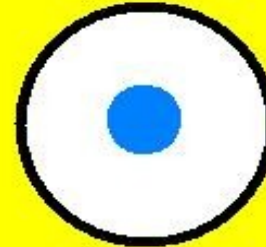
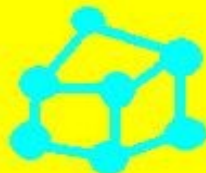
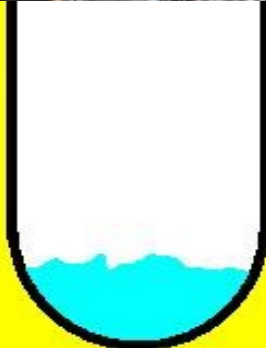
- **Mikroskopie:** G – tyčky, často krátké
- **Kultivace:** zpravidla speciální půdy (BG pro bordetely, BCYE pro legionely atd.)
- **MALDI**
- **Biochemická identifikace:** v diagnostice se může uplatnit např. při rozlišení druhů
- **Antigenní analýza:** někdy užitečná
- Průkaz legionelového antigenu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

Odečet aglutinačního testu u francisel

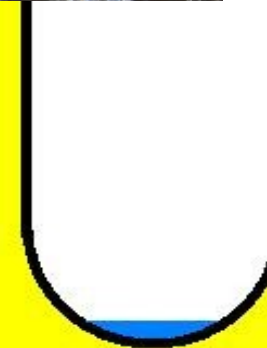
- Používá se **nepřímý průkaz aglutinací**
- **Počítá se titer** – tedy nejvyšší ředění, kdy ještě nalézáme pozitivní reakci



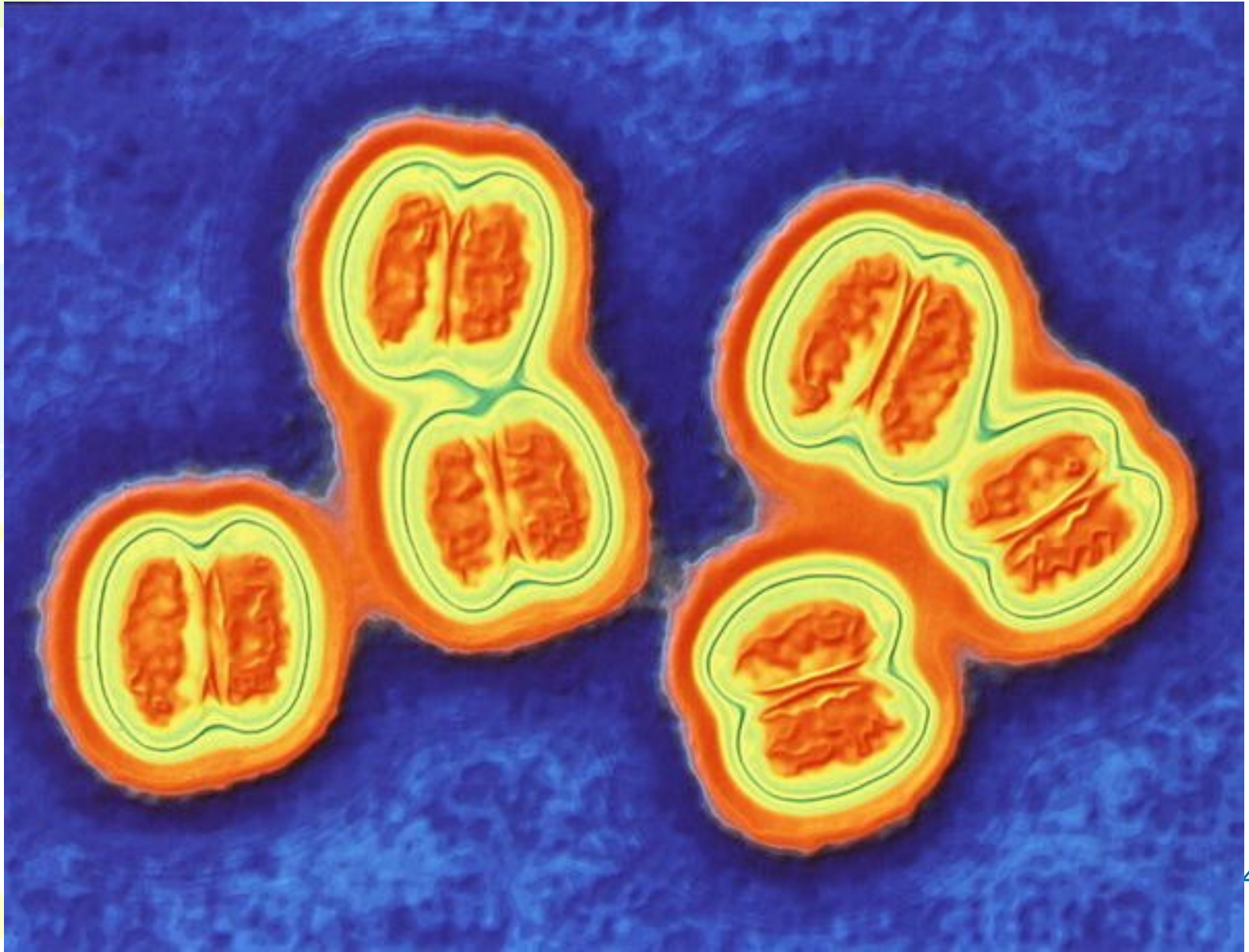
+



-



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

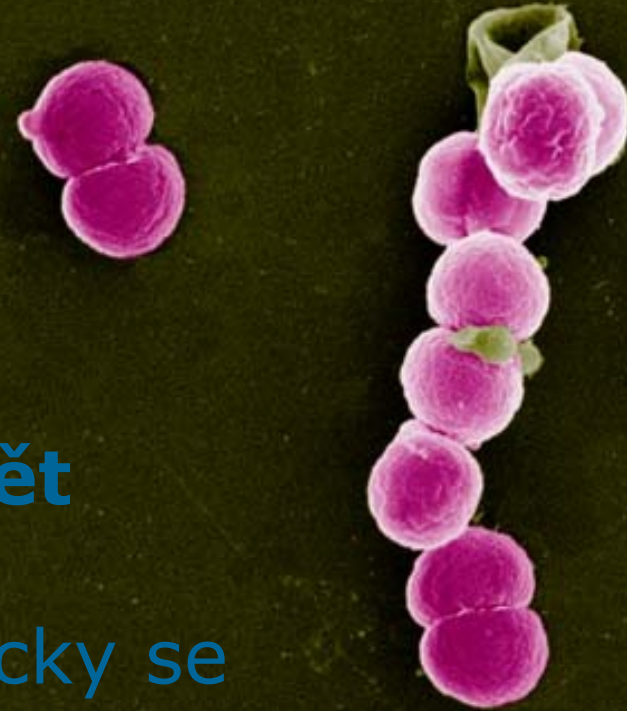
Přenos infekce

- **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** (kolpitudu) a proto pochva není místem, odkud by bylo doporučeno odebírat u podezření na kapavku **výtěry**



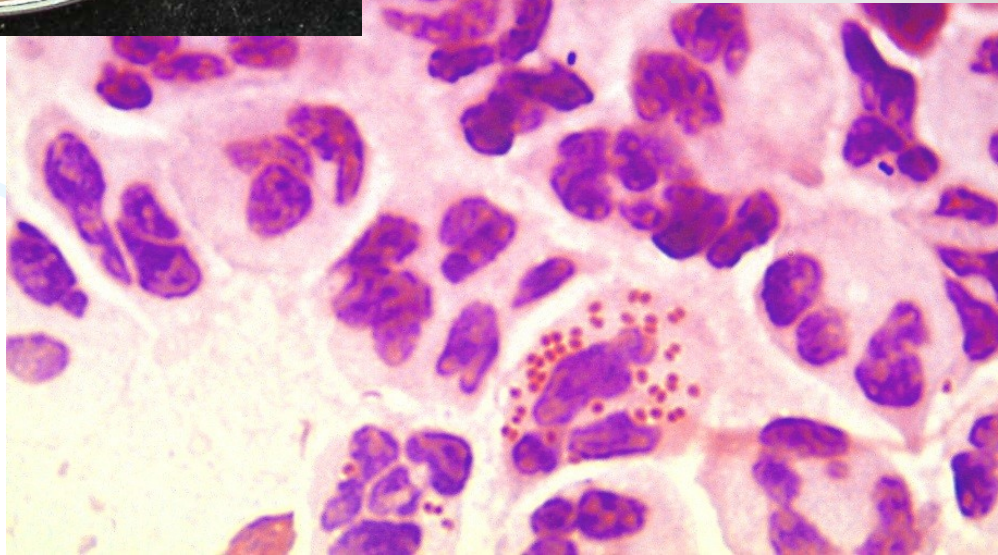
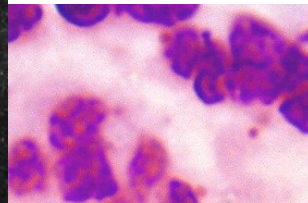
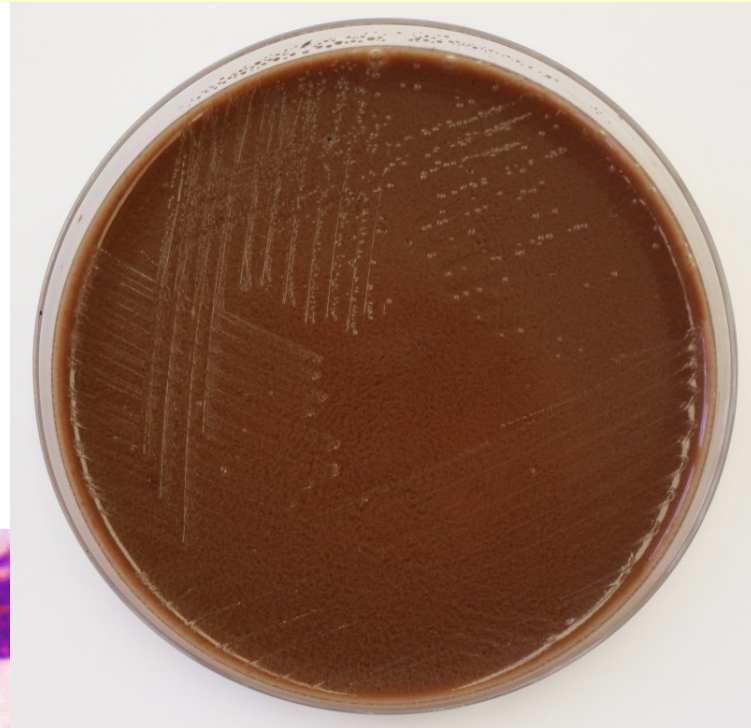
Kapavka – klinická charakteristika

- 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**

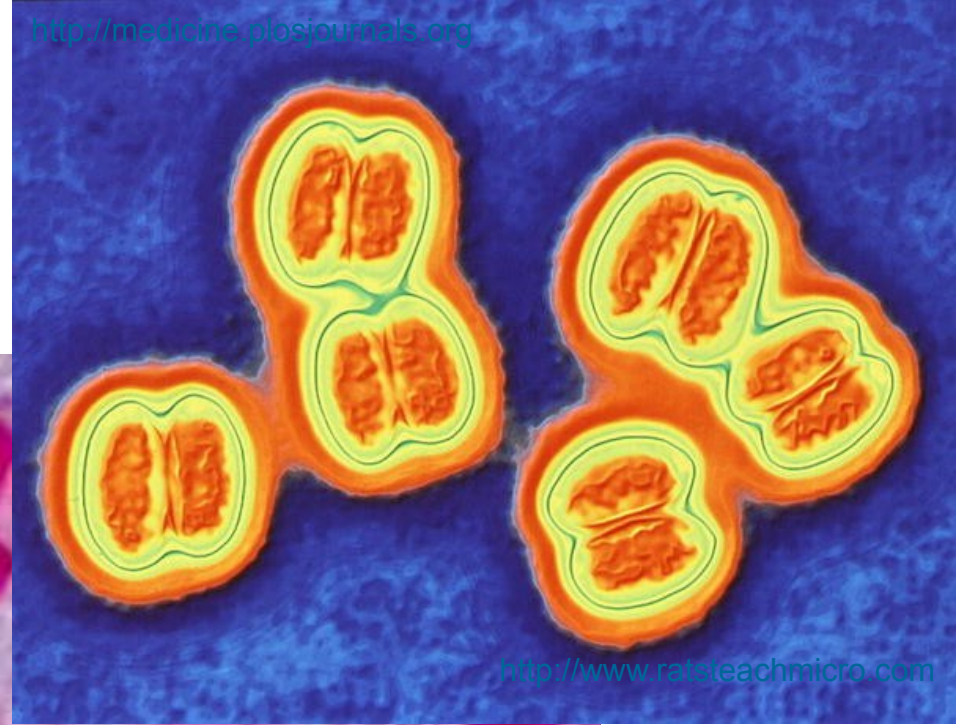
Kapavka – odběr a diagnostika

- 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



Gonokoky



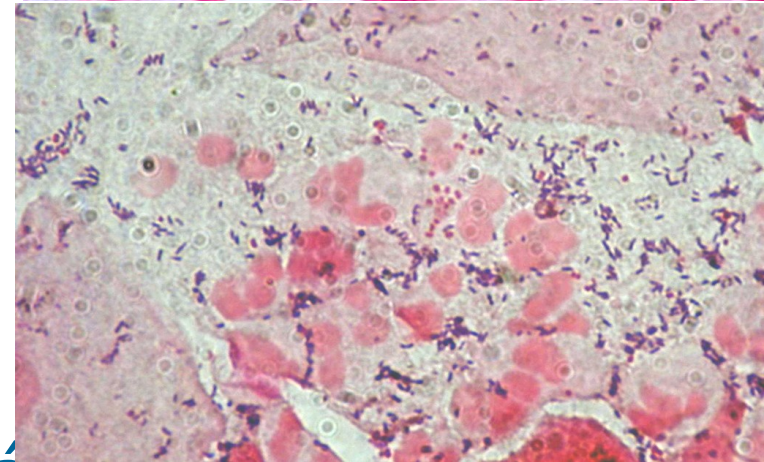
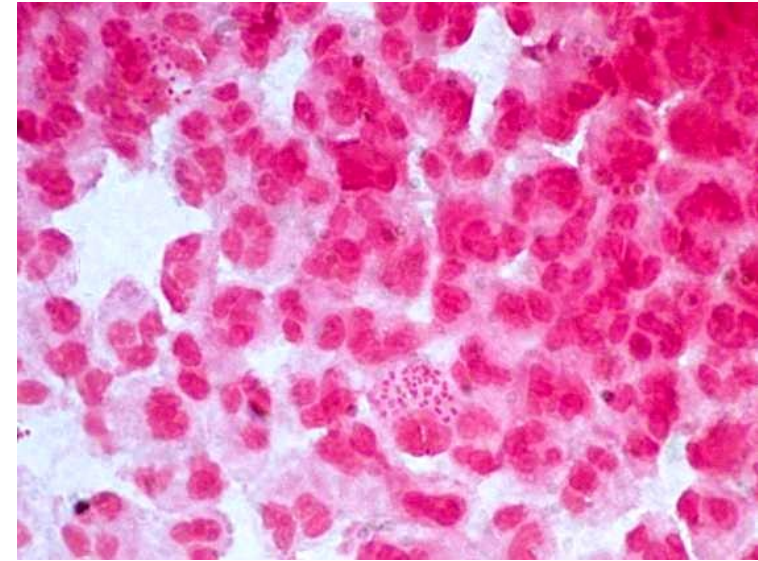
Mikroskopie kapavky

Všimněte si

**gramnegativních
diplokoků tvaru
kávového zrna,**

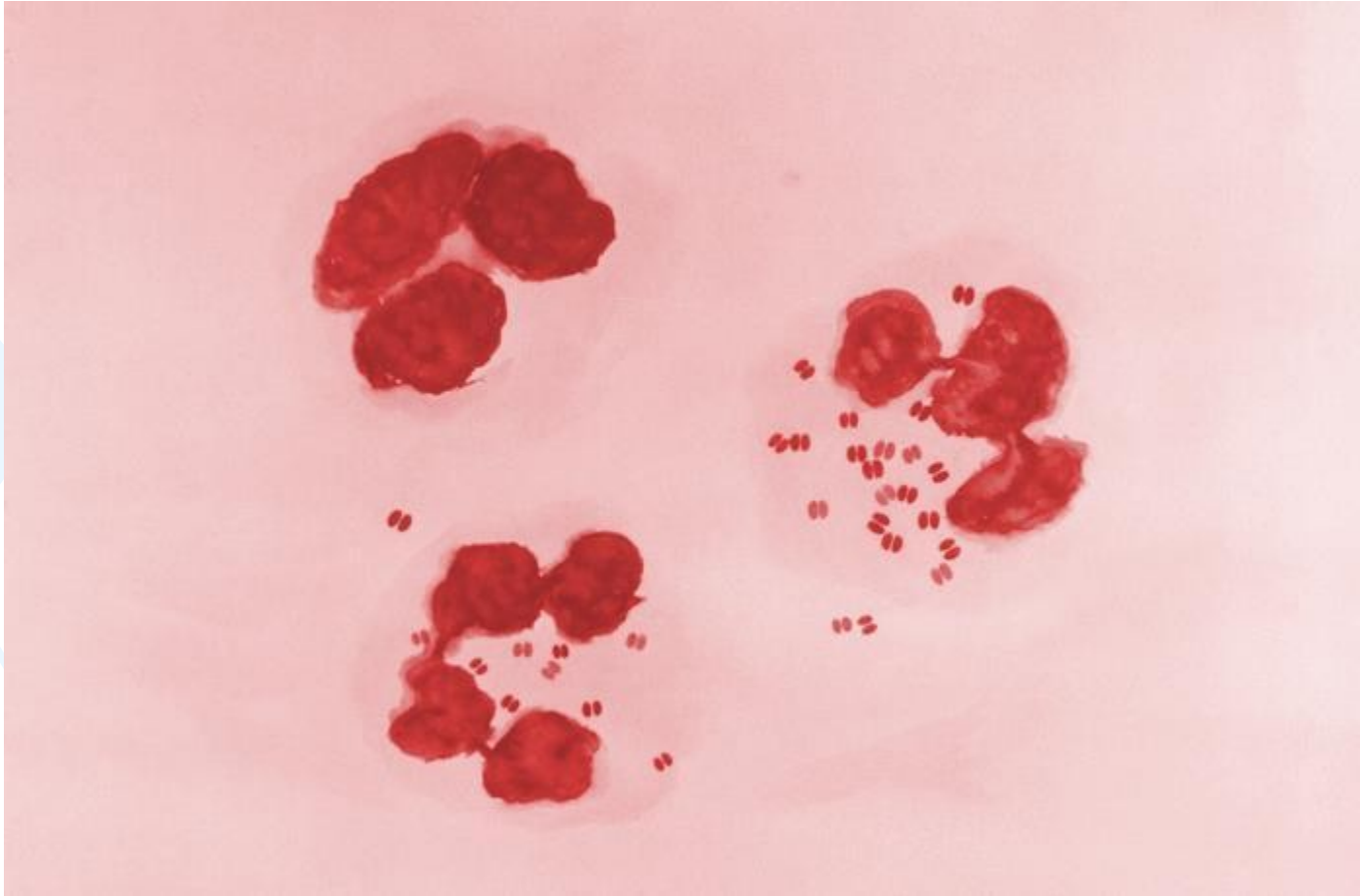
zejména
intracelulárních.

Intracelulární uložení je
jejich typickou
vlastností.



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

Gonokoky



<https://mechpath.com/2015/12/02/neisseria-gonorrhoeae>

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**.

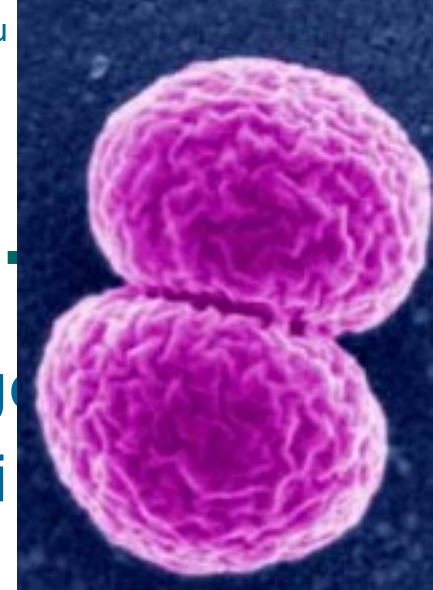
(pokračování)



- 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



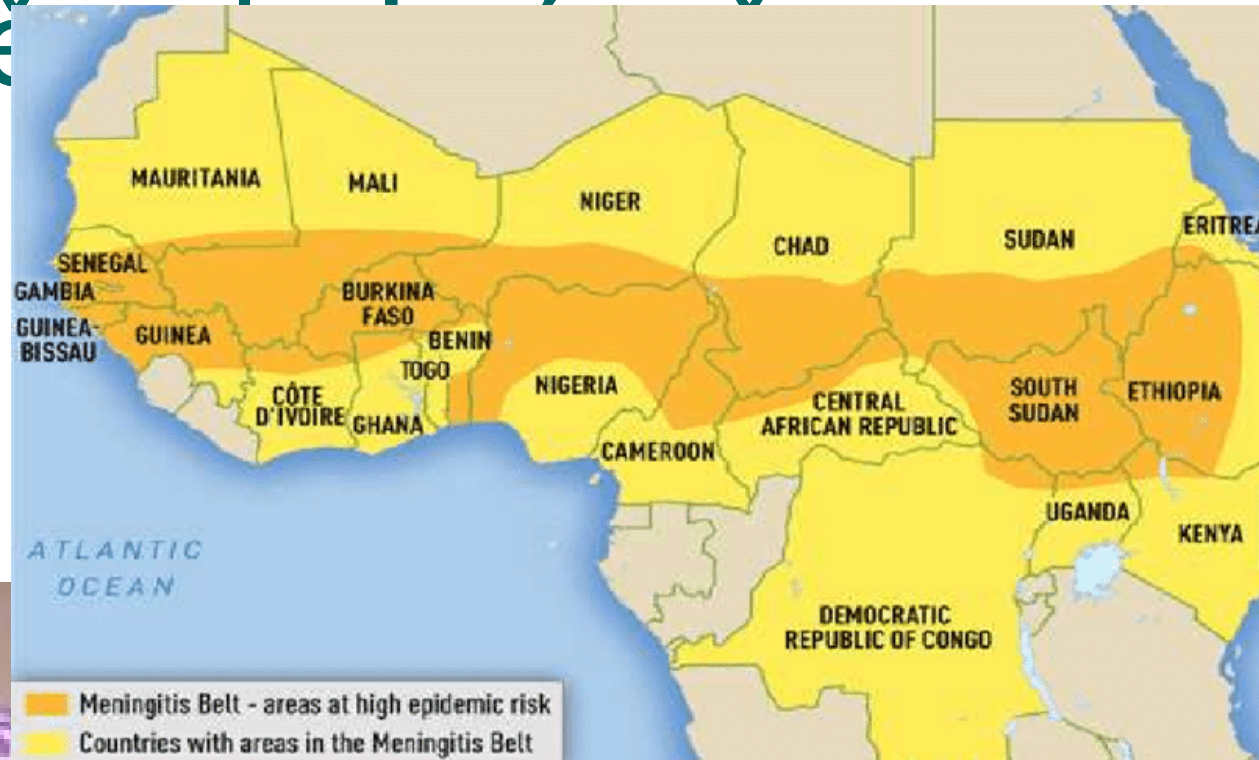
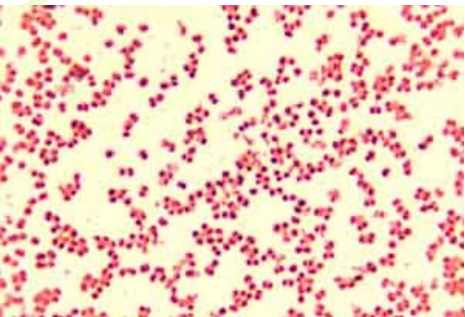
Meningokokové infekce

- 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), **sepsy** (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 rozšířenou nákazou

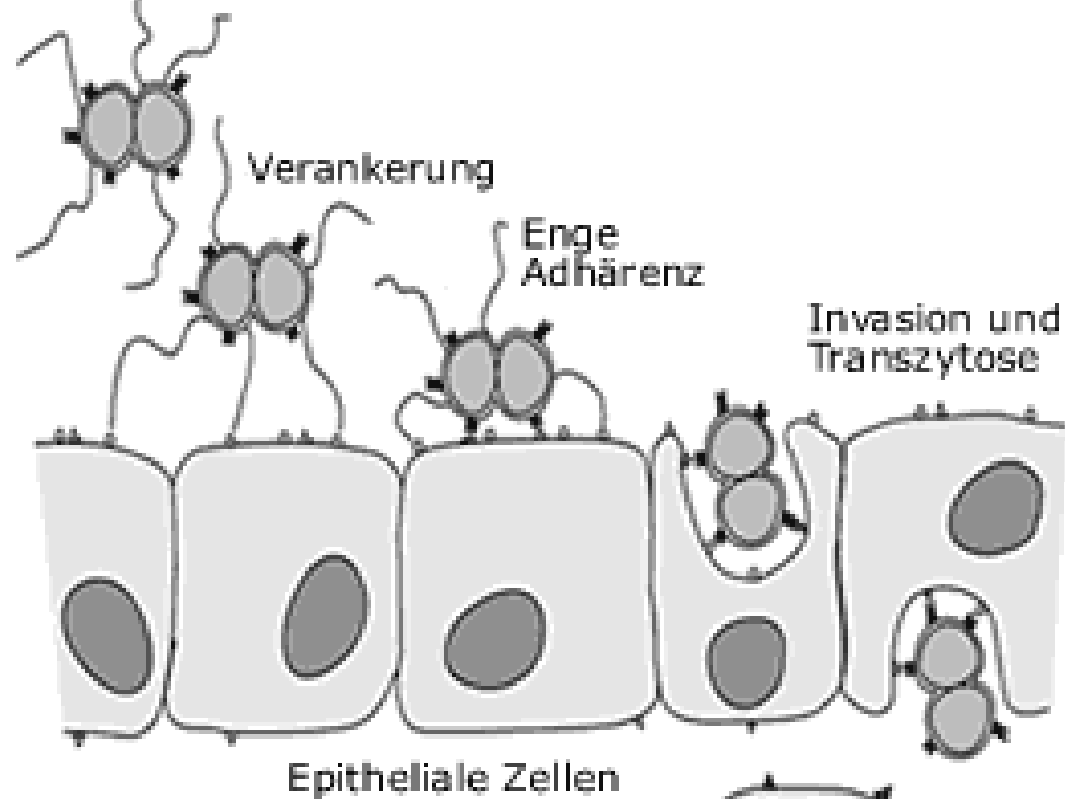


„Meningitis belt“, kde se hodně vyskytuje meningokoková meningitis

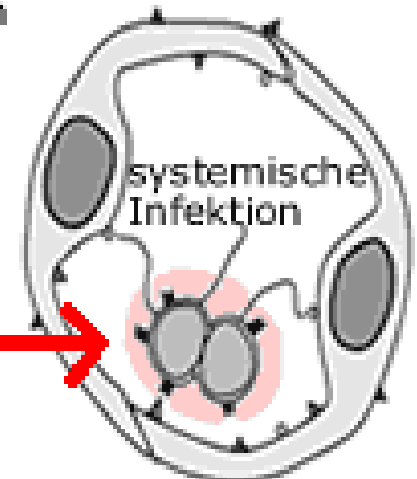
https://www.researchgate.net/publication/325763238_COMPARATIVE_ANALYSIS_OF_MENINGITIS_TRENDS_IN_PARTS_OF_WEST_AFRICA/figures?lo=1
<http://www.infektsbiologie.ch>

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>



Mit freundlicher Genehmigung
© Dehio

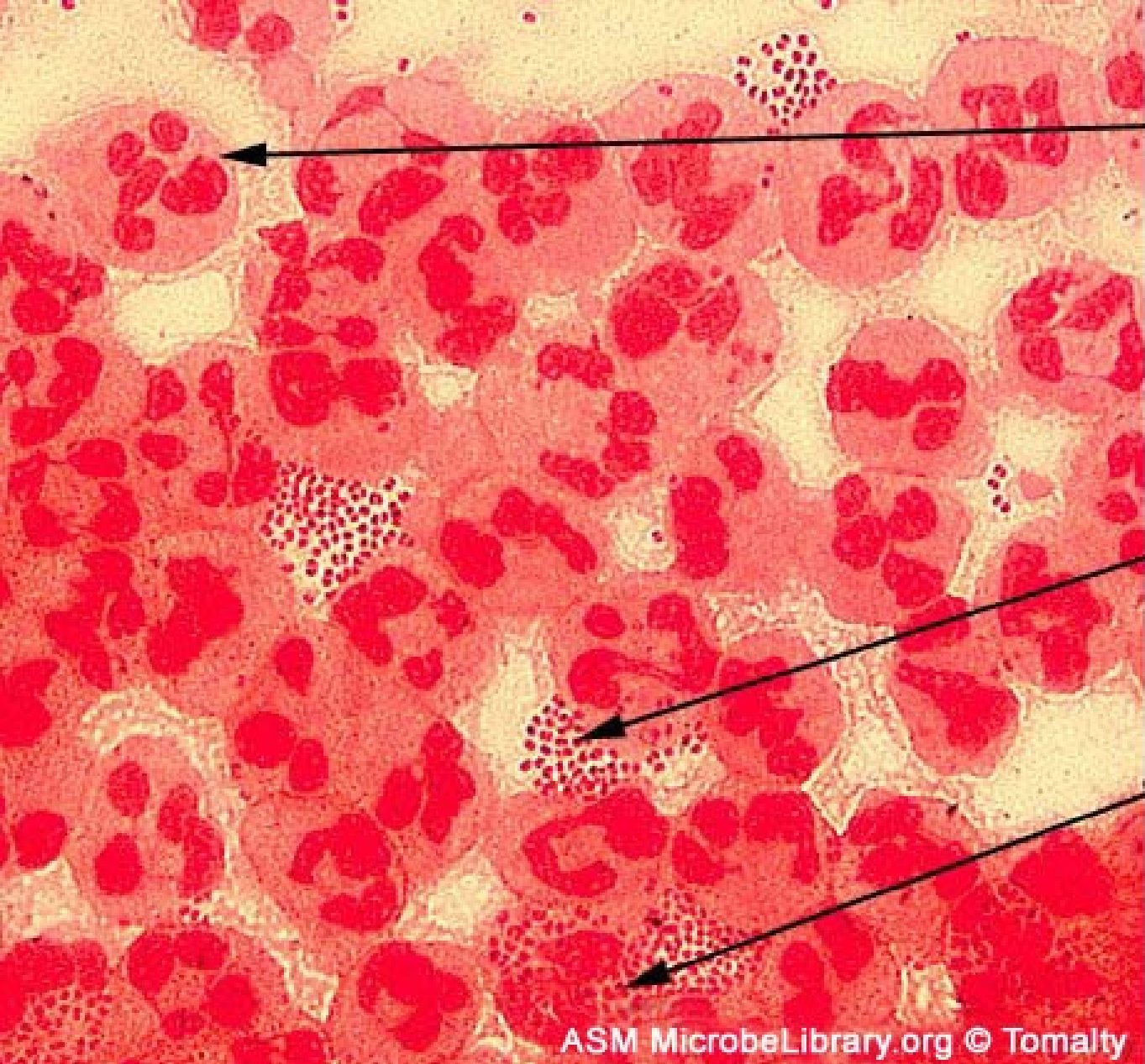
Odběr likvoru

Takto
pronikají do
tkání

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

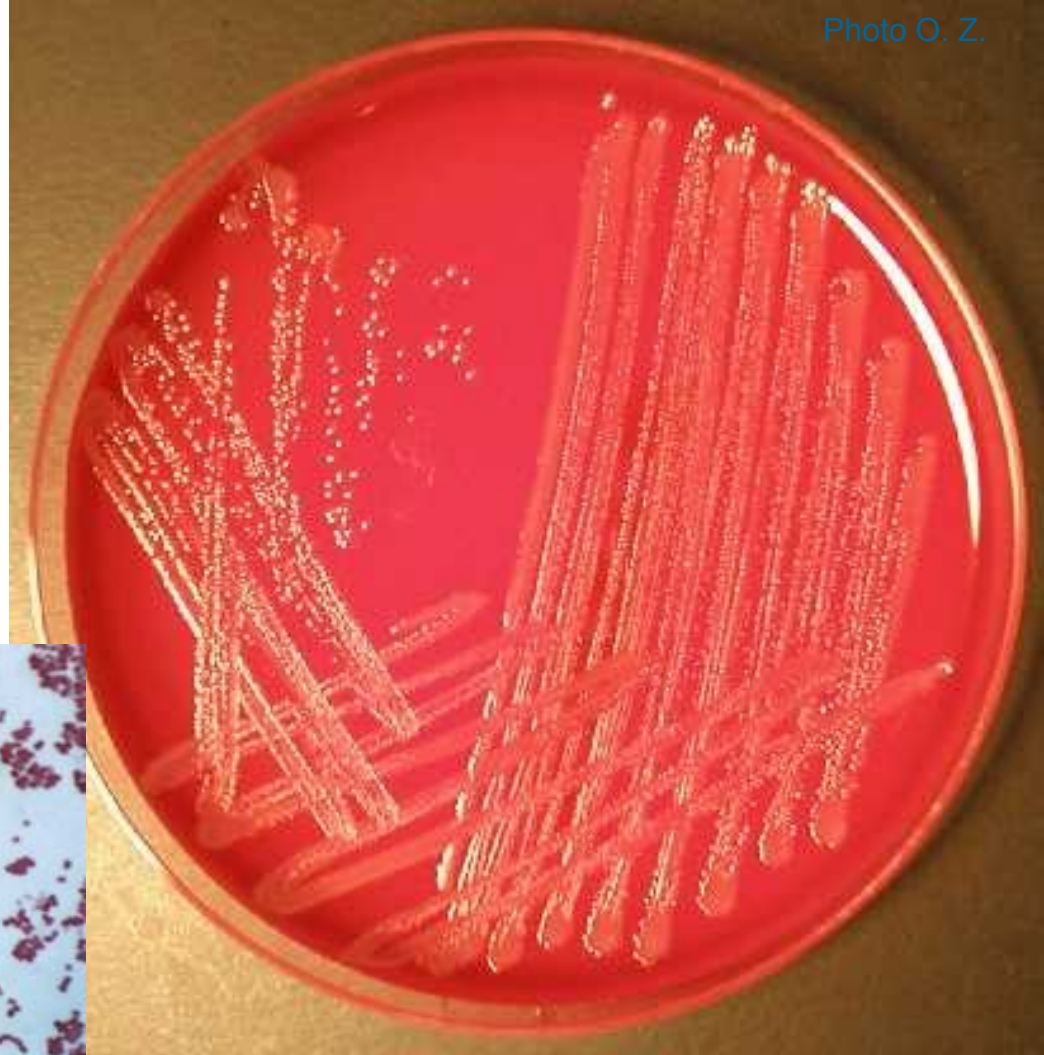
Extracellular gram-negative diplococci

Intracellular gram-negative diplococci

ASM MicrobeLibrary.org © Tomalty

Meningokoky

Photo O. Z.



<http://www.gopetsamerica.com/bio/bacteria/neisseria-meningitidis.aspx>

Microscopic Pictures Of Neisseria (Gram-negative Diplococci)

Neisseria Gonorrhoeae

Neisseria Meningitidis
intracellularis in spinal fluid

■ β -lactam drugs

Thin matrix

Gram-negative bacterial wall

Fig. 33-3

KMc

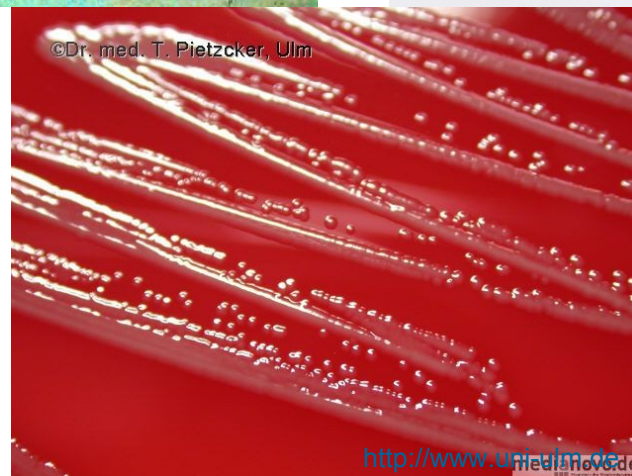
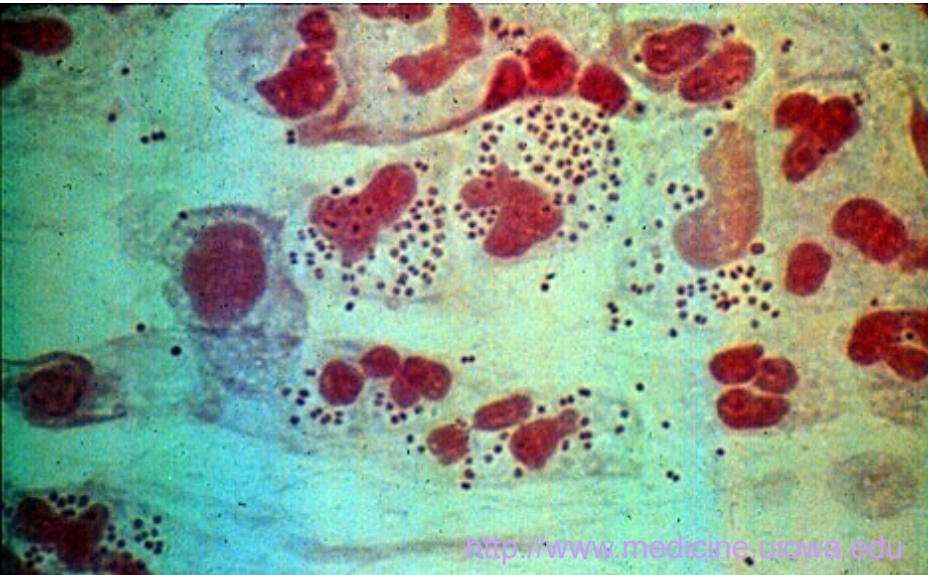
Příběh

- 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



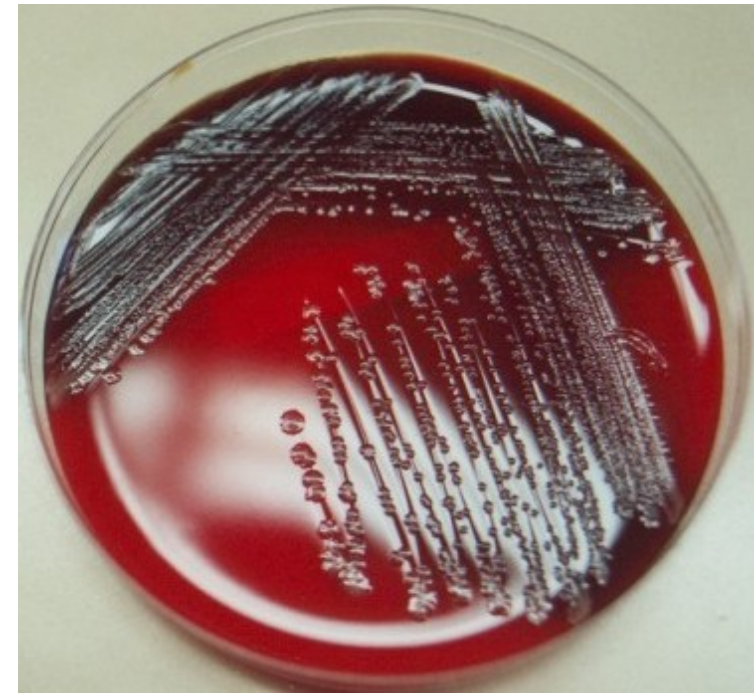
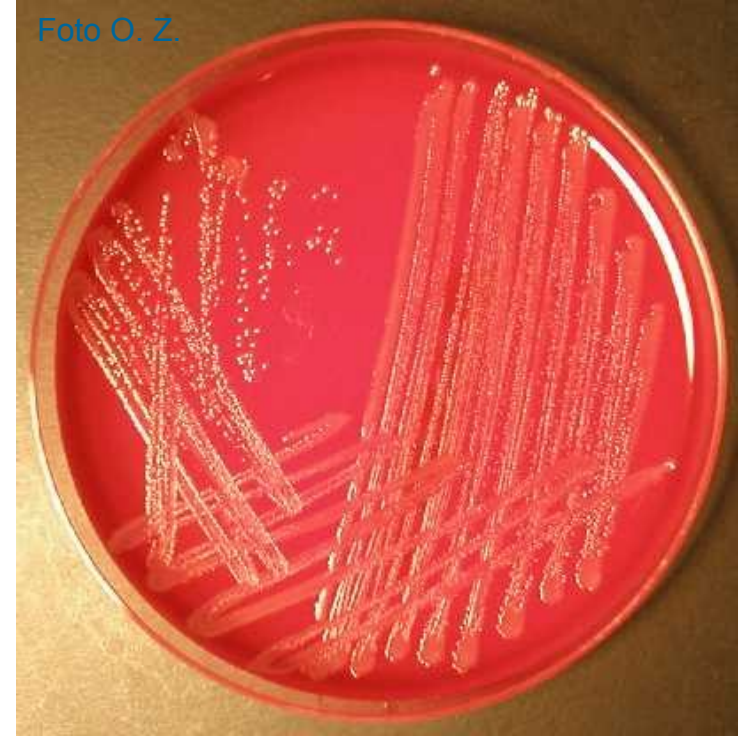
Neisserie a moraxely – charakteristika

- **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.


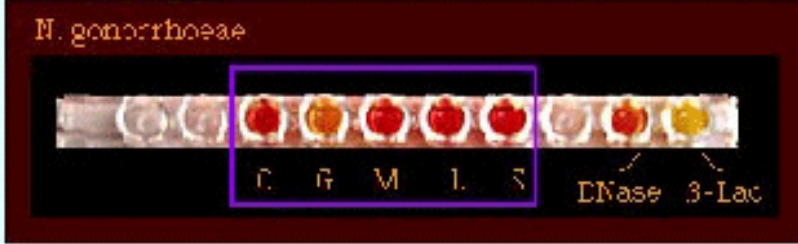


Základní biochemické testy

- **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>
Yo! 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 + (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



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

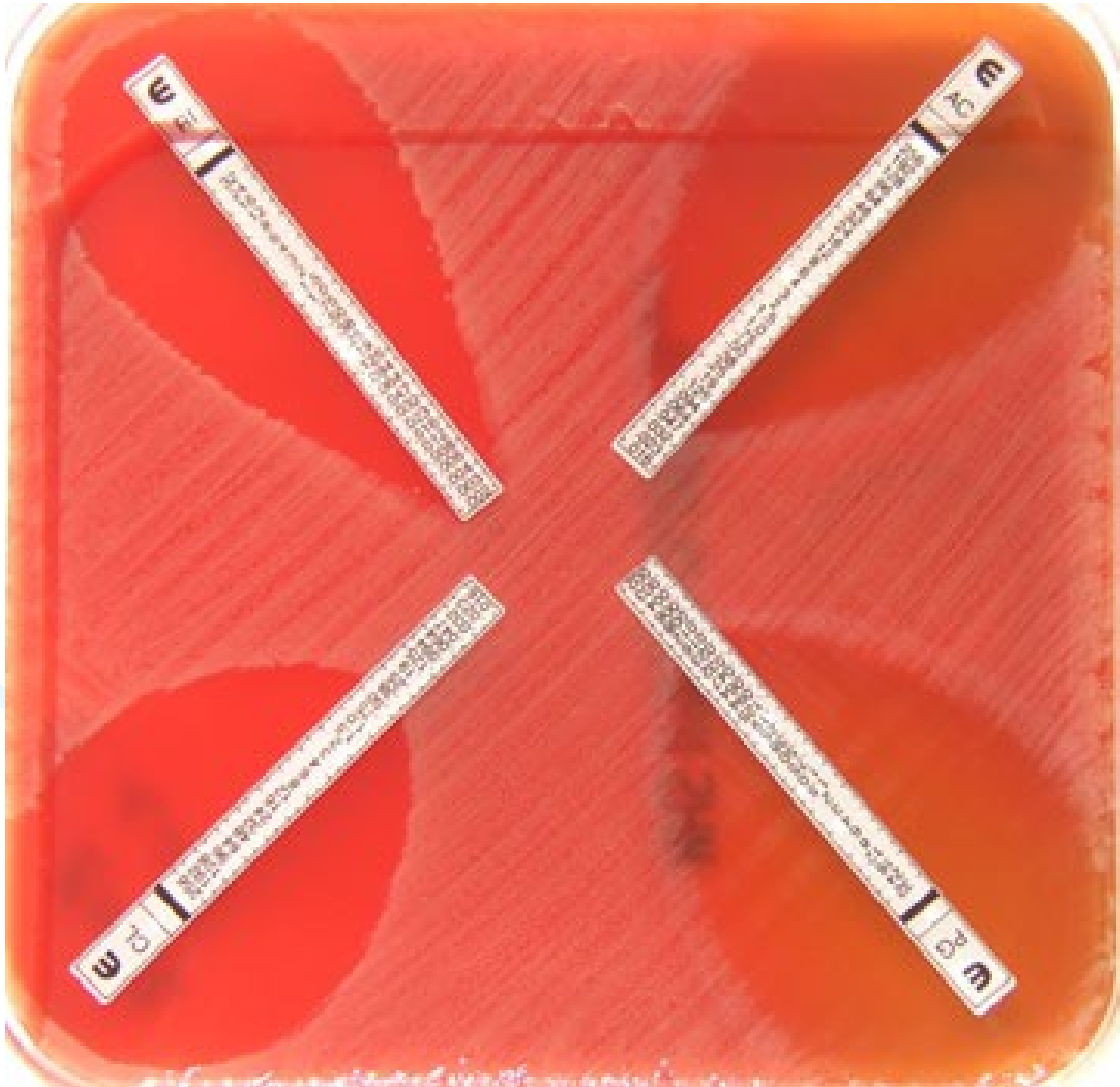
- **Antibiotická citlivost** se u patogenních neisserií určuje **na půdách, na kterých jsou schopny růst**, tj. nikoli na MH agaru
- Lékem volby u meningokoka je stále klasický penicilin. Ten se osvědčují i u gonokoka. Další možnosti jsou **makrolidy, chinolony či ceftriaxon.**

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	

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
- ***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. parainfluenzae*, *H. haemolyticus*)
- **Aggregatibacter** (*A. actinomycetemcomitans*, *A. segnis*, *A. aphrophilus*)
- **Cardiobacterium hominis**
- **Eikenella corrodens**
- **Kingella** (*K. kingae*, *K. denitrificans*)

Lékem volby jsou cefalosporiny 3. generace

Děkuji za pozornost

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

