

Mikrobiologický ústav uvádí

NA STOPĚ PACHATELE



Díl třetí:

Další gram pozitivní
pachatelé

Přehled G+ bakterií

Příběh	Tvar	V policejní kartotéce vedeni jako
P01	Lékařsky významné Koky	Stafylokoky (<i>S. aureus</i> , koag. neg. st.)
P02		Streptokoky (viridující, hemolytické)
1.		Enterokoky (<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i>)
2.	Lékařsky významné Tyčky	Listerie (typicky <i>L. monocytogenes</i>)
3.		Korynebakteria
4.		Bacily



Listerie a korynebakteria nesporulují, bacily sporulují

Obsah

Klinická charakteristika – enterokoky

Klinická charakteristika – G+ tyčinky

Léčba infekcí způsobených enterokoky a G+ tyčinkami

Diagnostika enterokoků a G+ tyčinek (+ obrázky)

Diferenciální diagnostika enterokoků a G+ tyčinek

Klinická charakteristika - enterokoky

Příběh první

- Lucinka chodí do školky. Před dvěma týdny si maminka všimla, že chodí nějak často na záchod, a také se jí svěřila, že když se chce vyčurat, tak jí to bolí. Pan doktor na středisku jí předepsal Zinnat, ale potíže se nezlepšily. Při další návštěvě tedy nechal Lucinku vyčurat do „šampusky“ a moč poslal na mikrobiologii. Přišlo mu ale, že výsledek nelze hodnotit, neboť moč je kontaminovaná. Nakonec se přece jen podařilo moč odebrat asepticky a podle výsledku změnit terapii.

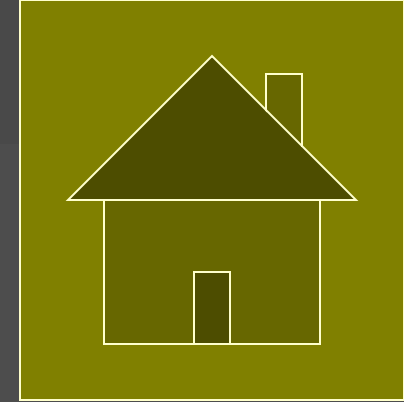
Pátráme po pachateli



<http://www.lbl.gov>

- Vinen je *Enterococcus faecalis*
- Jak napovídá rodové i druhové jméno, je to mikrob normálně se vyskytující ve střevě. Je ale také jedním z nejběžnějších původců močových infekcí
- Viníkem je ovšem i lékař – předepsal antibiotika bez kultivace moče; bohužel, enterokoky jsou na všechna cefalosporinová antibiotika primárně rezistentní. Navíc podcenil aseptický odběr moče.
- Možná něco zanedbala i maminka, pokud Lucinku nenaučila dobře (a odpředu dozadu) se utírat po záchodě

Více o enterokokcích



- Dnes jich rozeznáváme desítky druhů
- Všechny mohou být nalézány
 - ve stolici (jako normální mikroflóra)
 - v močovém měchýři (jako patogeny)
 - v pochvě (asymptomaticky nebo symptomaticky)
 - občas i jinde (rány, krevní řečiště)
- Ze dvou nejběžnějších druhů *E. faecalis* bývá častěji patogenem, *E. faecium* je častěji součástí střevní mikroflóry
- Nebezpečné jsou vankomycin rezistentní enterokoky (VRE)
- Jeden z enterokoků, nalezený v Brně, má název *Enterococcus moraviensis*



Klinická charakteristika – G+ tyčinky

Příběh druhý

- Evropský komisař zachmuřeně hleděl na kupu stížností. Francouzští zemědělci protestují proti několika státům EU, které brání dovozu **delikatesních francouzských sýrů** na jejich území.
- Německé úřady zákaz dovozu zdůvodňují tím, že těhotná paní Hildegarda Messerschmidtová po požití sýra pozorovala **zvětšené mízní uzliny** a nakonec její dítě trpělo těžkou listeriovou infekcí.



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



<http://womansday.ninemsn.com.au>



Kdo za to tentokrát může?

- Bakterie *Listeria monocytogenes* je grampozitivní tyčinka, která se vyznačuje schopností růst při nízkých teplotách a vysokých koncentracích NaCl, což je oboje splněno např. ve skladech sýrů
- Málokdy vyvolává viditelné infekce dospělých, snad s výjimkou uzlinového syndromu. Je však nebezpečná pro těhotné, či jejich budoucí děti.
- Někdy se stává záminkou pro omezení dovozu – je samozřejmě vždy otázkou pohledu, zda je omezení skutečně motivováno strachem o zdraví občanů, nebo snahou obejít ustanovení o volném trhu

Classification des aliments selon le risque lié à *Listeria monocytogenes*



<http://www.territoire-belfort.gouv.fr>

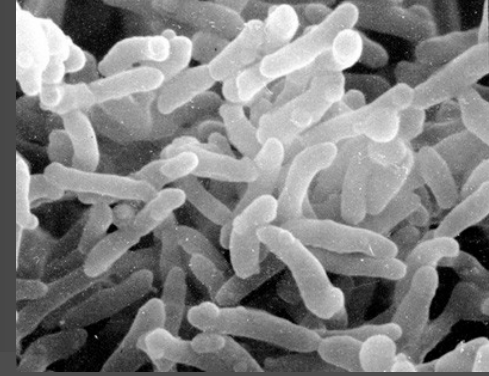
<http://microbewiki.kenyon.edu>

Příběh třetí



- **Pan Bércoun** je diabetik, chronický pacient, nyní léčen pro **bércové vředy**. Bohužel, infekce střídá infekci. Před půlrokem byla usvědčena *Escherichia coli*, před dvěma měsíci zase *Enterococcus faecium*, blízký příbuzný enterokoka *Enterococcus faecalis*. Lékaři jsou zvědaví, co se z bércového vředu pana Bércouna vykultivuje tentokrát.
-

A už to vědí: viníkem je nyní



- *Corynebacterium jejkeium*, relativně nejobávanější ze skupiny tzv. nedifterických (= nezáškrťových) korynebakterií. Původně se mu říkalo „korynebakterium skupiny JK“.
- Korynebakteria jsou grampozitivní tyčinky kyjovitého tvaru (koryné = kyj), některá jsou pleomorfní (různotvará), popřípadě i nekonstantně probarvená.
- Do stejného rodu patří i původce záškrty, dnes díky očkování u nás vzácný – *C. diphtheriae*.

Záškrť



Co ještě vědět o nedifterických korynebakteriích

- Jsou normální součástí běžné flóry na kůži, spolu se stafylokoky a kvasinkami
- V mikroskopii se vyznačují palisádovým uspořádáním – název dle raně středověkého kúlového opevnění



Co jsou to „koryneformní tyčinky“

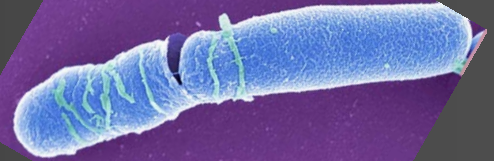
- „Koryneformní tyčinky“ (případně „diftheroidy“) jsou různé tyčinky s podobnou morfologií (i když jejich rozměry se mohou poměrně lišit).
- Všechny jsou občasnými původci různých typů lidských infekcí.
- *Arcanobacterium haemolyticum* je vzácným původcem faryngitid
- Další rody: *Dermatophilus*, *Rhodococcus*^{*}, *Turicella* atd. *Rhodococcus jostii* byl nalezen na mrtvém těle moravského markraběte a nekorunovaného římského císaře Jodoka (Jošta) zemřevšího 1411. Tělo je pohřbeno v kostele sv. Tomáše v Brně

Příběh čtvrtý



- Sestřička Blaženka se zděsila: přišly výsledky stěrů z nemocničních lůžek, které před týdnem odebírali pracovníci nemocniční epidemiologie. A skoro v polovině stěrů se našly nějaké bakterie, dokonce BACILY! No ano, tady to je – *Bacillus* sp. Sestřička Blaženka, chudinka ubohá, se celou noc trápila a špatně spala. Ráno zavolala na mikrobiologii a ptala se, cože je to za bakterii...
-

Mlýnský kámen spadl z dobrého srdíčka sestry Blaženky



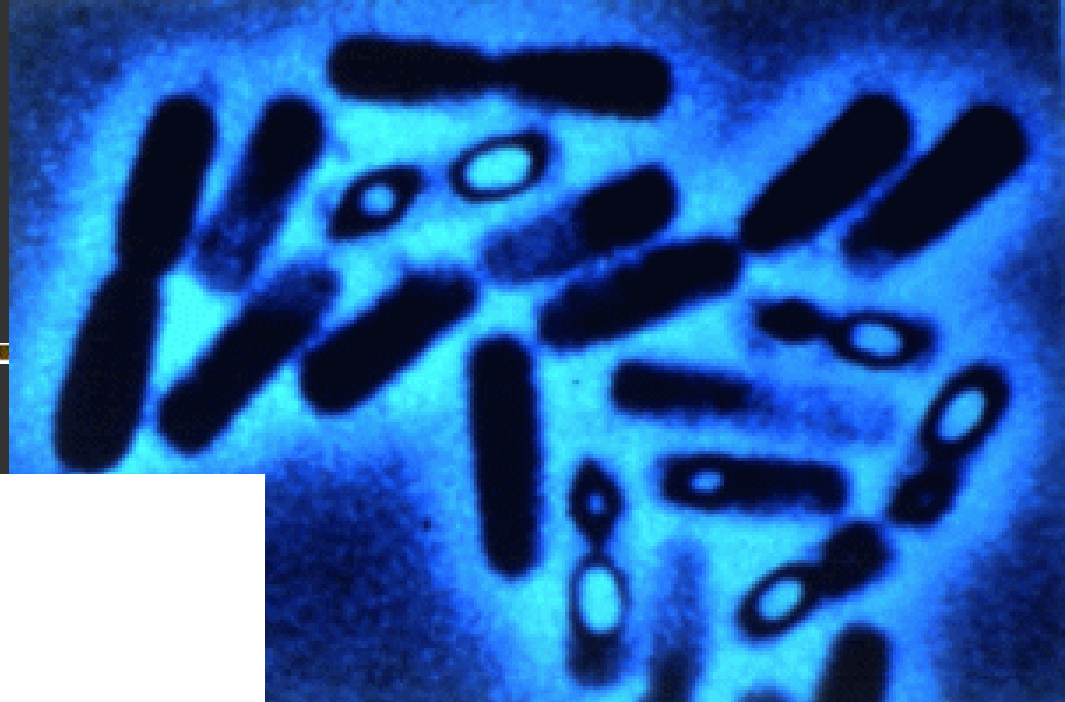
www.waterscan.co.yu

- když se dozvěděla, že většina příslušníků rodu *Bacillus* jsou **neškodné mikroby, vyskytující se ve vnějším prostředí**. Pokud se vyskytnou v kultivaci klinického vzorku, jde pravděpodobně o kontaminaci. Bacily tedy nejsou ve stěrech z lůžka závažným nálezem. Problém by byl jen tehdy, pokud by byly prokázány ve stěru z plochy, která má být sterilní (např. operační pole po dezinfekci)

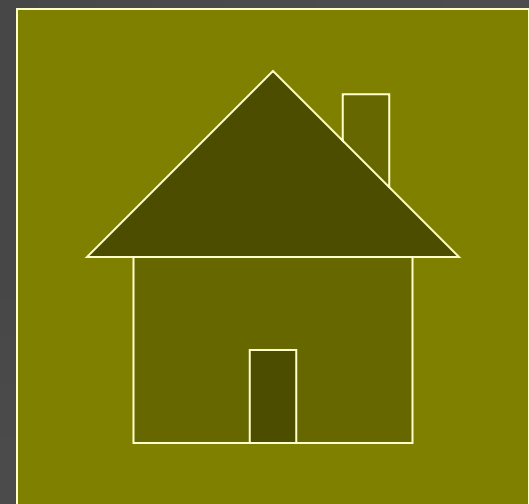
Není bacil jako Bacil! Například „Bacil“ na www.pismak.cz je známý as. Zahradníček ☺

Jsou však i bacily stojící za zmínku

- *Bacillus anthracis* se stal velice populárním při teroristických hrozbách poslední doby. Jinak coby původce veterinárního onemocnění – uhláku – byl jednou z prvních nákaz, proti nimž byla zkoušena (již Pasteurem) vakcinace.
- *Bacillus cereus* je původcem alimentárních intoxikací z obilných produktů.
- *Bacillus stearothermophilus* a *Bacillus subtilis* se vzhledem ke své schopnosti přežít při velmi vysokých teplotách používají jako indikátory účinnosti sterilizátorů



www.cropsoil.uga.edu



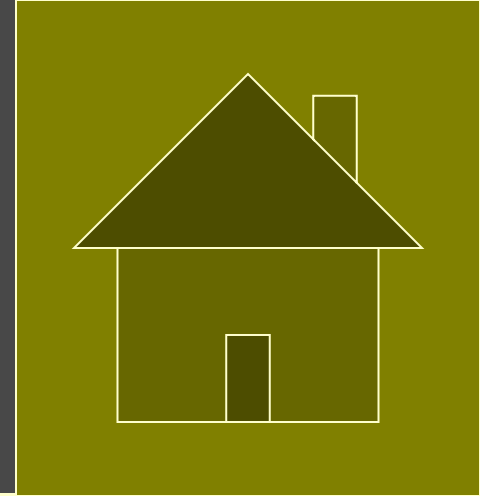
<http://membres.lycos.fr>

Enterokoky a G+ tyčinky: léčba

Léčba infekcí způsobených enterokoky a G+ tyčinkami

- Na enterokoky ani na listerie **neplatí cefalosporiny**. U *E. faecalis* je výhodný ampicilin, u *E. faecium* je primární rezistence. Dále se používá **ko-trimoxazol, doxycyklin, jako rezerva vankomycin**. V poslední době se zejména u hematoonkologických pacientů objevují epidemiologicky závažné **vankomycin rezistentní kmeny – VRE**. Zde zabírá pouze nové antibiotikum – **linezolid**
-

Antibiotika pro G+ tyčinky a enterokoky



- Enterokoky testujeme na MH,
G+ tyčinky na MH s krvinkami.

Antibiotikum	Zkratka	Referenč. zóna
Ampicilin (aminopenicilin)	AMP	17 mm
Ko-amoxicilin (aminopnc*)	AMC	18 mm
Co-trimoxazol (směs 2)	SXT	16 mm
Doxycyklin (tetracyklin)	DO	19 mm
Chloramfenikol	C	18 mm
Vankomycin (glykopeptid)	VA	17 mm

*Aminopenicilin potencovaný inhibitorem betalaktamázy

Diagnostika enterokoků a G+ tyčinek (+ obrázky)

Popis pachatelů (diagnostika) – 1

	Enterokok	Listerie	Koryneform.	Bacillus
Mikroskopie	<p>G+ koky v. krátkých řetězcích</p>  <p>http://textbookofbacteriology.net</p>	<p>G+ tyčinky řetězcí se jako špekáčky</p>	<p>G+ tyčinky skládající se vedle sebe (palisády)</p>	<p>G+ robustní tyčinky, sporulující (nemusí být viditelné)</p>
Kultivace	<p>šedavé, velké asi jako <i>Str. agalactiae</i>, většinou bez hemolýzy, ale i s virid. či h.</p>	<p>podobné entero- kokům, hemolýza je či není</p>	<p>velmi drobné kolonie podobné mouce</p>	<p>plst'ovité kolonie, někdy i výrazná hemolýza</p>

Enterokoky – vzhled kolonií

<http://microbiology.mtsinai.on.ca>



Popis pachatelů (diagnostika) – 2

Enterokoky

<http://www.morgenwelt.de>



- **Biochemické testy:** kataláza negativní, možné je biochemické rozlišení, důležité štěpení arabinosy (*E. faecalis* neštěpí, půda je zelená, *E. faecium* štěpí, žlutne)
- **Antigenní analýza** se zpravidla nepoužívá. V dobách, kdy patřily mezi streptokoky, je Lancefieldová zařadila do antigenní skupiny D (ovšem některé streptokoky ze skupiny D zůstaly v původním rodu)
- **Citlivost** lze testovat na běžném MH agaru. Existují i **půdy na skrínig VRE** (viz dále)

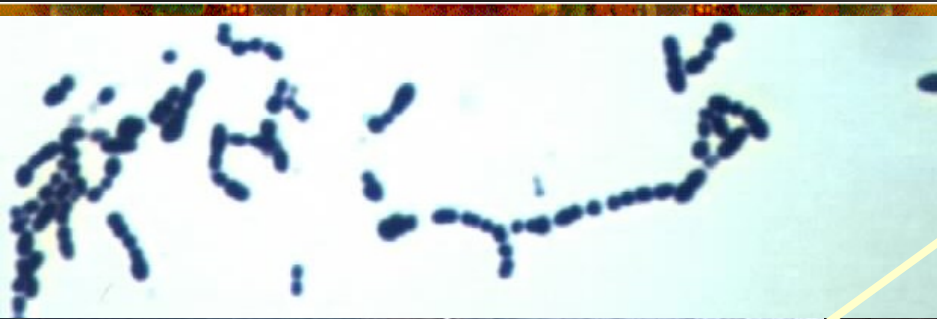
Popis pachatelů (diagnostika) – 2

G+ tyčinky

- **Biochemické testy:** kataláza u všech tři pozitivní, ale např. u rodu *Arcanobacterium* (blízkého korynebakteriím) je negativní! Biochemicky lze rozlišovat koryneformní tyčinky navzájem (API Coryne, Remel)
- **Růst při nízkých teplotách, vysokých koncentracích NaCl a hemolytické interakce** se používají v diagnostice listerií
- **Průkaz antigenu** – například průkaz difterického toxinu Elekovým testem

Fotografie z databáze zločinců 1

Enterokoky



Mikroskopie

Žluč-eskulin

Slanetz-Bartley



Foto:
www.medmicro.info
oba levé obrázky
fotografoval Prof.
MVDr. Boris
Skalka, DrSc.

Fotografie z databáze zločinců 2

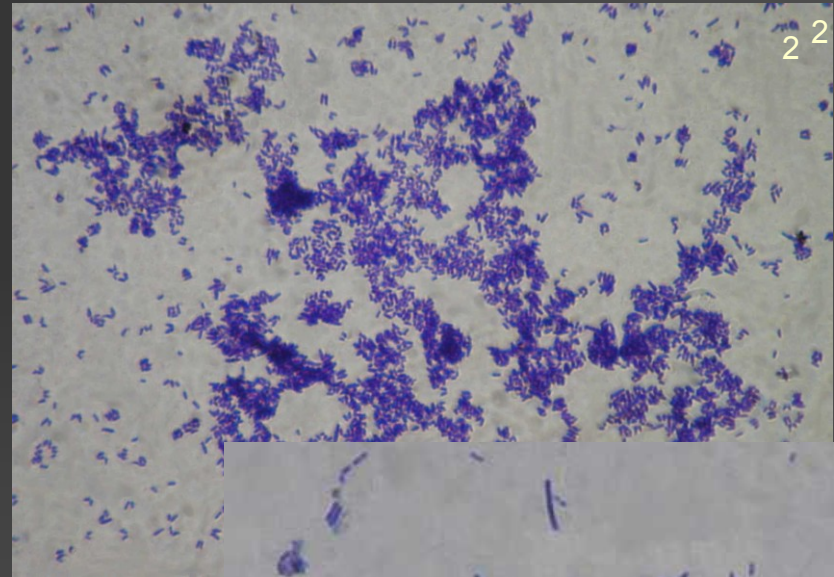
Tyčinky I

1, 2, 3 www.medmicro.info

4 <http://medinfo.ufl.edu>

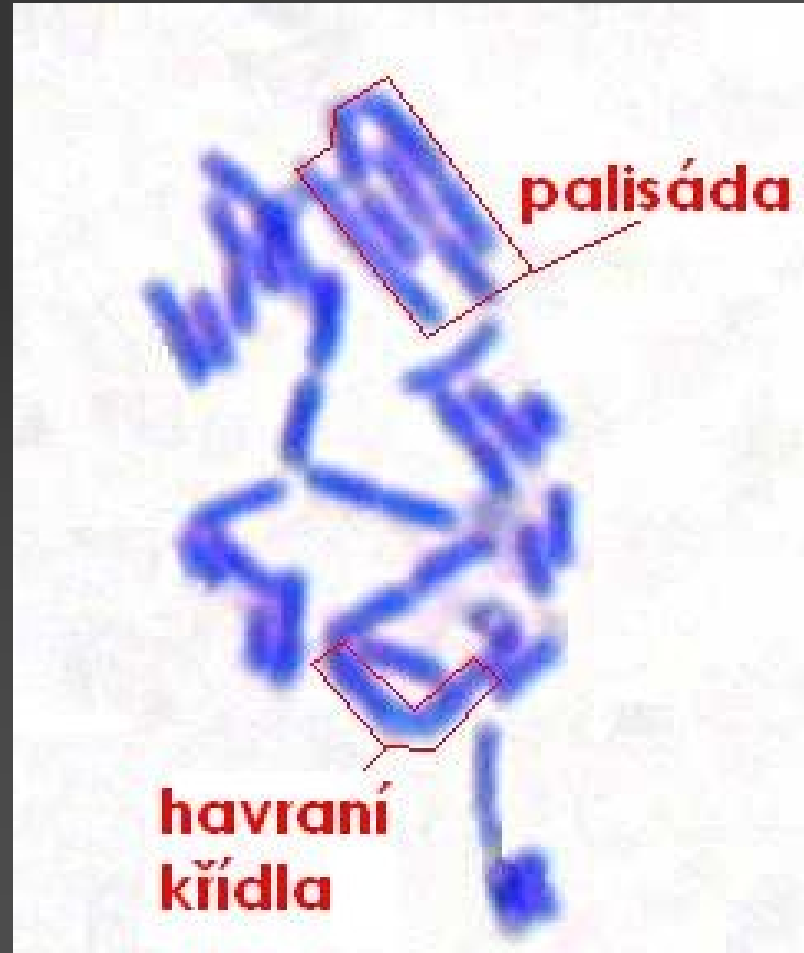
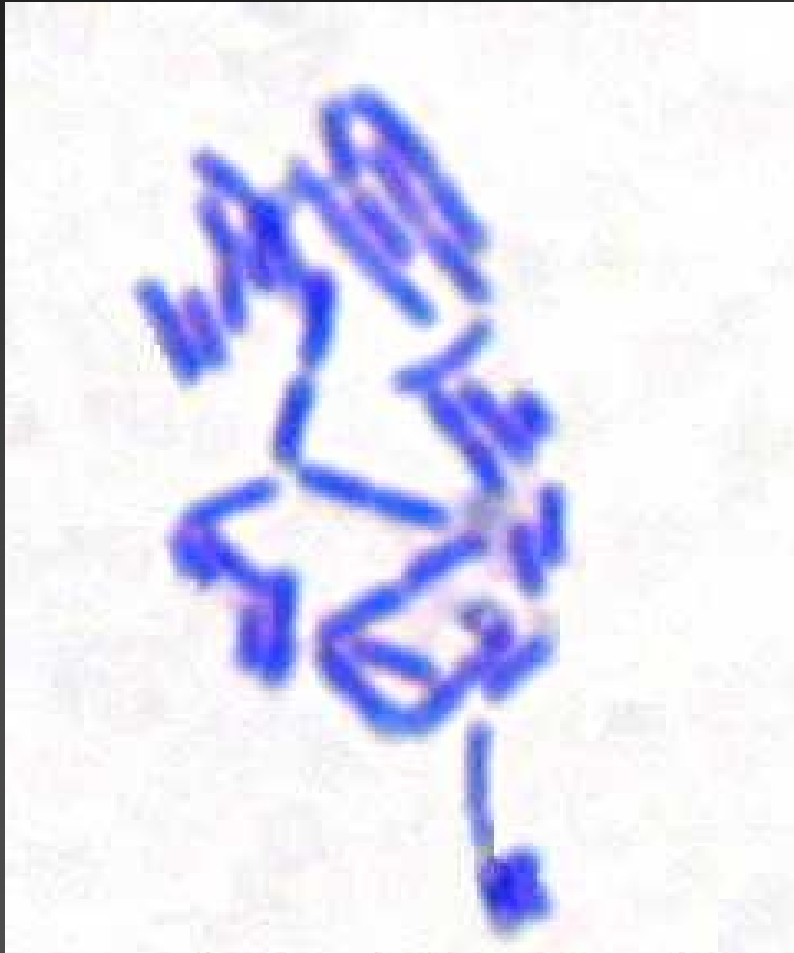
Corynebacterium Gram

Listeria – KA, Gram



Fotografie z databáze zločinců 3

Tyčinky I – korynebakteria, tvary



Fotografie z databáze zločinců 4

Tyčinky III

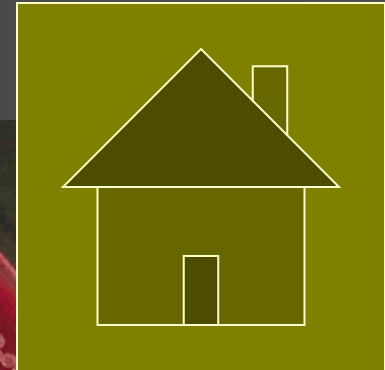
Bacillus cereus



Arcanobacterium haemolyticum



Bacillus subtilis



Diferenciální diagnostika enterokoků a G+ tyčinek

Diferenciální diagnostika: enterokoky

- Gramovo barvení rozliší grampozitivní koky, grampozitivní tyčinky a ostatní bakterie.
- Stafylokoky odliší pozitivní kataláza a růst na NaCl
- Streptokoky odliší nepřítomnost růstu na Slanetz-Bartleyho či ŽE půdě, popř. PYR testem (kromě *S. pyogenes* negativní)
- Vzájemné rozlišení je možné arabinózovým testem nebo složitějším (EnCoccus) testem



Rozlišení enterokoků

- Provedení arabinózového testu: kolonie se smísily s arabinózou a indikátorem a nechají inkubovat

Zelená	negativní	<i>E. faecalis</i>
Žlutá	pozitivní	<i>E. faecium</i>

- EnCoccus test má jen osm reakcí. Jinak se s ním pracuje podobně jako s jinými obdobnými testy

Diferenciální diagnostika: *Bacillus*

■ *Bacillus*:

- **kultivace:** velké, ploché, suché, plst'ovité kolonie, „rozlézající“ se po povrchu agaru, někdy s výraznou hemolýzou, jindy zcela bez ní
- **mikroskopie:** velmi robustní tyčinky, někdy s nálezem centrálně až subterminálně uložených spór, jež mohou, ale nemusí bubřit tyčinku.

Diferenciální diagnostika: listerie a koryneformní tyčinky

■ *Listeria*:

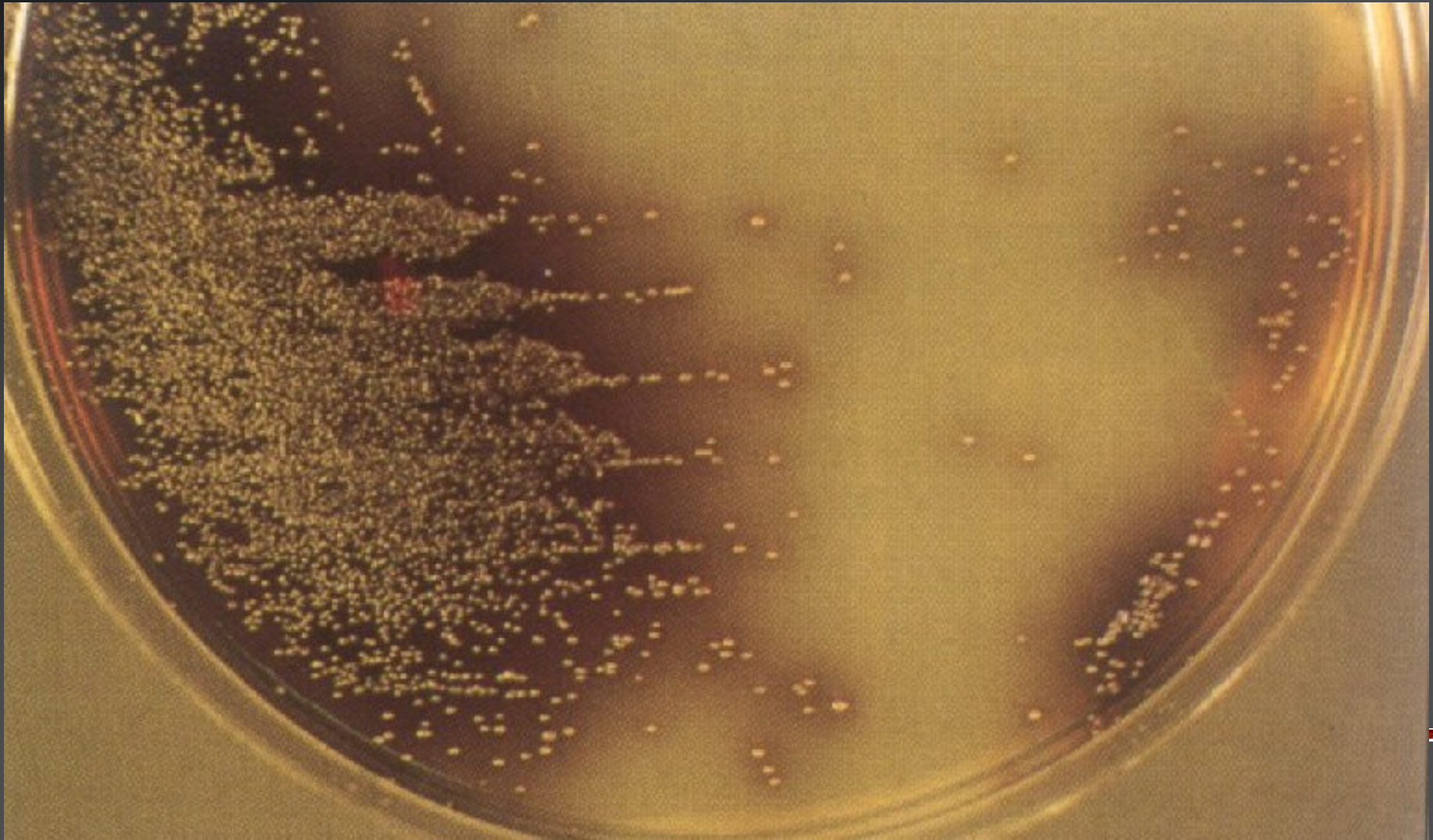
- **kultivace**: bezbarvé až naředlé kolonie, velmi podobné enterokokovým, bez hemolýzy nebo s hemolýzou
- roste také na žluč-eskulinovém (ale ne Slanetz-Bartleyově) agaru a roste rovněž na KA při 4 °C
- **mikroskopie**: drobnější než Bacillus, neuspořádané v palisádách, ale spíše v krátkých řetízcích.

■ *Corynebacterium* (a blízké rody):

- **kultivace**: šedavé nebo bělavé kolonie podobné stafylokokovým, ale někdy i o hodně menší, většinou bez hemolýzy
- **mikroskopie**: spíše menší než předchozí, ale kyjovité a uspořádané do palisád.

Žluč-eskulinový agar

<http://www.geocities.com>

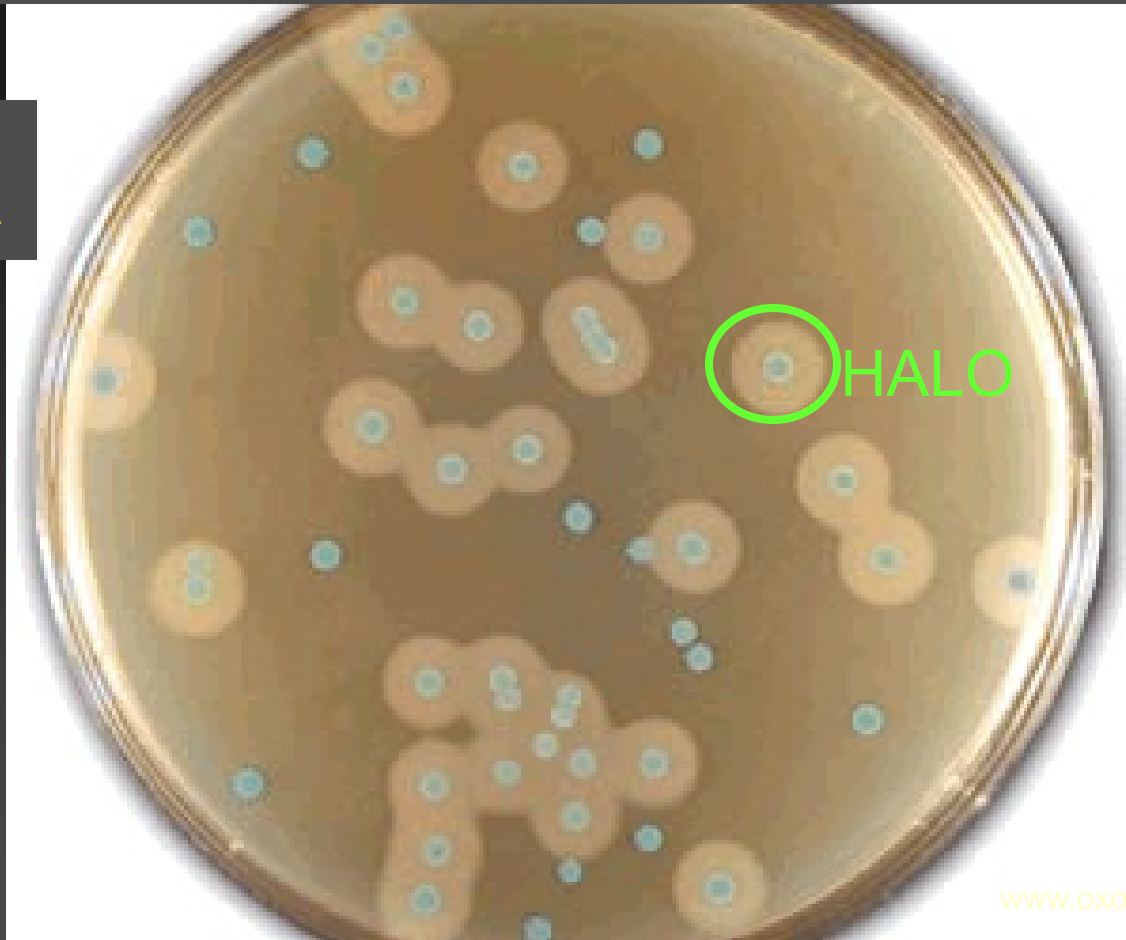


Růst listerií při 4 °C

- Ze všech námi studovaných G+ tyčinek jen *Listeria* je schopna růst při nízkých teplotách. To jí umožňuje šíření v sýrárnách
 - Z jiných bakterií (ne G+ tyčinek), roste při chladničkových teplotách několik dalších druhů (*Yersinia*, některé druhy pseudomonád apod.)
-

Chromogenní půda na listerie

ALO

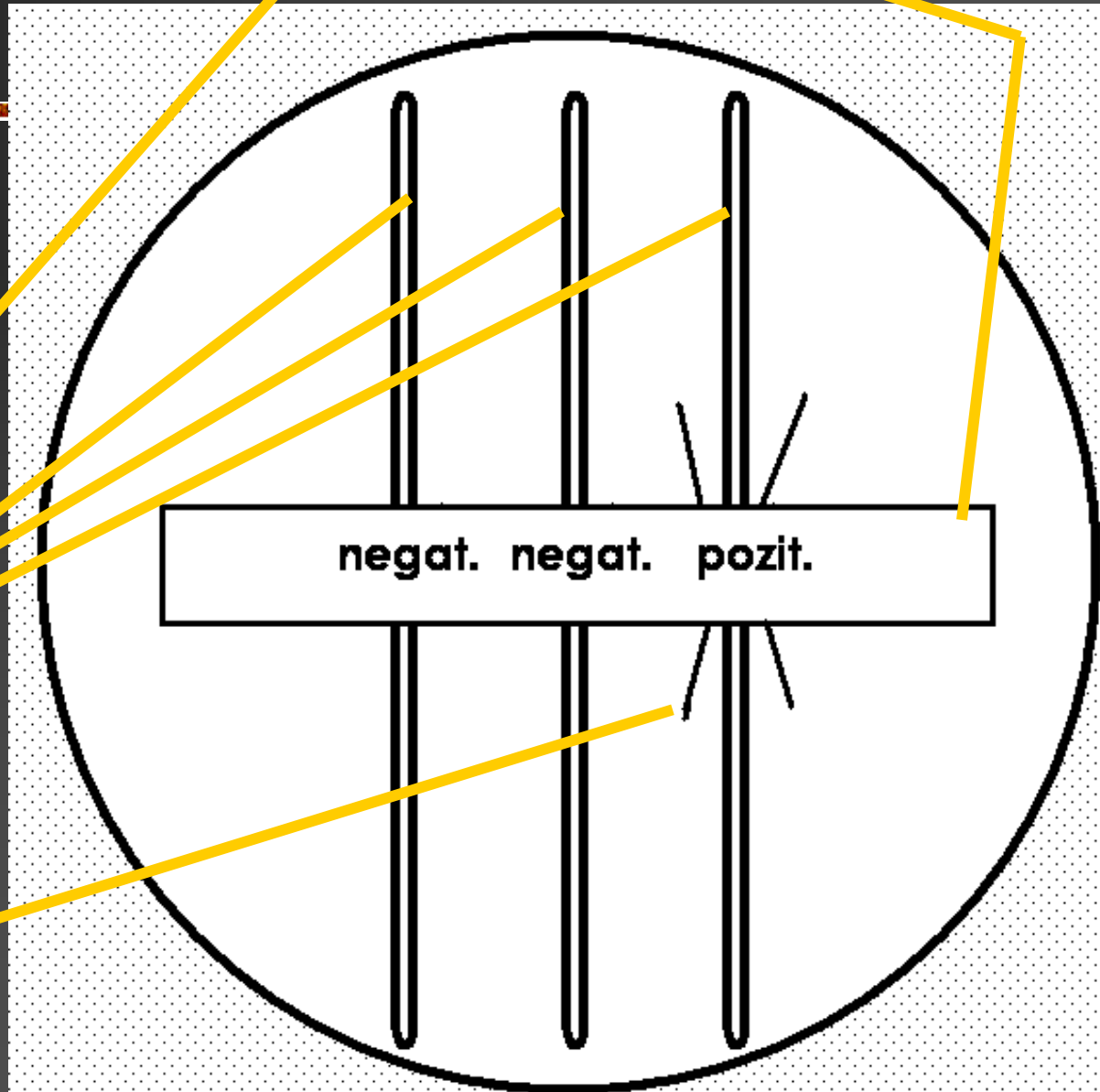


www.oxid.com

Existují různé chromogenní půdy k diagnostice listerií. Ta, která je na obrázku, se vyznačuje modrým zbarvením všech listerií; patogenní druhy navíc mají kolem sebe halo (odlišně zbarvené okolí kolonie).

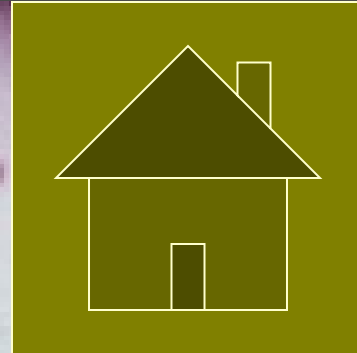
Elekův test

Jde o detekci toxinu *Corynebacterium diphtheriae*.
Používáme papírek se specif. antitoxinem, který je položen na povrch agaru, poté se očkují testované kmeny. Pozitivní výsledek = precipitační linie.

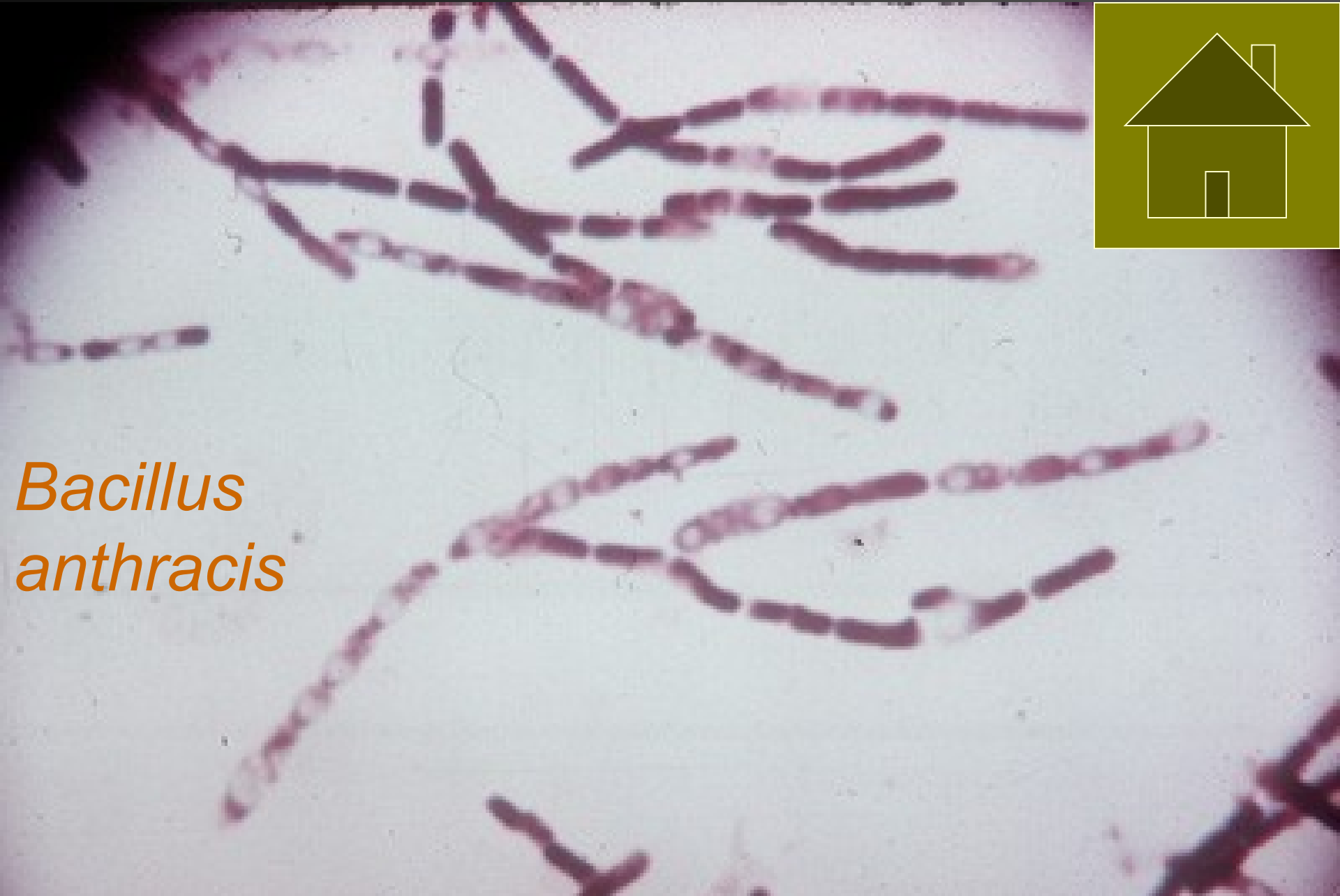


Konec

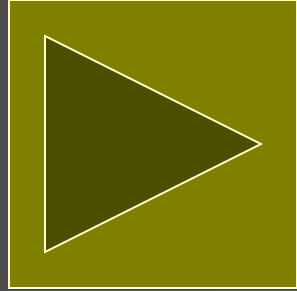
<http://www.cdphe.state.co.us>



Bacillus anthracis



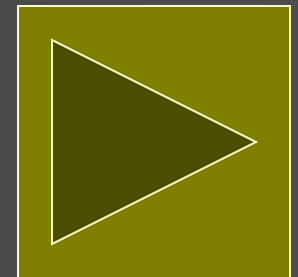
Bonus: VRE (vankomycin rezistentní enterokoky)



<http://www.morgenwelt.de/typo3temp/5ce14d39b5.jpg>

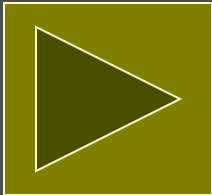
Enterokoky – charakteristika citlivosti

- Enterokoky jsou **primárně rezistentní na řadu antibiotik** (mimo jiné všechny cefalosporiny, ale také makrolidy, linkosamidy, horší je i účinnost G-penicilinu)
- ***Enterococcus faecium*** (méně patogenní, ale více rezistentní než *E. faecalis*) je navíc **primárně rezistentní na ampicilin**
- K léčbě lze použít např. ko-trimoxazol, tetracykliny, chinolony, glykopeptidy (vankomycin, teikoplanin); aminoglykosidy pouze v kombinaci

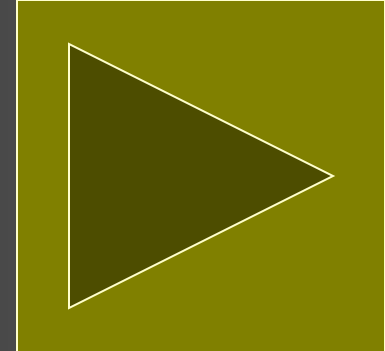


VRE – kdy jsou závažné, a proč

- Rezistence na vankomycin jsou závažné u **klinicky významných izolátů druhů *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium***
- Pokud je zachyceno pouhé **nosičství VRE**, není to důvod k léčbě (enterokok je normální flórou střeva), avšak je to důvod k obezřetnosti a izolaci pacienta
- Z tohoto důvodu se u pacientů ARO často provádí **screening střevního nosičství VRE**
- Za závažnou se nepovažuje rezistence na vankomycin u kmenů *E. gallinarum* či *E. casseliflavus*, izolace se nepovažuje za nutnou (druhy s menší patogenitou)
- Významnou hrozbou je **přenos rezistence na stafylokoky**, viz dále. I to je důvod, proč VRE hlídat a kontrolovat



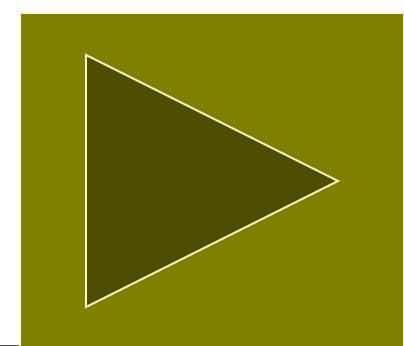
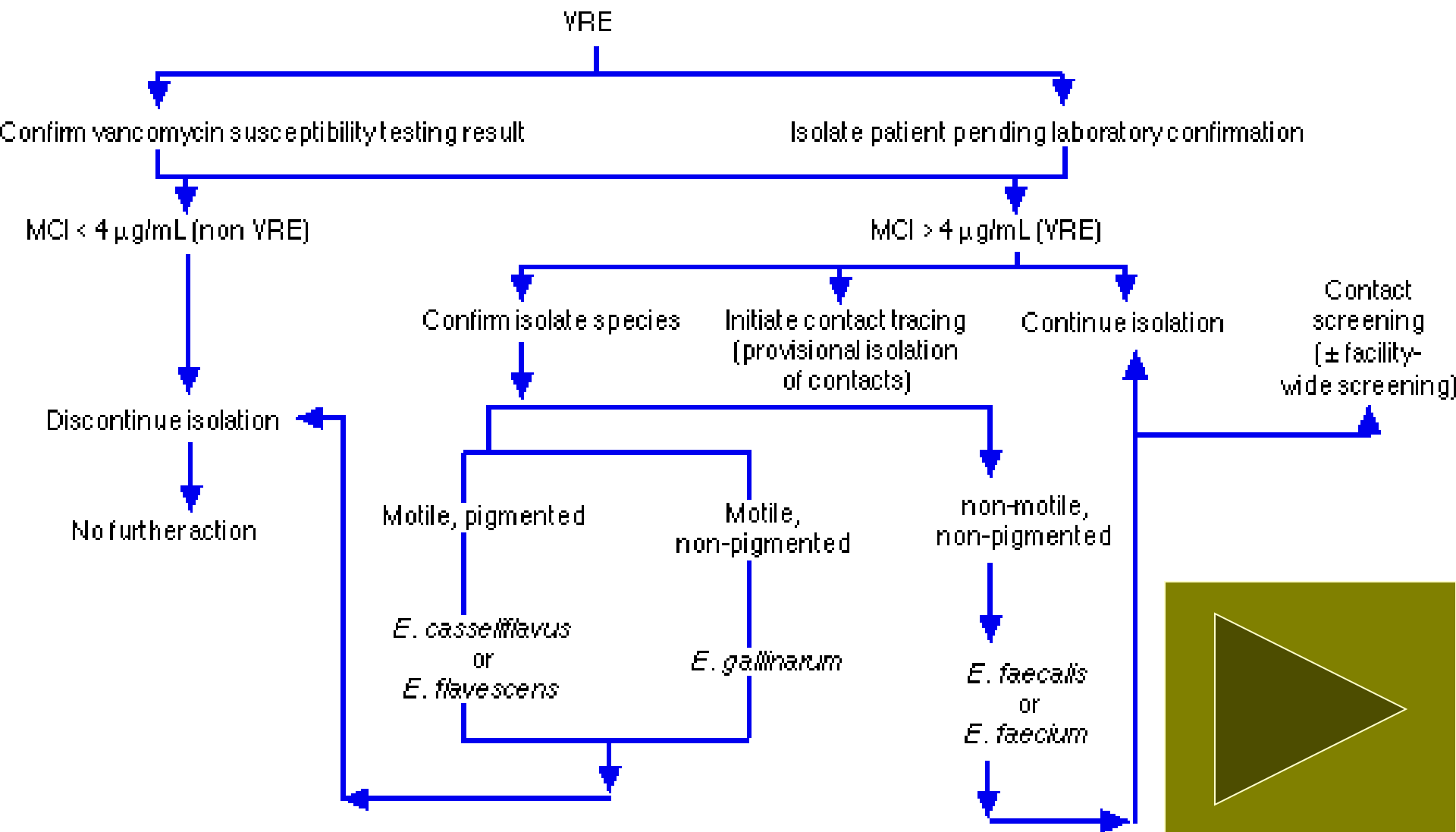
VRE v Brně



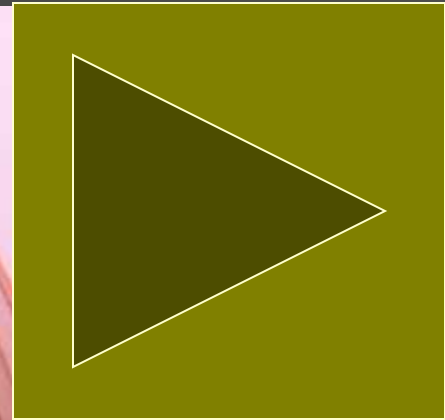
- Na MÚ LF MU a **FN USA** Brno byly dosud zaznamenány pouze **ojedinělé případy VRE**
- Naproti tomu na OKM FN **Brno-Bohunice** jsou nálezy VRE **podstatně častější**
- Pravděpodobným důvodem je spektrum pacientů. VRE jsou časté **u pacientů s nádorovým bujením leukocytárních buněk**, a tito pacienti se v rámci JMK soustřeďují právě v bohunické nemocnici
- I svatá Anna se ovšem udržuje ve stavu bdělosti a je pravděpodobné, že i zde se časem VRE vyskytnou

Příklad systému bdělosti pro VRE

Figure 1 Infection Control Response to Report of VRE

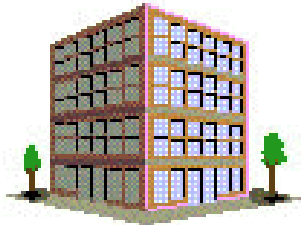


Lékem volby je linezolid (ZYVOXID),
případně dalfopristin/quinupristin
(SYNERCID)



Možné mechanismy přenosu VRE

Health care settings



Colonization of patients

Health care transmission:
Worker hands
Environment

Colonization or infection identified
due to selective antimicrobial pressure
and/or underlying illness

Community settings



Persistent colonization of
discharged patients with VRE

Household transmission

Colonization of individuals

Discharge

Admission

