

Mikrobiologický ústav uvádí

# NA STOPĚ PACHATELE



Díl čtvrtý:

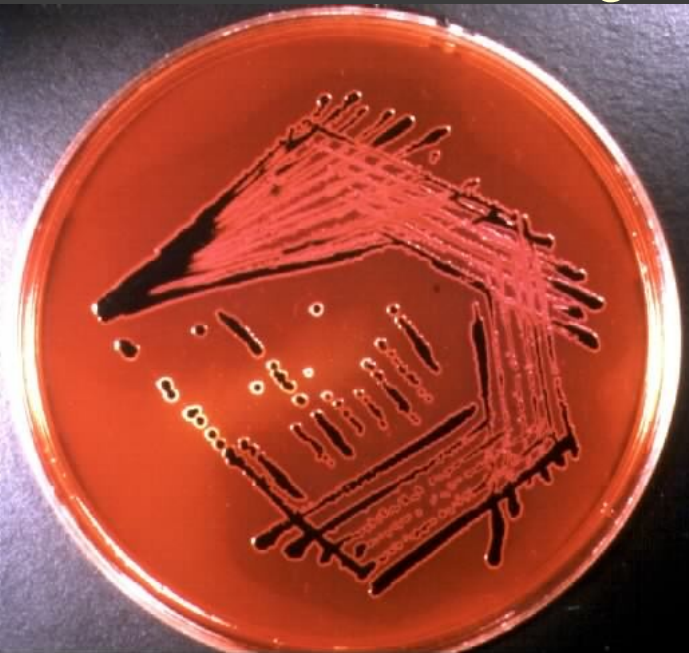
Enterobakterie (a spol.)

# Na začátek báseň...



<http://www.uwec.edu>

Salmonella na MAL agaru



Nemůžem vždy slepici  
kontrolovat stolici.

Jednou projdem drůbežárnou  
a stolici najdem zdárnou.

Přiletí však holub bělý  
zanese tam salmonely.

Odnesou pak vejce  
pro cukráře – strejce

Cukrář – strýček nevinný  
nadělá z ní zmrzliny

Mládež sní ji s důvěrou  
a všichni se...

# Přehled témat

Klinický popis: *Enterobacteriaceae*

Klin. popis: *Campylobacter, Helicobacter, Vibrionaceae*

Obrázky bakterií

Diagnostika enterobakterií

Dg. rodů *Campylobacter, Helicobacter, Vibrionaceae*

Klinický popis:

*Enterobacteriaceae*

# Příběh první

- Slečna Tereza je mlsná. Dnes si po obědě dala krémový zákusek. Odpoledne ji začala zvracet a měla průjem. Navštívila lékaře, ten jí odebral výtěr z řitního kanálu. Za několik dní volali Tereze z územního pracoviště krajské hygienické stanice. Tereza si byla jistá, že za všechno může krémový zákusek. Ukázalo se však, že její podezření bylo falešné...

# Kdo je tedy skutečný viník?

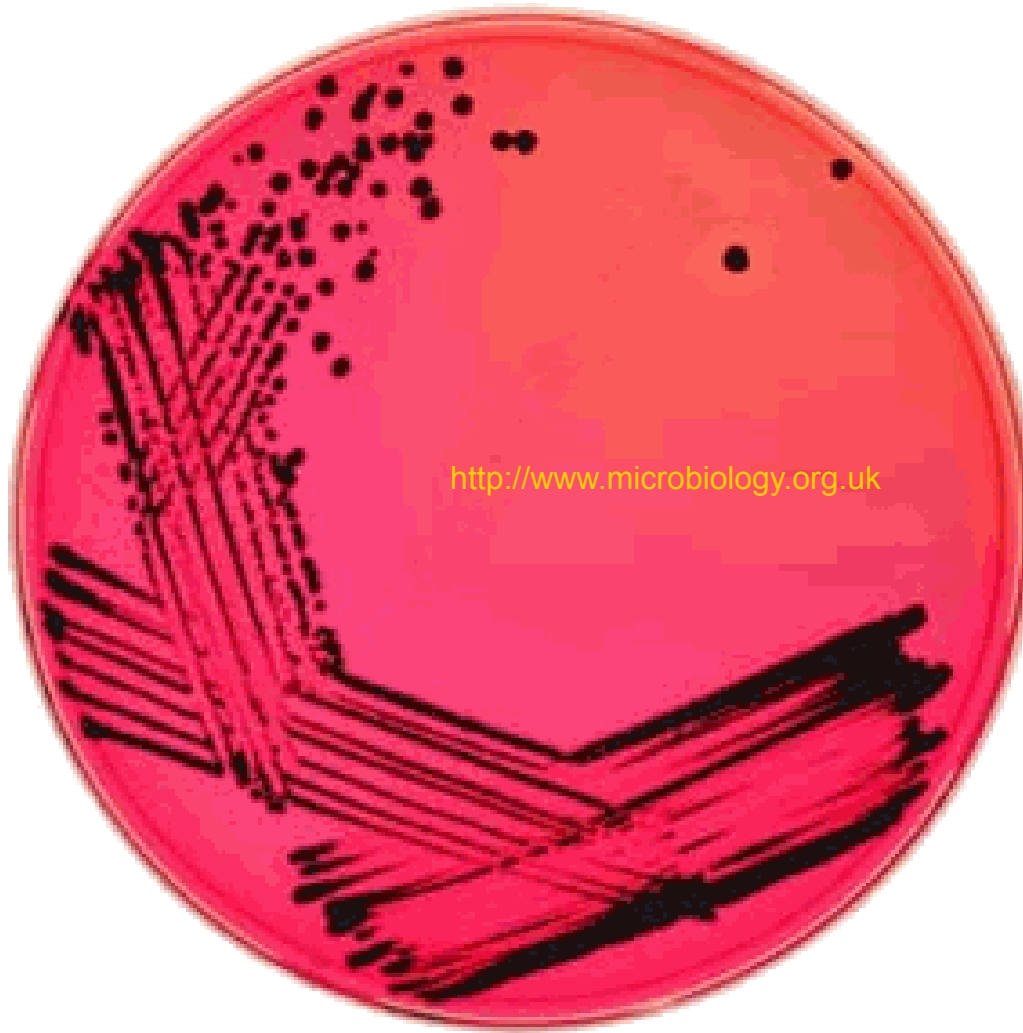
- Bakteriálním viníkem je *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*, zkráceně *Salmonella* Enteritidis
- Viník – jídlo **nemůže být krémový zákusek!** Neodpovídá totiž inkubační doba, které je u salmonelóz zpravidla dva dny, někdy ale i týden
- **Viníkem – jídlem** se nakonec ukázal být žloutkový věneček, který Tereza zbaštila o dva dny dřív
- **Lidským viníkem** bude pravděpodobně někdo v cukrárně „U hysterické cukrářky“, kde někdo něco nejspíš zanedbal. Právě teď po tom pátrá oddělení hygieny výživy KHS. Může jít o primární či sekundární kontaminaci jídla.



# Salmonella

<http://www.uwec.edu>

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

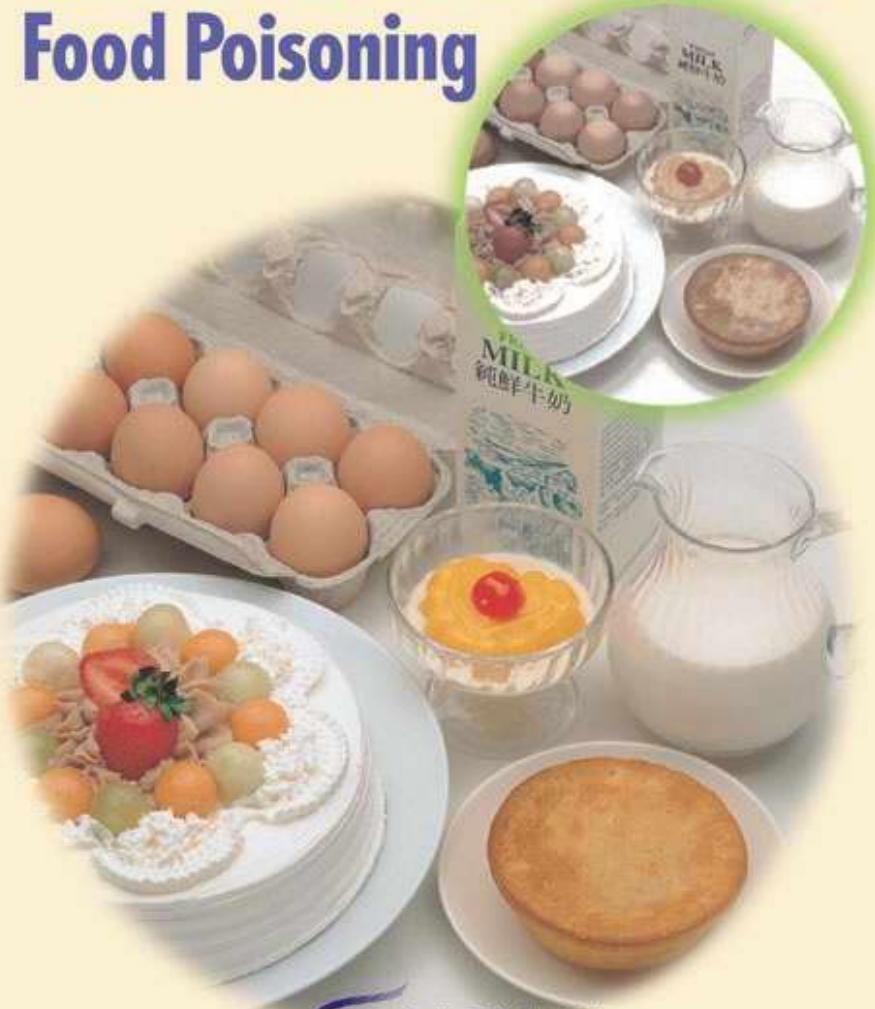


<http://www.microbiology.org.uk>



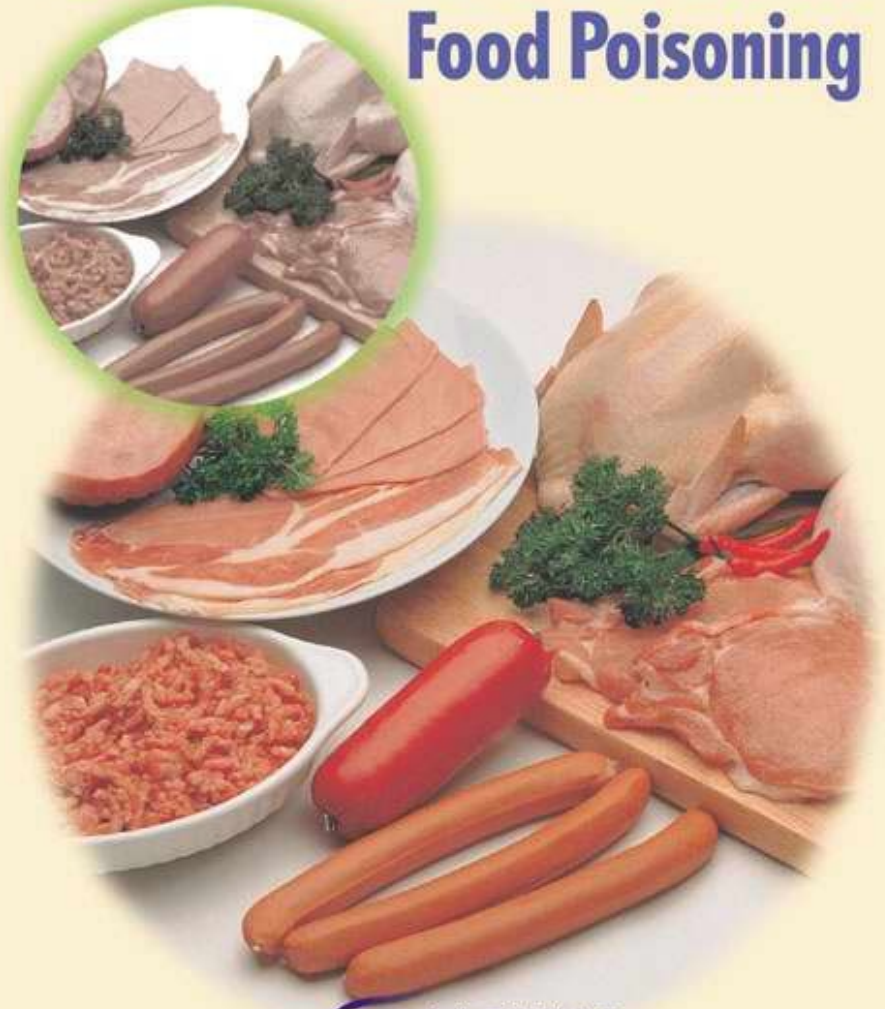
# Salmonella

## Food Poisoning



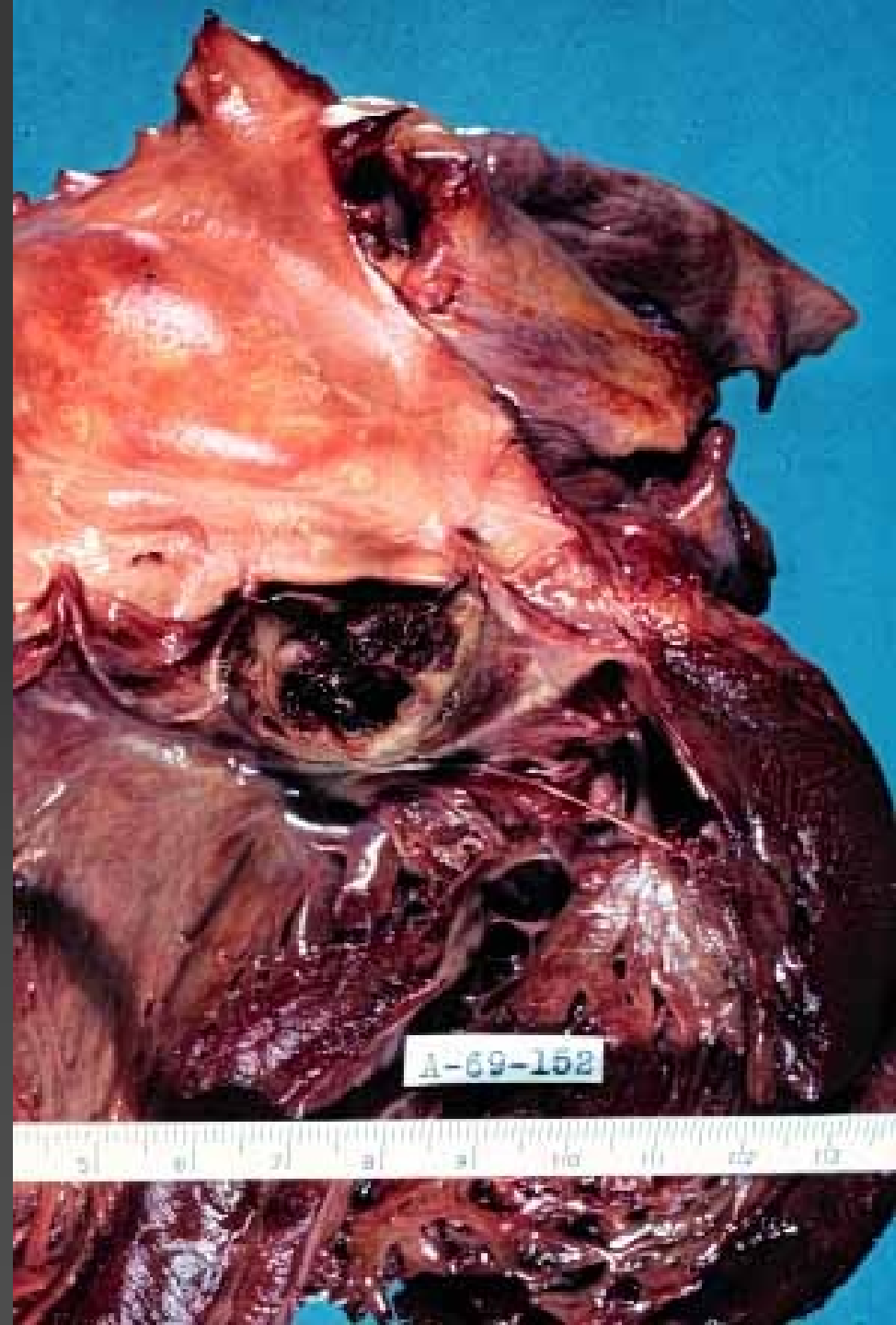
# Salmonella

## Food Poisoning





# Salmonelová endokarditis



# Primární patogeny z řad enterobakterií

- *Enterobacteriaceae* je klinicky nejdůležitější čeleď gramnegativních tyčinek (ale důležitá je i pro ne-klinická odvětví mikrobiologie)
- Nejhorší patogeny způsobují **celkové infekce**: je to *Yersinia pestis* (způsobuje mor) a tzv. antropopatogenní serovary salmonel (serovary Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B a Paratyphi C – způsobují břišní tyfus – onemocnění s vysokými horečkami a bolestí hlavy)
- Závažné jsou ale i obligátní patogeny působící zpravidla „jen“ střevní infekce. I u nich je však riziko sepse, hlavně u oslabených osob
- Týká se to rodů *Salmonella*, *Shigella* a *Yersinia*

# Mor (*Yersinia pestis*)



# Bacilární úplavice (shigelóza) z hlášení KHS JMK za květen 2008

## Shigelóza (A03)

- Rodinný výskyt – dítě nar. 2005 z Brna, rómské národnosti. První příznaky 10. 5. **Teplota 38 °C, průjem, zvracení.** Hospitalizace na KDIN FN Brno od 12. 5., kultivačně *Shigella sonnei*. V epidemické souvislosti hospitalizovány 17.5. a 22. 5. další 3 děti nar. 2003, 2002, 1994. Ve všech případech potvrzena *Shigella sonnei*.

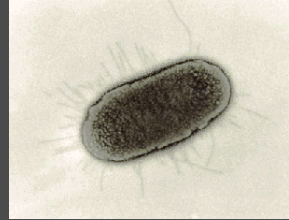
# Poznámka k salmonelám a shigelám

- To, že mezi střevními patogeny jsou rozdíly, ukazuje příklad salmonel a shigel.
- **Salmonely** potřebují vysokou infekční dávku. Musí se tedy pomnožit v nějaké potravíně. Infekce jsou téměř výhradně z potravin.
- **Shigelám** naproti tomu stačí malá infekční dávka, takže se snadno přenesou špinavýma rukama, klikou od záchodu nebo kontaminovanou vodou.
- Existují také **klinické rozdíly** (rozdílný charakter průjmu apod.). Například shigelóza má svůj specifický název – **bacilární úplavice/dysenterie** (neplést s amébovou úplavicí)

# Příběh druhý



- **Paní Mokrá** je v péči urologické kliniky pro přetrvávající potíže při močení
- Paní Mokrá má podobné **potíže opakovaně**. Po třech porodech má **narušenou svalovinu pánevního dna**, léčila se i pro **inkontinenci moče**. Lékaři ji upozornili, že riziko močové infekce je u ní zvýšené, protože má narušené mechanismy normální obrany proti infekci. Je to trochu bludný kruh, protože opakované infekce stav sliznic dále zhoršují



# Kdo za to tentokrát může?

- Viníkem je *Escherichia coli*, respektive její uropatogenní kmen (uropatogenní *E. coli* – UPEC)
- Viníkem by mohla být i kterákoli jiná z podmíněně patogenních enterobakterií (ale i obligátně patogenní kmeny, např. salmonely, se uplatňují)
- *Escherichia coli* je jednou z nejdůležitějších součástí střevní mikroflóry, kde je zdraví prospěšná: produkuje bakteriociny, které nedovolí jiným bakteriím kolonizovat sliznici. *Escherichia coli* dokonce zásobuje tělo vitamíny (zejména E a K).
- *Escherichia coli* byla objevena německo-rakouským profesorem Theodorem Escherichem (zemřel 1911 – před 100 lety)

# Patogenita *Escherichia coli*

- Uvnitř střeva
  - EPEC (enteropatogenní EC)
  - ETEC (enterotoxické EC)
  - EIEC (enteroinvazivní EC)
  - STEC (shiga-toxigenní EC), tato skupina také zahrnuje EHEC – enterohemorhagické *E. coli*)
  - EAggEC (enteroaggregativní *E. coli*)
  - Kombinace (STEC + EAggEC = kmen O:104H:4, který způsobil těžkou epidemií v Německu 2011)
- Mimo střevo
  - UPEC (uropathogenní *E. coli*)
  - Kmeny způsobující respirační infekce
  - Kmeny způsobující sepse, infekce ran atd.



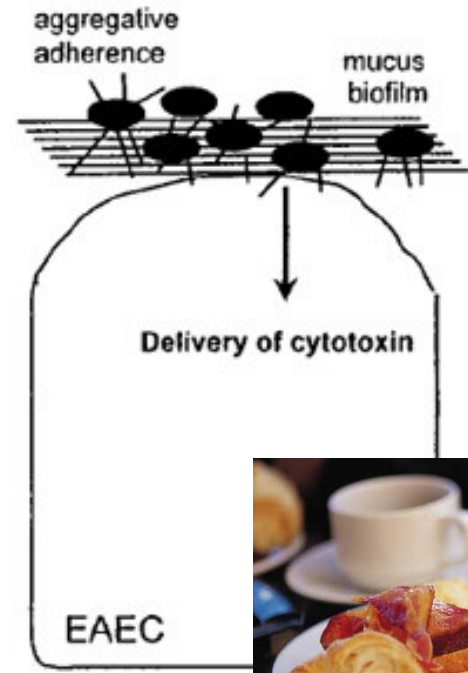
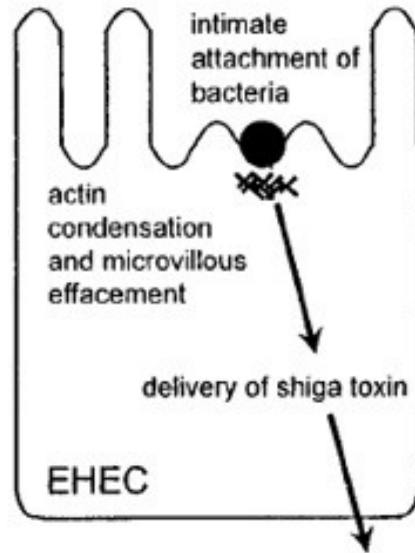
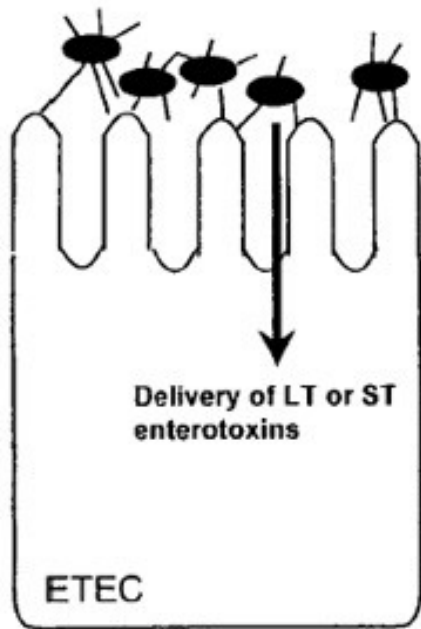
# Multirezistentní enterobakterie

- Problémem moderní doby je přítomnost kmenů enterobakterií, které jsou rezistentní na mnoho antibiotik. Mohou to být kmeny různých druhů. Jde zejména o produkci širokospektrých betalaktamáz typu ESBL, případně ampC.

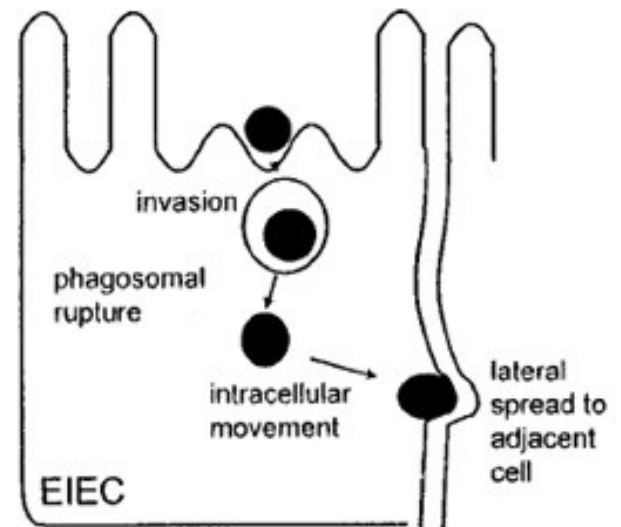
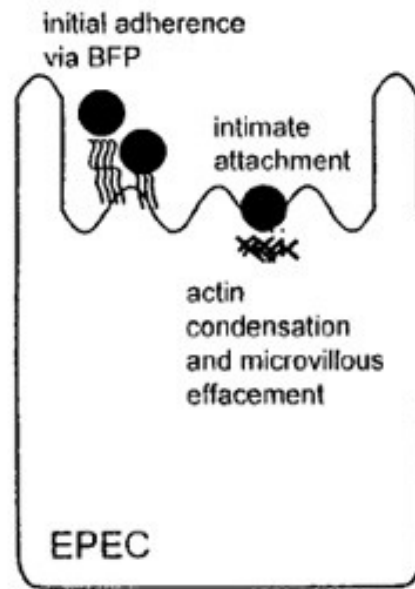
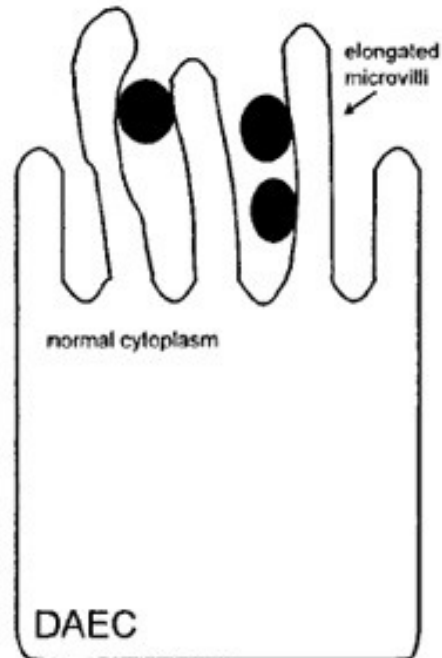


# Stěna močového měchýře s adherovanými escherichiiemi





<http://www.frankpasternak.com>

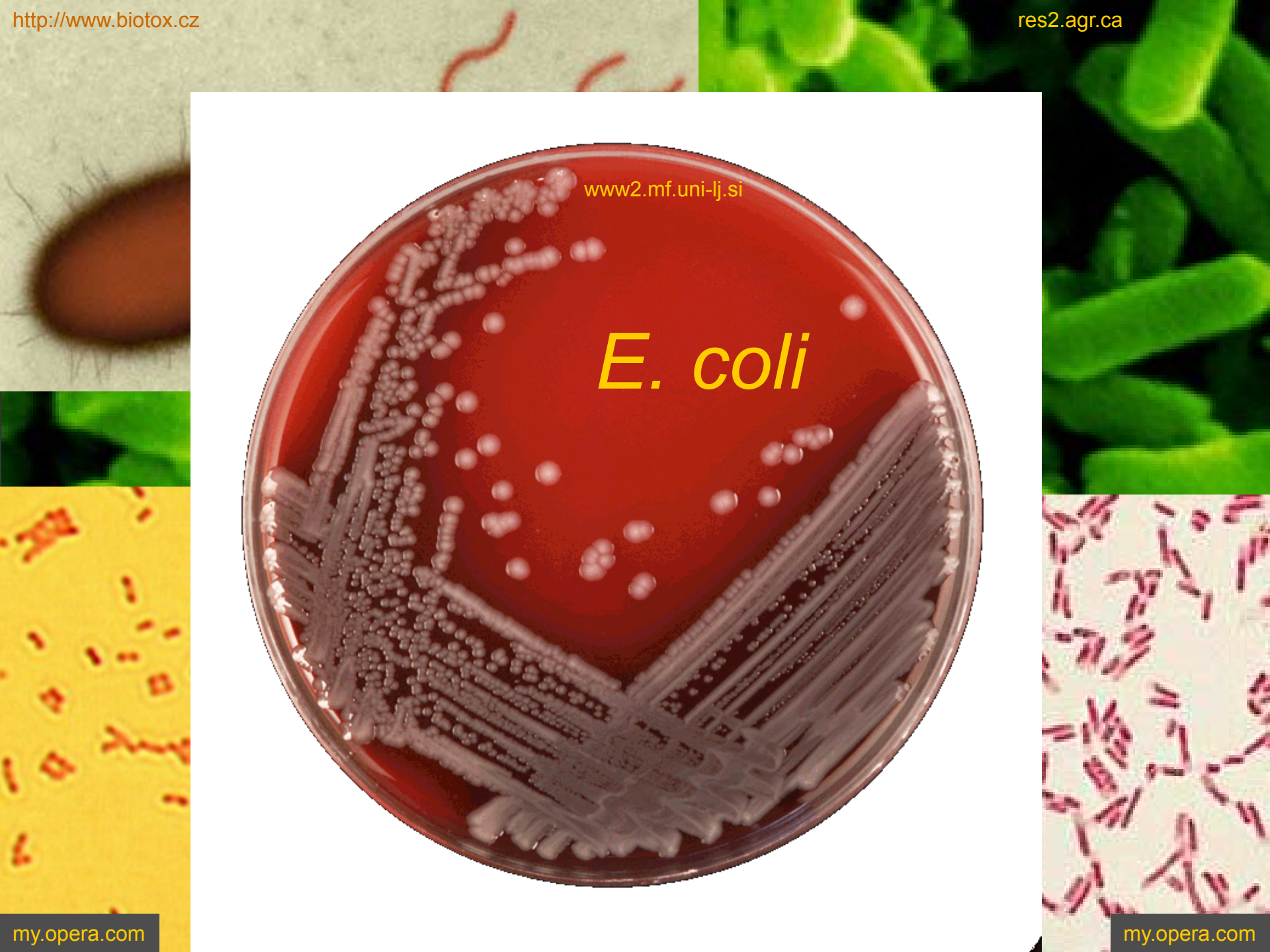




# I korneální vřed může způsobit *Escherichia coli*

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





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

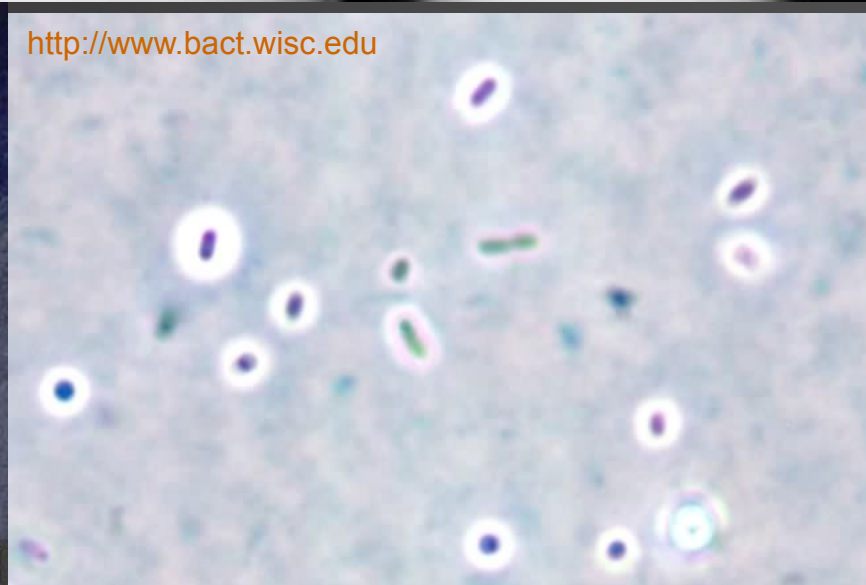
*E. coli*

# Některé další oportunně patogenní enterobakterie

- *Enterobacter, Klebsiella, Pantoea* – často opouzdřené, mukózní kolonie. Zejména klebsiela je častým původcem nemocničních infekcí (dýchací cesty, cystitidy)
- *Proteus, Providencia, Morganella* – proteolytické kolonie (v diagnostice typický zápach jejich kolonií). Občasní původci infekcí močových cest a dalších infekcí
- *Citrobacter* – biochemicky podobný salmonele, ale má pozitivní ONPG test
- *Hafnia* – primární patogen včel

# Co tropí klebsielly...

<http://microbewiki.kenyon.edu>



**BrownMed**  
Brown Medical School

[www.brown.edu](http://www.brown.edu)



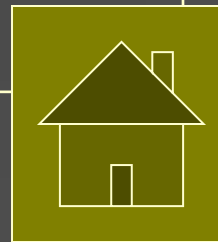
# Přehled enterobaktérií

Červeně pigmentovaný kmen serracie my.opera.com



Příběh	Patogenita	Příklady
–	Systemová	<i>Y. pestis</i> , AP** salmonely
1.	Střevní	ZP* salmonely, shigely, yersinie
2.	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>

\*zoopatogenení \*\*antropopatogenní

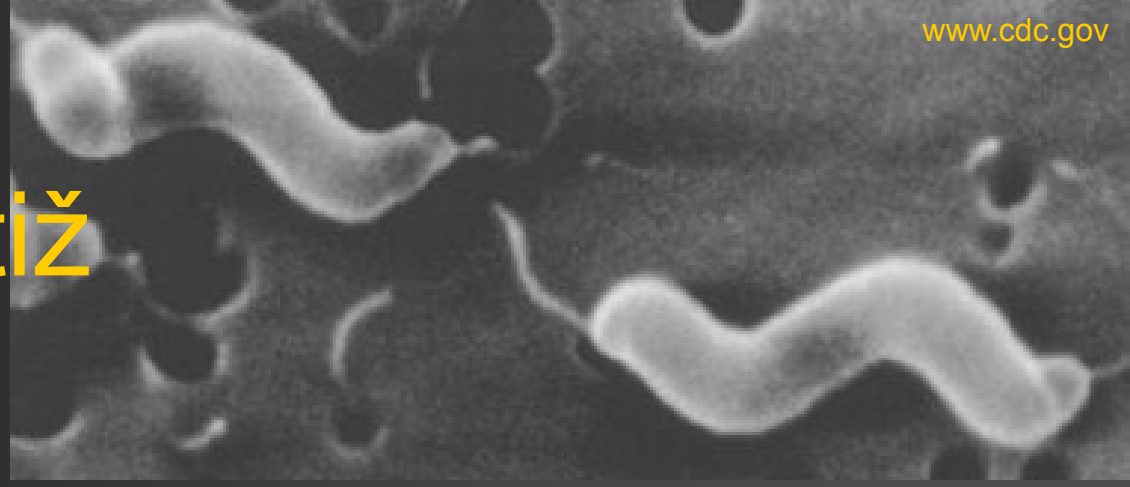


Klinický popis:  
*Campylobacter*,  
*Helicobacter* and  
*Vibrionaceae*

# Příběh třetí

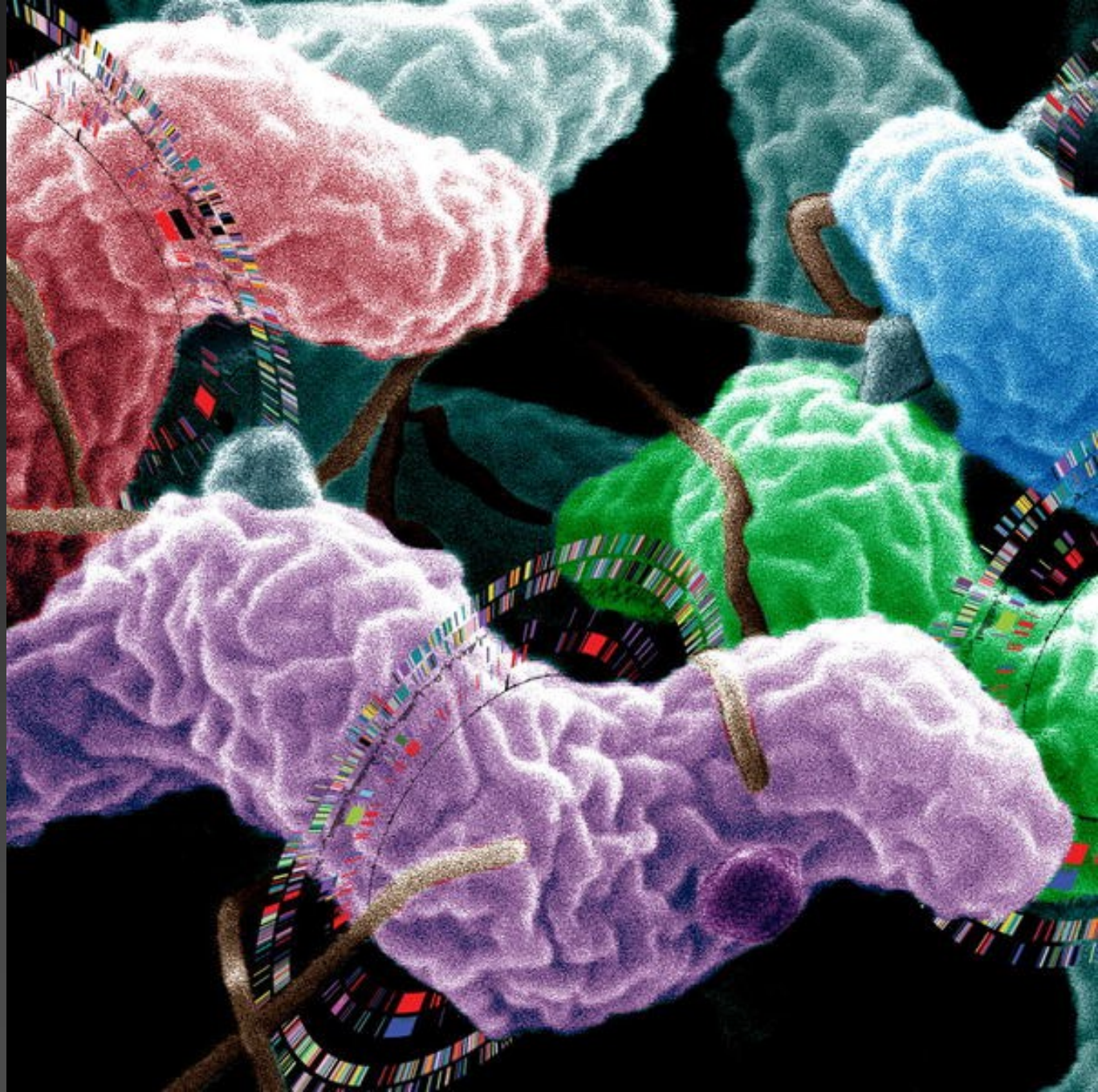
- Student František je častým návštěvníkem fast-foodů. Hlavně si rád a často pochutnává na jídlech z kuřecího masa.
- Proto ani hygienici nepřišli na to, které konkrétní jídlo mohlo za jeho průjmové potíže. František si myslel, že má nejspíš salmonelózu. Hygienici mu však vysvětlili, že salmonelóza se přenáší hlavně z vajíček, kdežto náš viník spíše z kuřecího masa.

# Viníkem je totiž



- *Campylobacter jejuni*, gramnegativní zahnutá tyčinka. Nepatří mezi enterobakterie, ale kamylobakteri6za je sv6m pr6b6hem a z6vaŹností srovnateln6 se salmonel6zou
- **Po6et p6řipad6** u n6s je v posledn6ch letech p6řibližn6 stejn6 jako v p6řipad6 salmonel6zy. T6Źko řici, do jak6 m6ry kamylobakteri6zy skute6n6 p6řibylo a do jak6 je jen l6pe diagnostikov6na neŹ d6řive

# Kampylobaktery



# Odbočka, ale pro praxi důležitá: Něco málo o odběru stolice

- Zatímco na parazitologii a virologii je nezbytná kusová stolice, na bakteriologii sice není chybou ji poslat, ale není nutná
- Dříve se posílaly výtěry z řitního kanálu na suchém tampónu, nebo takzvané rektální rourky (natíraly se glycerinem, aby odběr nebolel – as. Zahradníček to při svých začátcích ještě zažil, děti ve školce to stejně snášely dost špatně)
- Dnes je metodou volby **tampon zanořený do transportního média** (nejlépe Amiesova). Je to právě především kvůli kamylobakterům



## Příběh čtvrtý

- Pan Žáha má problém: **pálí ho žáha**. Problémů má více, už také zvracel krev a je pravděpodobné, že má **peptický vřed**.
- Pomalu už neví, jestli je víc doma doma, nebo na **gastroenterologii**, a fibroskopy polyká častěji než své dříve oblíbené utopence.
- Při poslední gastrofibroskopii mu **endoskopicky odebrali dva vzorky** – jeden poslali na **histologické**, druhý na **mikrobiologické vyšetření**
- Obě vyšetření potvrdila totéž: ***zločinec je tam***.

# Tentokrát jen spolupachatel...



- Peptické (tedy gastrické či duodenální) vředy jsou onemocněním, které vzniká souhrou více příčin. Takovým onemocněním říkáme obvykle **multifaktoriální**.
- Dodnes se nejen mezi praktickými lékaři, ale i mezi specialisty 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.

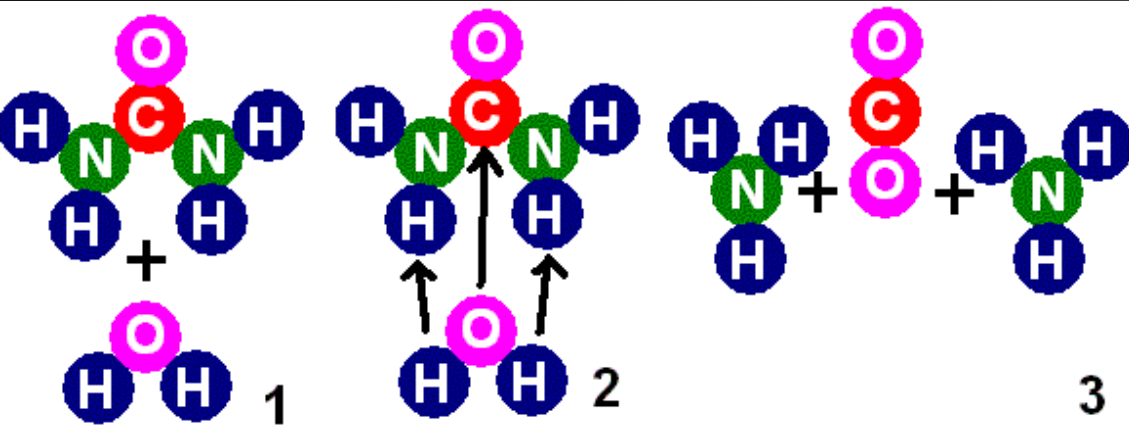


# Jak zločinec přežívá v extrémně nepříznivém prostředí žaludku?

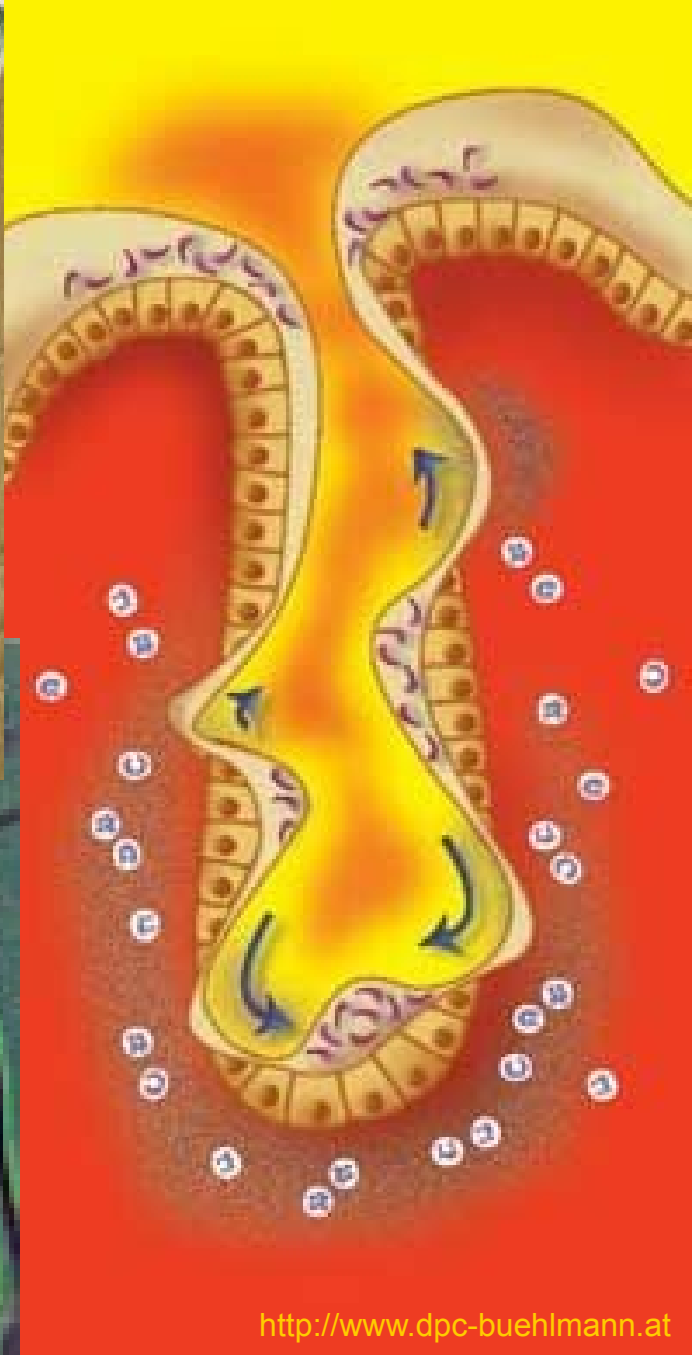
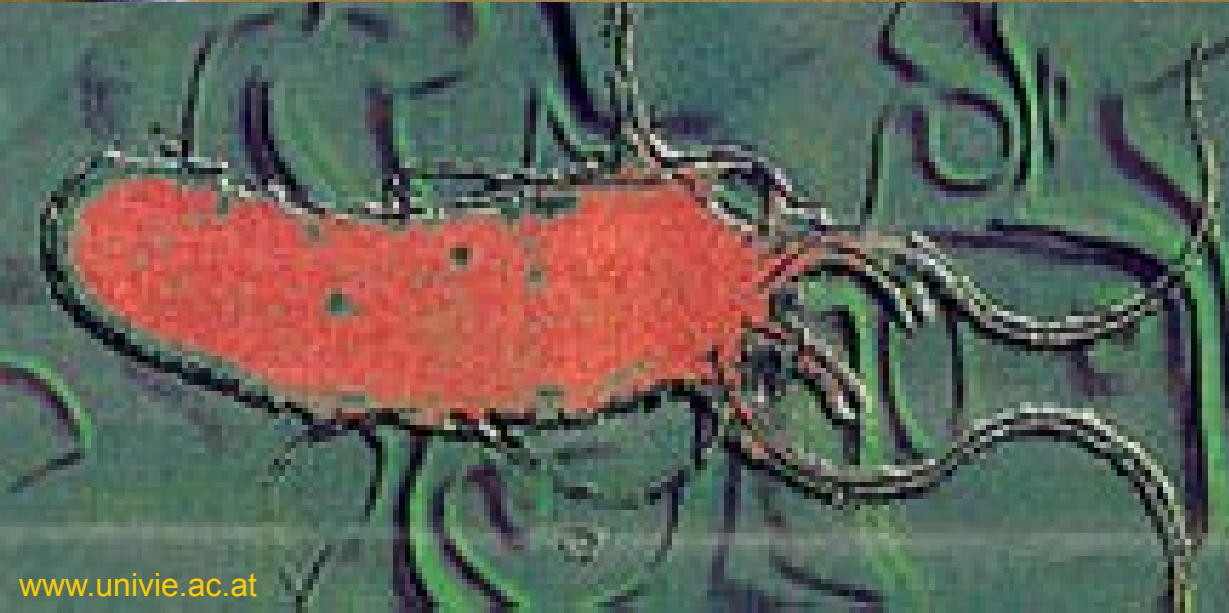
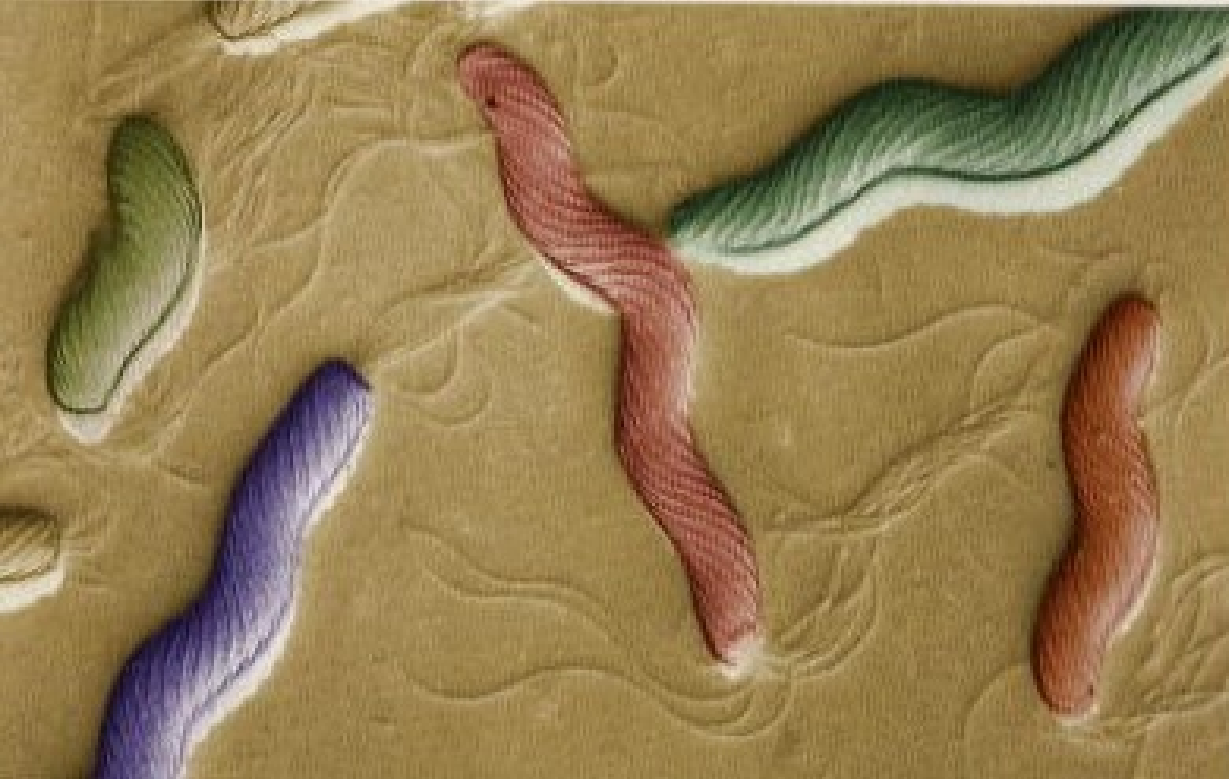
- Upravuje si své mikroprostředí – alkalizuje si ho, štěpě močovinu
- **Močovina** se rozštěpí na kyselý **oxid uhličitý**, který vyprchá, a zásaditý **čpavek**, který zůstane a alkalizuje prostředí
- **Štěpení močoviny** probíhá podle reakce:



# Ještě jednou štěpení močoviny



(zde místo čpavku  $\text{NH}_4\text{OH}$  figuruje amoniak  $\text{NH}_3$ , proto také do reakce vstupuje jen jedna molekula vody –  $\text{NH}_3$  se ovšem jako plyn okamžitě slučuje s další molekulou vody na  $\text{NH}_4\text{OH}$ )

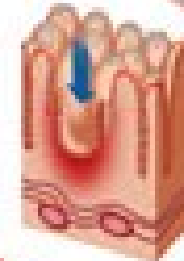


# Komplikace helicobakterového onemocnění

## 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. Schließlich kann sich Magenkrebs entwickeln.

### Magenkrebs



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

Verschlebeschicht (Submucosa)

Ringmuskelschicht

Längsmuskelschicht (Bauchfell)

Querschnitt durch die gesunde Magenwand

### Therapie

Die Therapie erfolgt durch eine Kombination verschiedener Medikamente.

# Příběh pátý

- Pan Exot miloval exotickou dovolenou. Byl zvyklý pít **vodu z místních zdrojů**.
- A tak se ani nedivil, že dostal **průjem**.
- Tentokrát to ale bylo horší než obvykle. Průjem byl **silný a vodnatý**.
- **Příjem vody ústy nestačil**. Až infusní doplnění chybějících tekutin mu pomohlo.

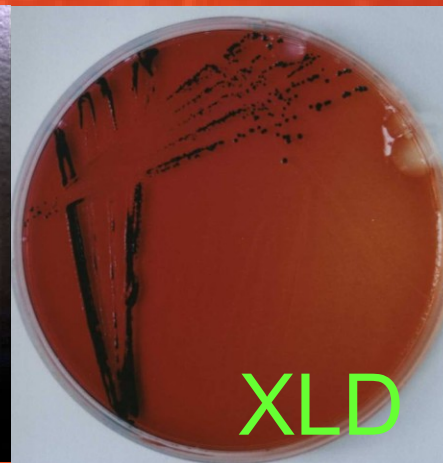
# *Vibrionaceae*



- ***Vibrio cholerae*** způsobuje cholera, těžké průjemové onemocnění v tropech a subtropích
- **Jiní členové rodu *Vibrio*** mohou způsobovat také průjmy, ale i infekce ran. Tato tzv. „halofilní vibria“, preferují zvýšené koncentrace NaCl
- ***Aeromonas***, druhý významný rod, také způsobuje ranné infekce, například při přípravě jídel z ryb a plodů moře.

# Obrázky bakterií

# Fotografie z databáze zločinců: Salmonela



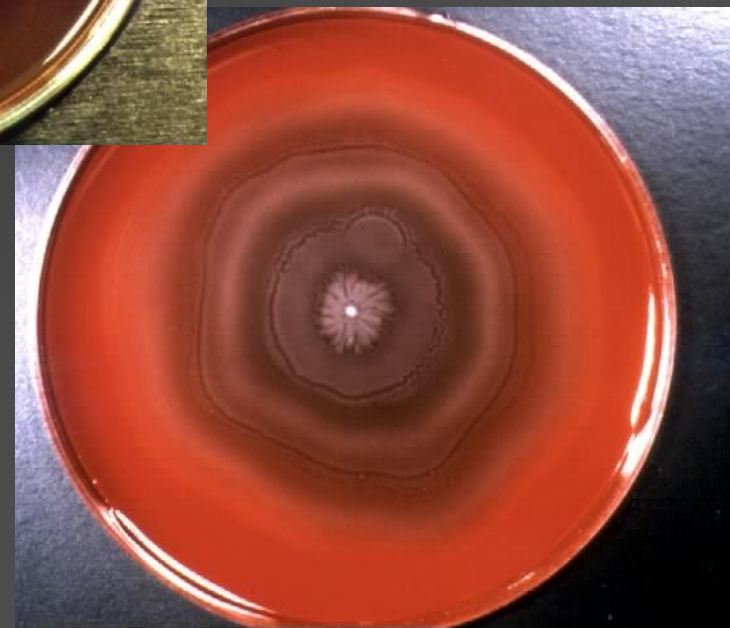


# *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris* (dole)

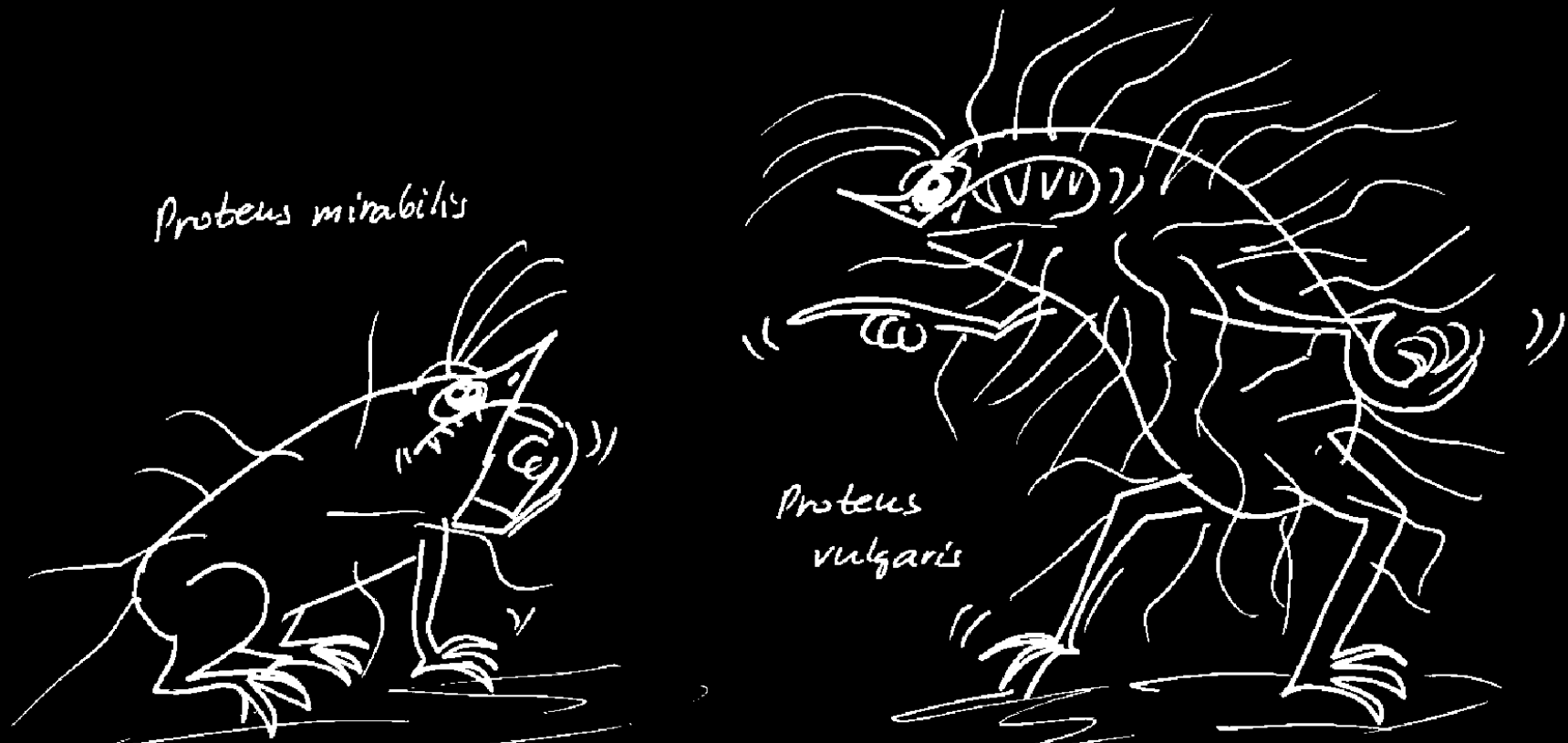


[www.medmicro.info](http://www.medmicro.info)

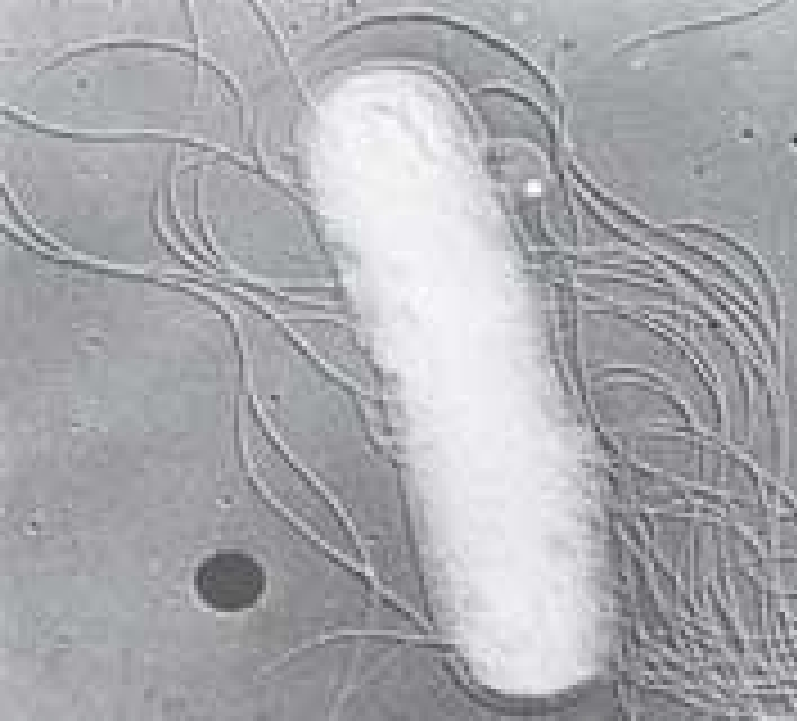
Pro protey je typické, že nerostou jen v místě inokulace, ale šíří se po povrchu agaru do stran (plazivý růst, Raussův fenomén, také fenomén příbojové vlny)



# Proteus dle as. Petra Ondrovčíka



„Je sice pěkné, kolego, že dovedete dekarboxylovat ornitin; mnohem smutnější ovšem je, že se ve většině případů neumíte pořádně plazit!“



*Proteus* – typický  
plazivý růst

# Klebsiely a escherichie

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



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

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

# Escherichie



okud escherichie  
na KA hemolyzují  
(a to je dost  
často), uvede se  
to případně do  
výsledku, ale  
nehodnotí se to  
jako zvláštní  
diagnostický znak

# Jeden méně známý helikobakter

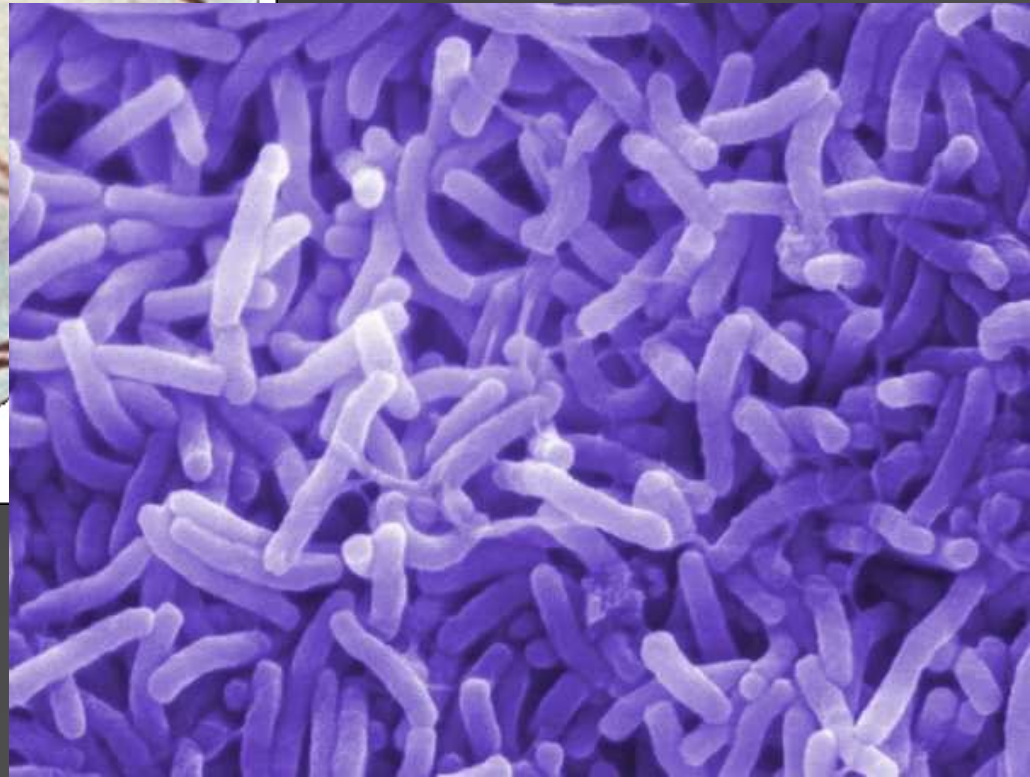
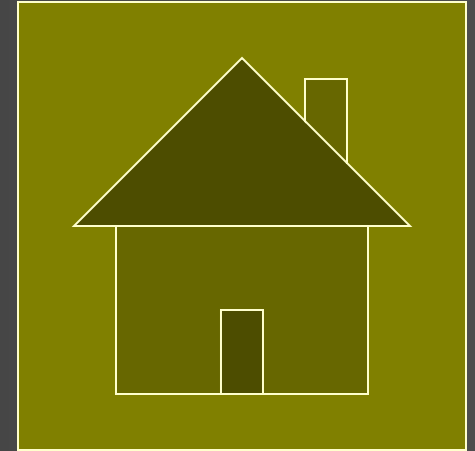
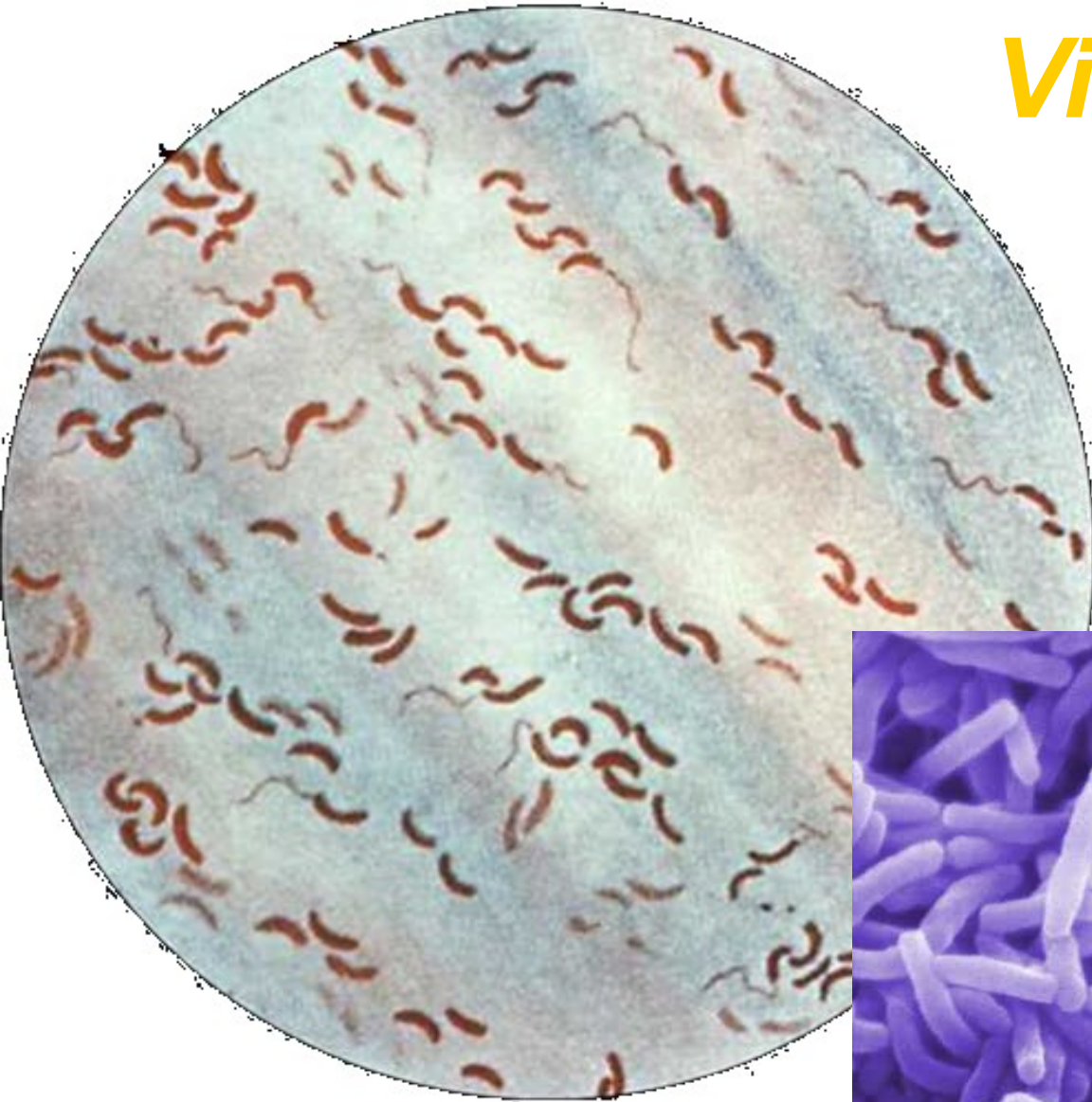
*Helicobacter cinaedi*



*Vibrio cholerae*



# *Vibrio cholerae*



<http://bepast.org>



# Diagnostika enterobakterií

# Enterobakterie – metody

## ■ Přímé metody

- **Mikroskopie** – v praxi má malý význam, protože je jich mnoho a v mikroskopu jsou všechny stejné. Nicméně v praxi ji použijeme
- **Kultivace** – používá se mnoho různých půd
- **Biochemická identifikace** – velmi důležitá
- **Antigenní analýza** – salmonely, shigely, EPEC

## ■ Nepřímé metody (protilátky)

- **Widalova reakce** u tyfu, protilátky proti yersiniím

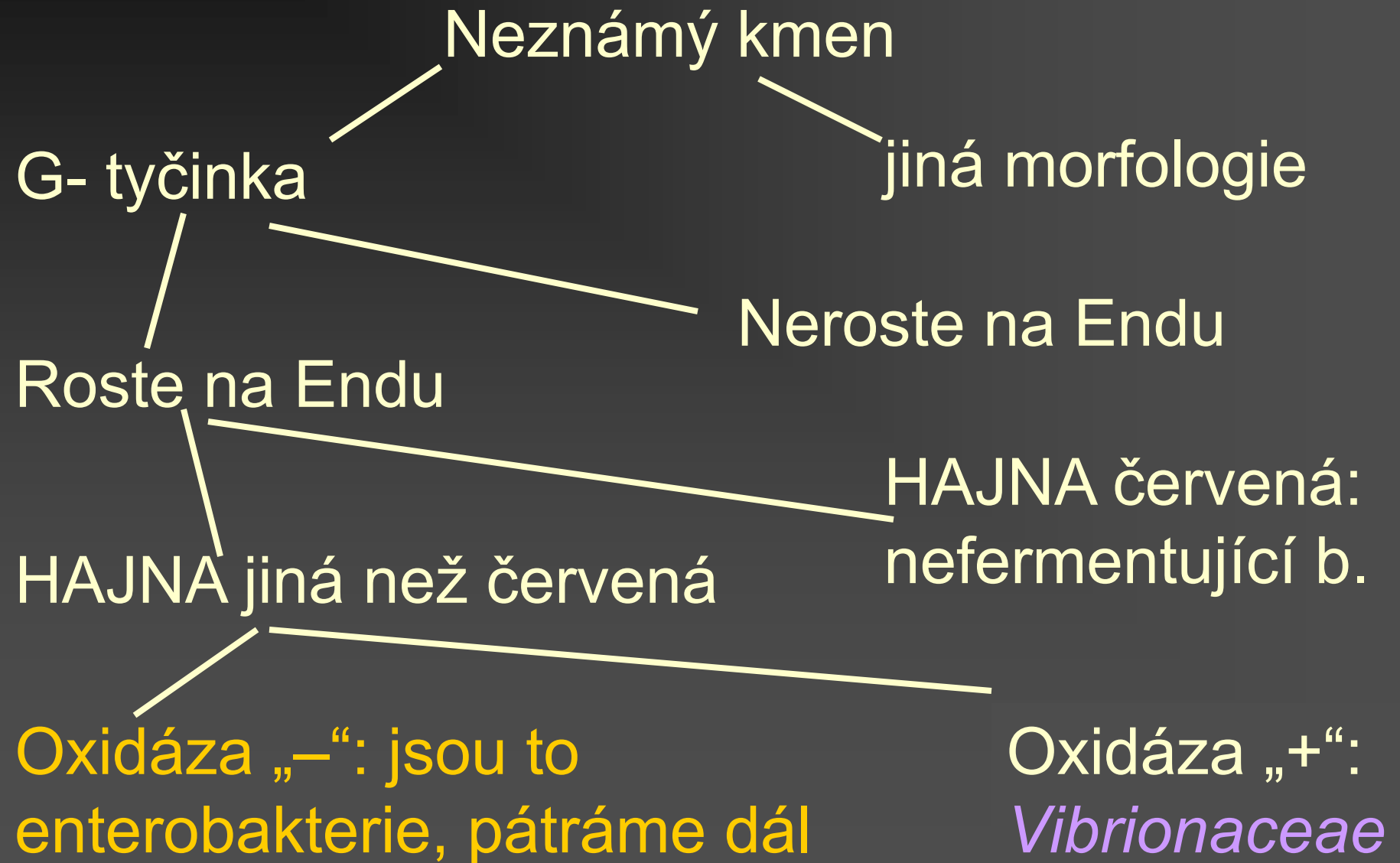
# Odlišení od ostatních podezřelých (diferenciální diagnostika)

- **Gramovo barvení** odliší gramnegativní tyčinky od ostatních bakterií
- **Endova půda poprvé:** rostou na ní z klinicky významných jen **enterobaktérie**, příslušníci čeledi *Vibrionaceae* a gramnegativní nefermentující tyčinky
- **Nefermentující** odliší to, že nefermentují glukózu (např. Hajnova půda zůstává po kultivaci celá červená, nezmění vůbec barvu)  
*Vibrionaceae* odliší pozitivní oxidáza

# Gramnegativní tyčinky – vzájemné rozlišení skupin rostoucích na Endově agaru

- **Enterobakterie** jsou oxidáza negativní (s výjimkou rodu *Plesiomonas*, který k nim byl nedávno přiřazen) a vždy štěpí glukózu
- **Vibria a aeromonády** také štěpí glukózu, ale jsou vždy oxidáza pozitivní
- **Gramnegativní nefermentující bakterie** (mohou to být tyčinky, ale i kokotyčinky či koky) nikdy neštěpí glukózu. Oxidázu mohou mít pozitivní i negativní

# Diagnostický algoritmus



# 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, Švejcárova plotna, ENTEROtesty aj.
- **Antigenní analýza** zpravidla sklíčkovou aglutinací
- *Diagnostika kamylobakterů, helikobakterů a vibrií bude probrána u úkolů 7, 8 a 9.*

# Štěpení laktózy

- Laktóza pozitivní bakterie mají na Endově půdě tmavočervené okolí. Laktóza negativní mají okolí bledé.



# Kultivační charakteristika některých enterobakterií

- Na půdě XLD
  - **salmonely** mají bledé kolonie s černým středem (trochu jako malininkaté volské oko s černým žlutkem)
  - jiné bakterie buď nerostou vůbec, nebo rostou málo a v koloniích jiné morfologie
- Na půdě MAL to vypadá podobně, ale některé barvy či velikosti kolonií se mohou lišit od výsledku na XLD
- Na půdě CIN rostou **yersinie** v drobných, tmavě růžových koloniích.





Salmonela na  
MAL agaru

# Biochemické testování enterobakterií

- Pro biochemické testování enterobakterií používáme různé testy. V Česku\* používáme nejčastěji ENTEROtest 16 a ENTEROtest 24. My dnes použijeme první z nich
- První reakce je ONPG test (zkumavka s činidlem na stripu, jako VPT ve STAPHYtestu a STREPTOtestu). První řada panelu odpovídá 2. až 9. reakci, druhá řada je 10. až 17. reakce.

*\*tvar doporučený Ústavem pro jazyk český*

# Antigenní analýza

- Antigenní analýza se v diagnostice nepoužívá zdaleka vždycky
- Použití je v zásadě dvojí:
  - U obligátních patogenů (salmonely, shigely, yersinie) pro potvrzení diagnózy a pro epidemiologické účely
  - U střevních izolátů *E. coli* v případě, že je podezření na EPEC\* nebo STEC (ostatní skupiny se zpravidla takto neurčují)

*\*zpravidla je to u dětí do dvou let*

Oba případy jsou demonstrovány příklady

# Aglutinace *E. coli* na průkaz EPEC

- V současnosti detekujeme 12 serovarů EPEC
- **Je-li pozitivní nonavalentní sérum (I, II, III)**
  - pokračujeme trivalentními séry (I, II a III)
  - je-li jedno z nich pozitivní, pokračujeme příslušnými monovalentními séry
- **Je-li pozitivní trivalentní sérum IV,** pokračujeme s monovalentními séry patřícími do skupiny IV.
- **Chápejte: existují stovky serovarů *E. coli*.**  
Zkrátka, výsledek „*E. coli*, EPEC vyloučena“ znamená „je to jeden z těch zbylých asi 200“

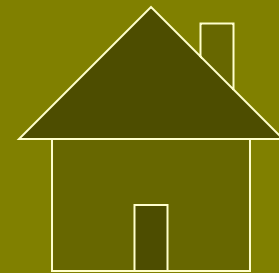
# Aglutinace salmonel

- Při aglutinaci kterékoli pohyblivé enterobakterie hodnotíme dva typy antigenů: tělové, tzv. O antigeny, a bičíkové, tzv. H antigeny (výjimečně i kapsulární K antigeny).
- Tak i každá salmonela má svou specifickou antigenní strukturu. Například salmonela serovaru Enteritidis disponuje tělovými antigeny 9, 12 a bičíkovým H m.
- Je-li tedy naše salmonela *Salmonella* Enteritidis, musí být pozitivní (aglutinace přítomna) jak při aglutinaci tělových, tak i bičíkových antigenů.

# Testy antibiotické citlivosti

- Antibiotická citlivost se zásadně neurčuje u kmenů ze stolice. *(U bakteriálních průjmů většinou podání antibiotik paradoxně prodlužuje dobu vylučování patogena ze střeva; spíše než antibiotika se tedy užívá dieta a v rekonvalescenci probiotika.)*
- Určuje se tedy zpravidla u kmenů z moče, proto i antibiotika zahrnují léky používané k léčbě močových infekcí (např. furantoin)

# Tabulka zón citlivosti – příklad



Antibiotikum	Zkratka	Referenční zóna
Ampicilin (rozšír. penic.)	AMP	17 mm
Cefalotin (CS 1 gen)	KF	18 mm
Doxycyklin (tetracyklin)	DO	16 mm
Cefuroxim (CS 2 gen)	CXM	23 mm
Ciprofloxacin (chinol 3G)	CIP	21 mm
Ko-trimoxazol (směs)	SXT	16 mm
Kyselina oxolinová*(ch1G)	OA	19 mm

*\*alternativně norfloxacin (NOR)*

Diagnostika rodů  
*Campylobacter* a  
*Helicobacter* a  
čeledi *Vibrionaceae*



# Diagnostika kamylobaktera

- **Kamylobaktera** si s předchozími bakteriemi nespletete. Neroste na běžných půdách, navíc jde o zahnutou tyčinku
- Jde o stříbřité kolonie s náznakem plazení jako u protea
- Má pozitivní **oxidázový test**

# Několik poznámek k diagnostice kamylobakterů

- Kamylobaktery vyžadují v zásadě čtyři věci:
  - Svoji **černou půdu** – říkáme jí běžně „půda pro kamylobaktery“, název CCDA se příliš nevžil
  - **Zvýšenou teplotu na cca 42 °C**. Jsou to totiž primárně ptačí patogeny a ptáci mají vyšší tělesnou teplotu
  - **Zvýšenou tenzi CO<sub>2</sub>**
  - **Prodlouženou dobu kultivace** – nikoli 24, ale 48 hodin

# Ureázový test v diagnostice helikobaktera

- *Helicobacter* také neroste na běžných půdách. Potřebuje asi pět dní na své speciální půdě, než je viditelný růst.
- **Velice typické je štěpení močoviny.** Na rozdíl od jiných biochemických testů v mikrobiologii zde můžeme pracovat přímo se vzorkem (žaludeční tkání) a nikoli s kmenem. V úkolu 8 uvidíte rozdíl mezi pozitivním a negativním výsledkem.

AstraZeneca  Hut-Test®

Patient: *EISHANN*

Datum/Date: 2005-09-09

Corpus  Antrum

Befund/Result:

neg:	pos:
	

Ch.-B./Lot: FJ2809A1

verw. bis/Exp.: 09-2005



Rychlý ureázový test

# Ureázový dechový test (anglicky urea breath test)

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

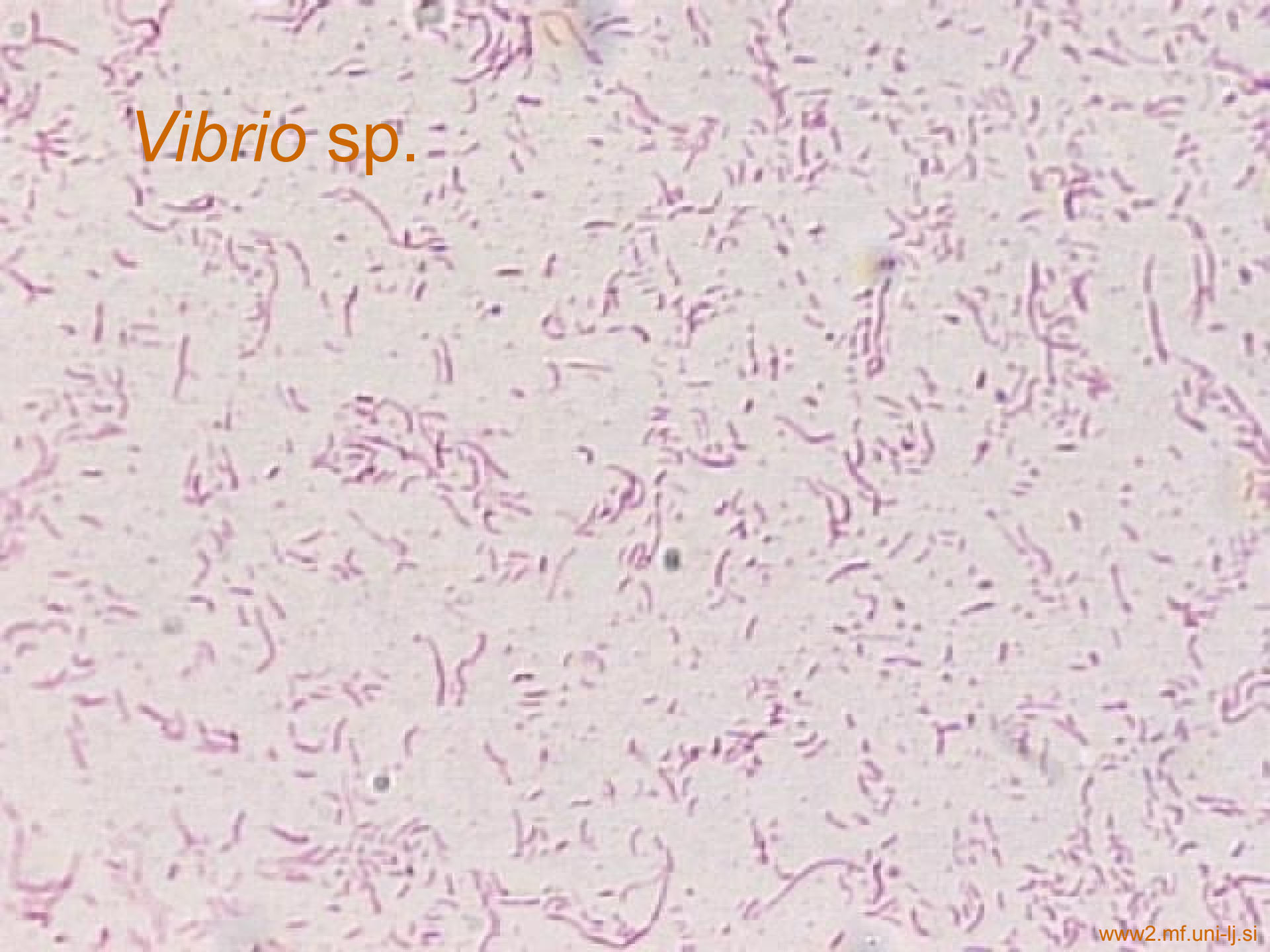
# Diagnostika čeledi *Vibrionaceae*

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

# Diferenciální dg. *Vibrionaceae*

- V **mikroskopii**, *Vibrio* je **zahnutá tyčinka** (podívejte se na obrázek na další obrazovce a zakreslete)
- Pro **kultivaci** používáme **půdu TCŽS** (pevnou půdu) a **alkalickou peptonovou vodu** (tekutá půda)
- Pro **biochemickou identifikaci** používáme týž **Enterotest 16** jako pro enterobakterie, ale musíme použít **jinou matici** (v kódové knize či v počítači)
- **Antigenní analýzou** odhalíme dva hlavní serovary *Vibrio cholerae*: **O1 a O139**.
- **Detailnější diagnostika uvnitř serovaru O1** (na biotypy **Classic a El Tor**) vyžaduje další biochemické testování

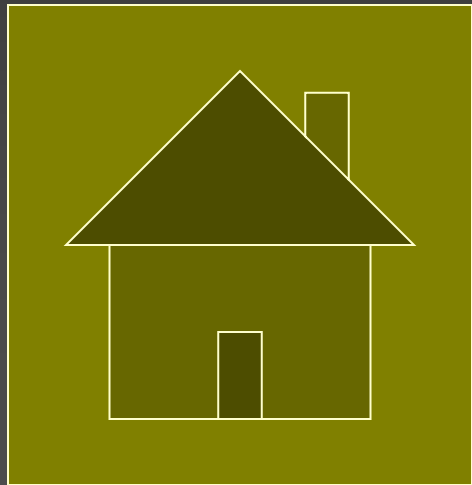
*Vibrio* sp.



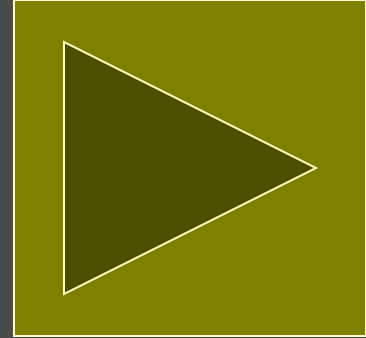


# Konec

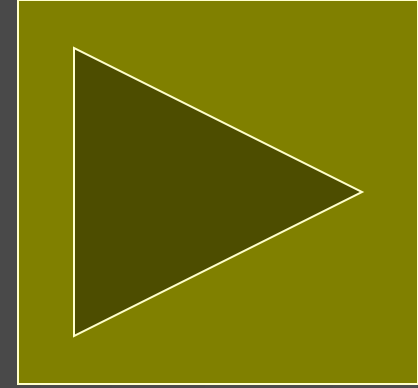
Malováno pomocí protea a  
escherichie



# Bonus: Širokospektré betalaktamázy (ESBL)

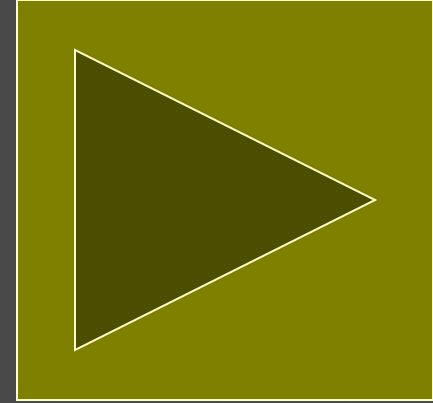


# Betalaktamázy TEM, SHV, CTX apod.



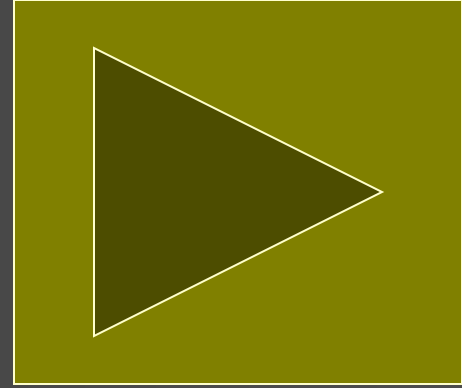
- Vyskytují se především u **enterobakterií**:  
*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*,  
ale mohou být i u nefermentujících tyčinek
- Existuje jich mnoho typů
- Geny pro ně jsou uloženy v plasmidech,  
mutace jsou časté, vznikají stále nové  
varianty
- Z betalaktamů zůstávají citlivé  
karbapenemy

# Metalobetalaktamázy



- Vyskytují se u **G- nefermentujících bakterií**, zejména pseudomonád
- Štěpí i karbapenemy
- Zbývají citlivé monobaktamy (aztreonam)
- Málokdy u enterobakterií

# Induktory a selektory betalaktamáz

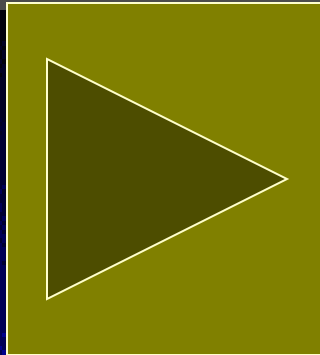
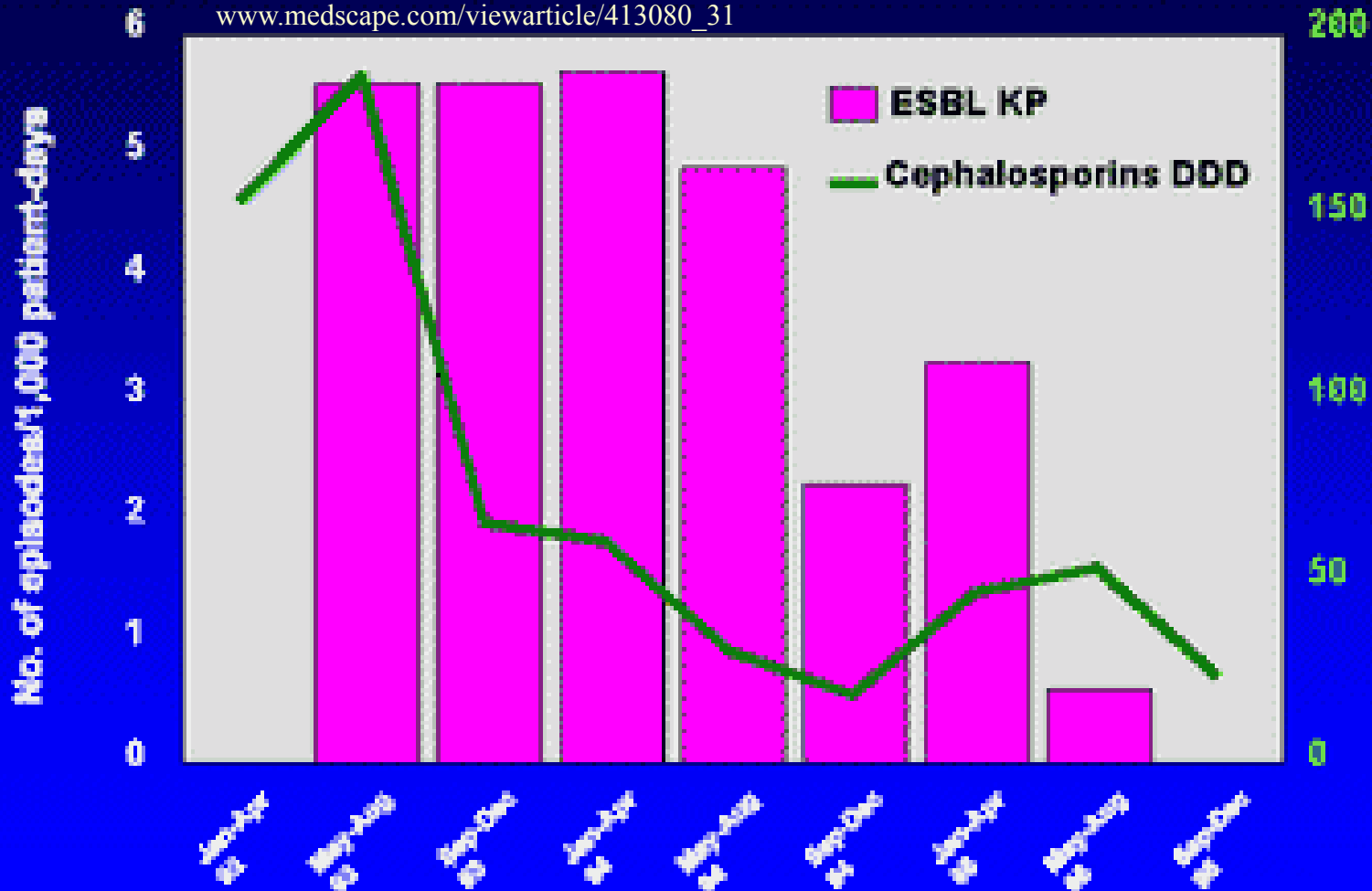


- Tvorba některých betalaktamáz může být **indukována** používáním určitého antibiotika (induktoru). Příkladem induktoru je **ko-amoxicilin**
- Nebezpečnější než induktory jsou však **selektory**: poměrně účinná antibiotika, která vyhubí citlivou část populace, a zůstanou pouze odolné, polyrezistentní kmeny. Příkladem jsou **cefalosporiny třetí generace**. Pokles jejich používání vedl ve všech nemocnicích k poklesu výskytu ESBL pozitivních kmenů.

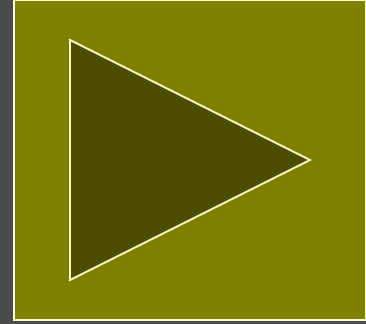
# Spotřeba cefalosporinů a ESBL

## ESBL-KP Incidence Rate and Cephalosporin Use in ICUs

[www.medscape.com/viewarticle/413080\\_31](http://www.medscape.com/viewarticle/413080_31)



# Aktuální situace



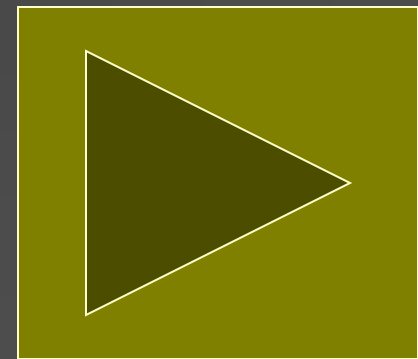
- V nemocnici u sv. Anny jsou bohužel **velmi běžné**. Lokálně se jejich **výskyt na určitých klinikách či odděleních daří omezit**, obecně se však stále vyskytují velmi často
- Časté na **urologii, interně, ARK** – často nozokomiální a chronické (lze se pokusit o přípravu autovakcíny)
- Před několika lety byly vzácné, poté nástup ESBL-producentních klebsiel. Nyní již i *E. coli* a řada dalších enterobakterií

# Laboratorní průkaz ESBL

- **Pomocí čtyř disků:** cefotaximu (1) a ceftazidimu (2), cefotaximu s klavulanátem (3) a ceftazidimu s klavulanátem (4)
- Rozdíl mezi velikostí zóny „nekrytých“ cefalosporinů (1, 2) a „krytých“ (3, 4) musí být **více než 5 mm**



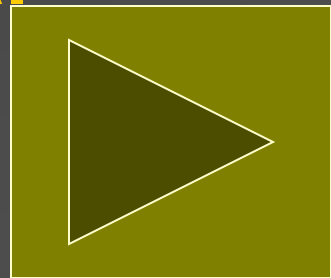
Porovnáváme  
1 s 3 a 2 s 4





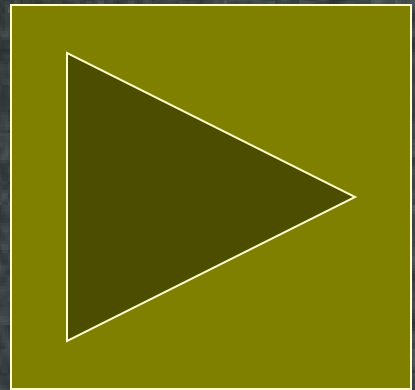
# Zjištění produkce ESBL při běžném testování citlivosti mikrodilučním testem

- Testy jsou záměrně uspořádány tak, aby **ko-amoxicilin byl obklopen mohutnými betalaktamovými antibiotiky** (aztreonam, cefotaxim).
- V místě, kam difundoval jak např. aztreonam, tak i kyselina klavulanová z ko-amoxicilinu, vzniká charakteristické **čočkovité projasnění růstu mikroba.**

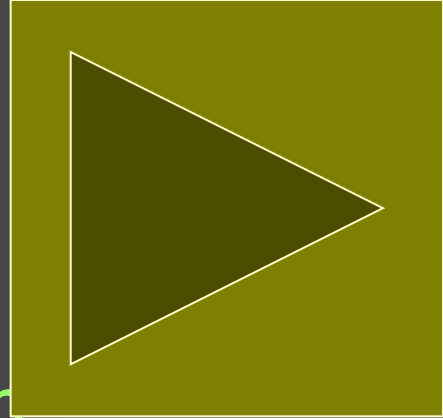


[www.labmed.cn](http://www.labmed.cn)

# Čočkovité projasnění

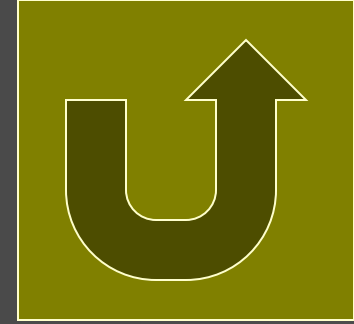


# Terapie



- Meropenem, imipenem, ertapenem
- Aminoglykosidy – jsou-li citlivé
- Případně další (chinolony, colistin)
- Cefalosporiny 4. generace či laktamáz se nedoporučují, i když jsou in vitro účinné
- Nedoporučují se ani kombinace s inhibitory betalaktamáz, i když i ty se jeví jako účinné
- Náklady na tuto léčbu jdou do desítek tisíců/den

# Prevence



- Obdobná jako v případě MRSA – obecná opatření, vedoucí ke snížení rizika nozokomiálních nákaz
- Cílená léčba neširokospektrými antibiotiky
- Výrazná restrikce používání zejména cefalosporinů III. generace, ale i uvážlivější podávání cefalosporinů II. a I. generace, aminopenicilinů aj.
- Případně screening střevního nosičství (není běžné)