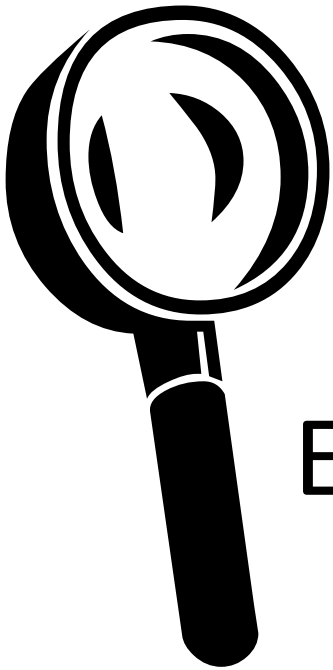


Mikrobiologický ústav uvádí

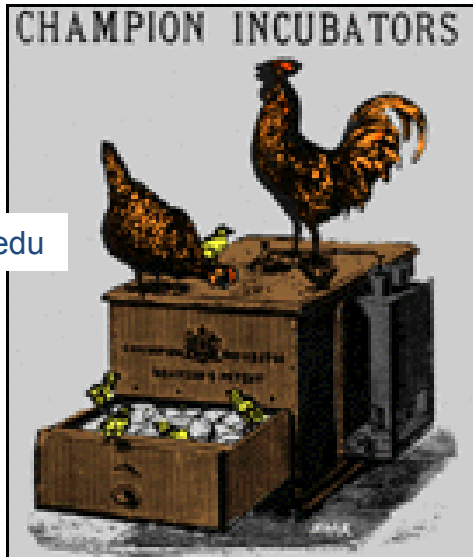
NA STOPĚ PACHATELE



Díl čtvrtý:

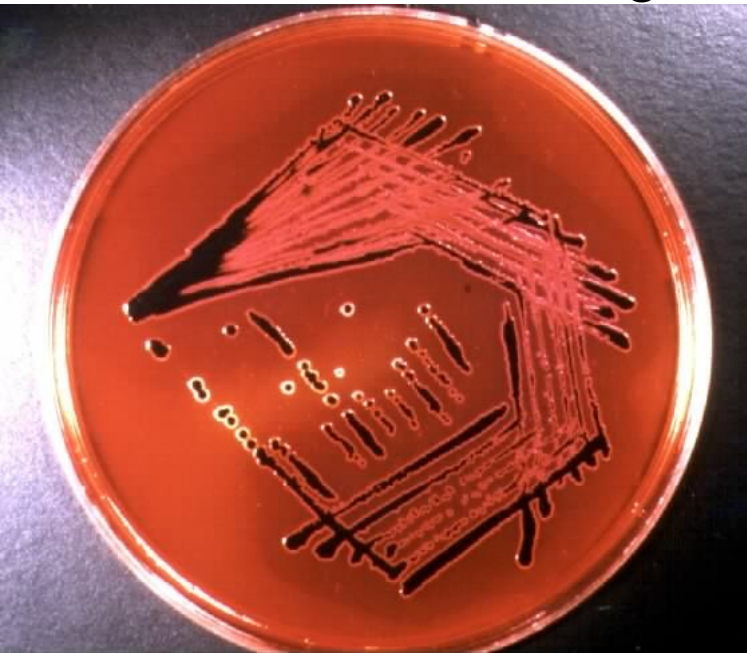
Enterobakterie (a spol.)

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

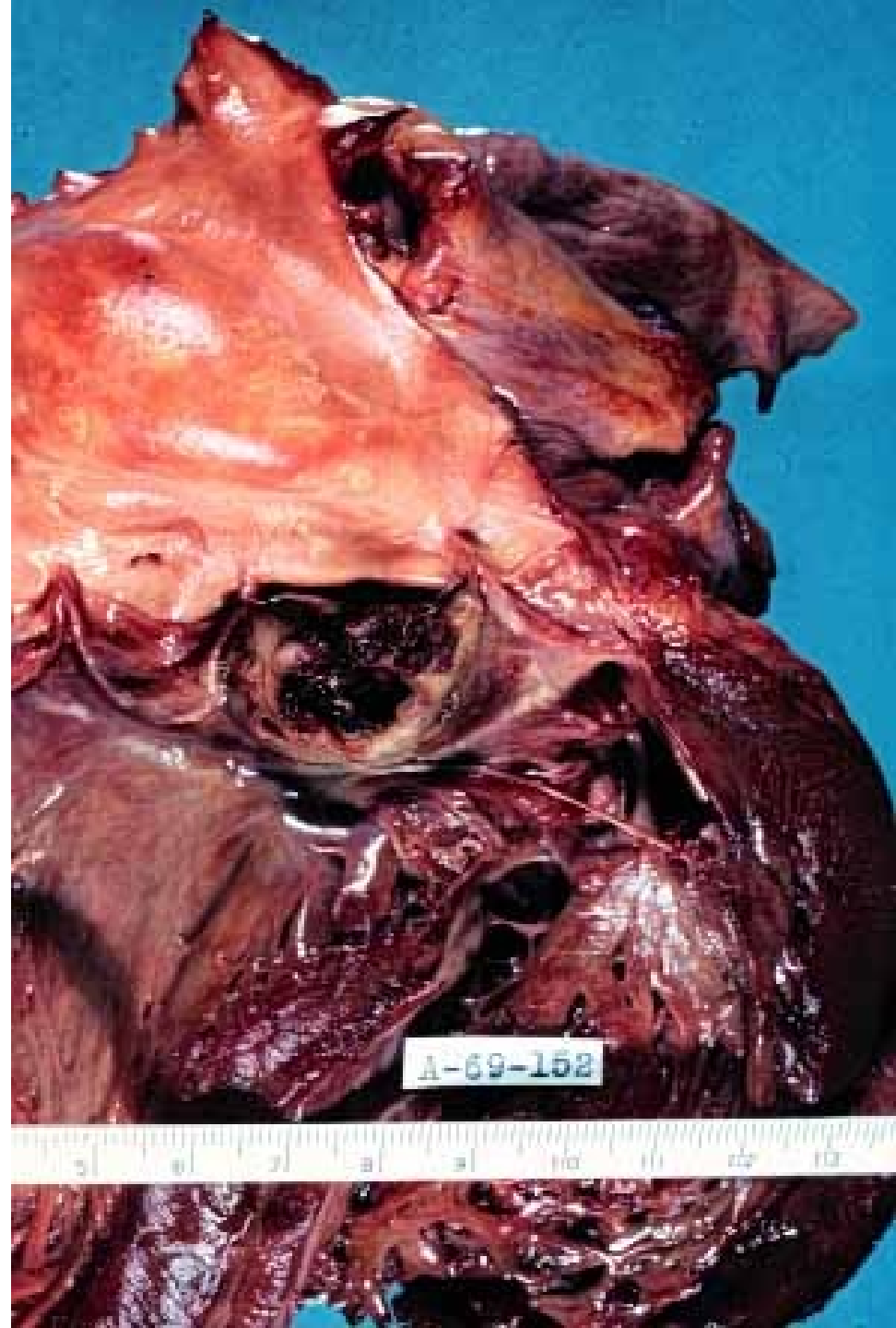
- Slečna Tereza je mlsná. Dnes si po obědě dala krémový zákusek. Odpoledne ji začala zvracet a měla průjem. Navštívila lékaře, ten jí odebral výtěr z řitního kanálu. Za několik dní volali Tereze z územního pracoviště krajské hygienické stanice. Tereza si byla jistá, že za všechno může krémový zákusek.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

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*)



dermatology.about.com



www.emedicine.com

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

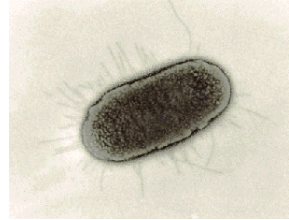
- To, že mezi střevními patogeny jsou rozdíly, ukazuje příklad salmonel a shigel.
- **Salmonely** potřebují vysokou infekční dávku. Musí se tedy pomnožit v nějaké potravíně. Infekce jsou téměř výhradně z potravin.
- **Shigelám** naproti tomu stačí malá infekční dávka, takže se snadno přenesou špinavýma 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?



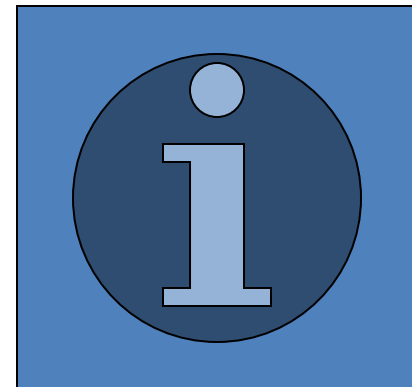
- Viníkem je *Escherichia coli*, respektive její uropatogenní kmen (uropatogenní *E. coli* – UPEC)
- Viníkem by mohla být i kterákoli jiná z podmíněně patogenních enterobakterií (ale i obligátně patogenní kmeny, např. salmonely, se uplatňují)
- *Escherichia coli* je jednou z nejdůležitějších součástí 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)

Patogenita *Escherichia coli*

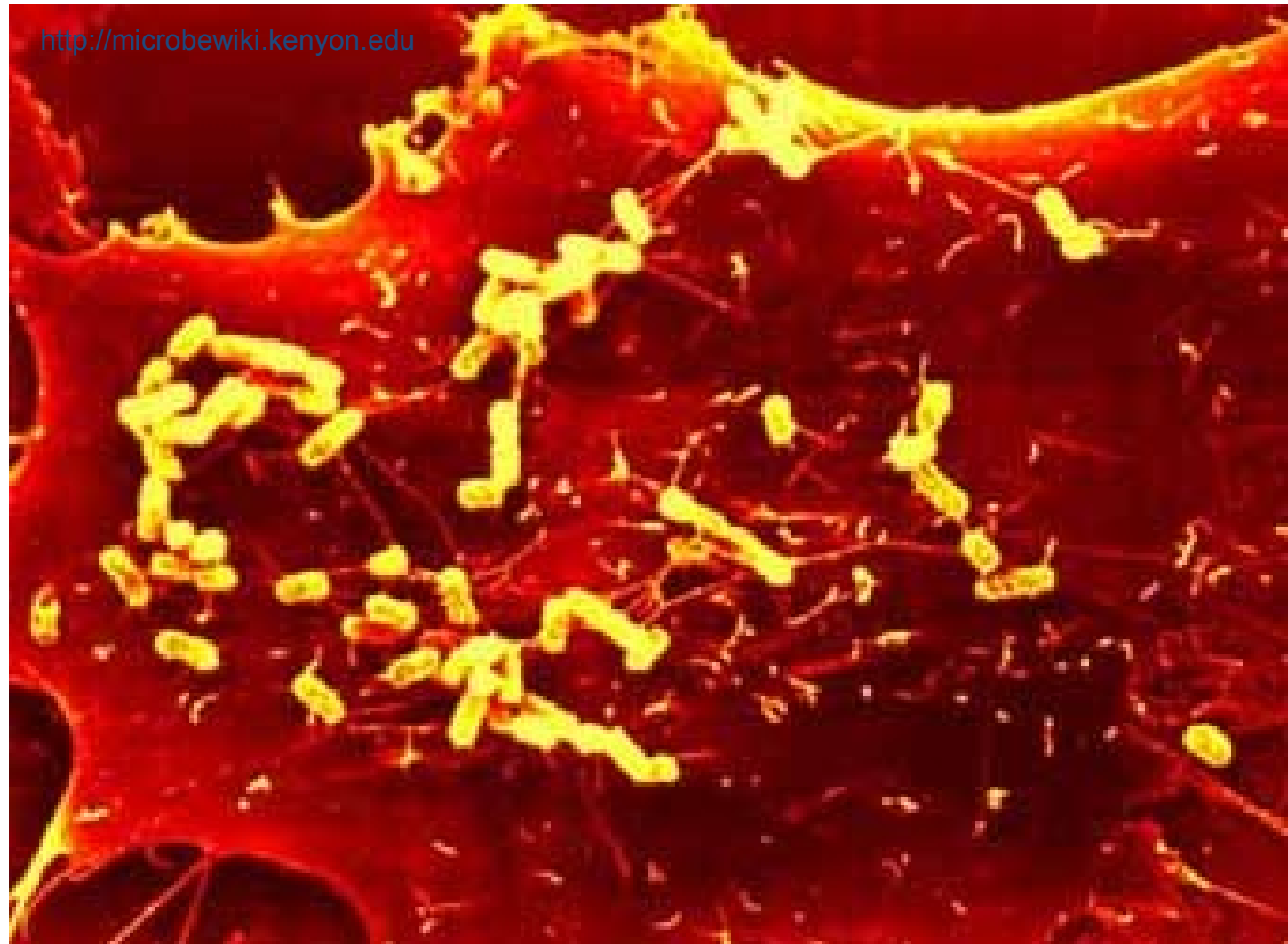
- Uvnitř střeva
 - EPEC (enteropatogenní EC)
 - ETEC (enterotoxické EC)
 - EIEC (enteroinvazivní EC)
 - STEC (shiga-toxigenní EC), tato skupina také zahrnuje EHEC – enterohemorhagické *E. coli*)
 - EAggEC (enteroaggregativní *E. coli*)
 - Kombinace (STEC + EAggEC = kmen O:104H:4, který způsobil těžkou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

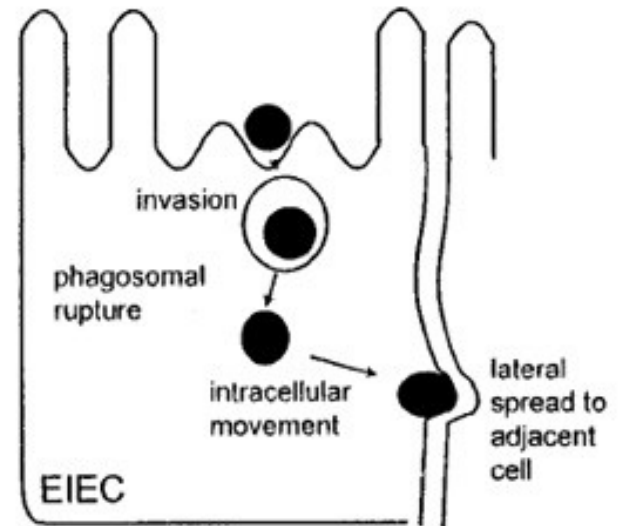
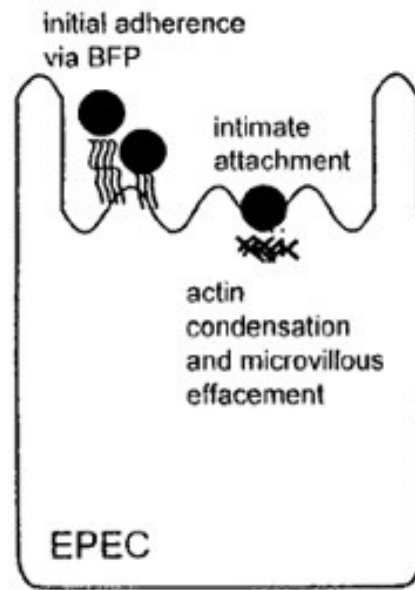
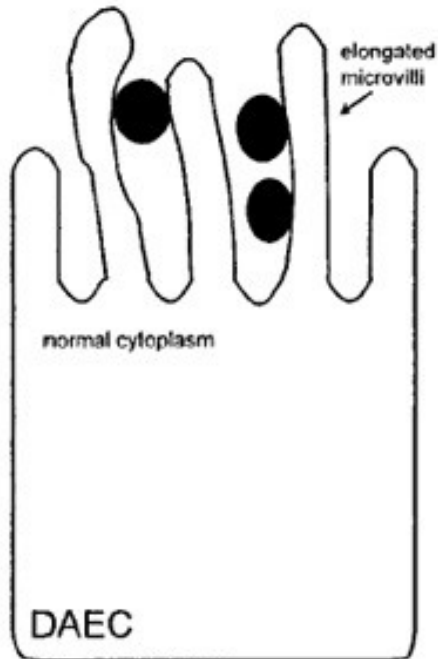
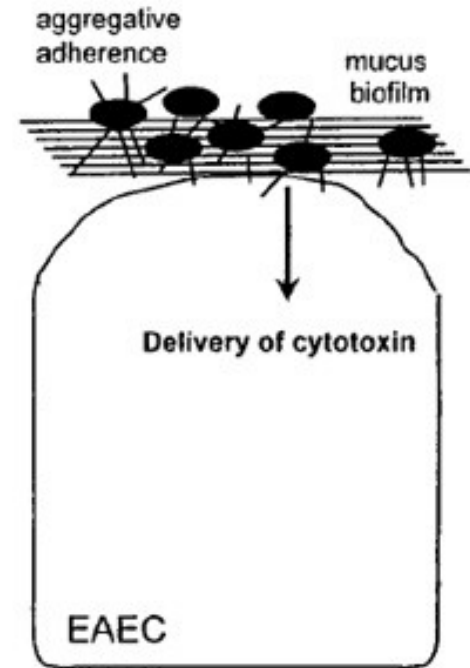
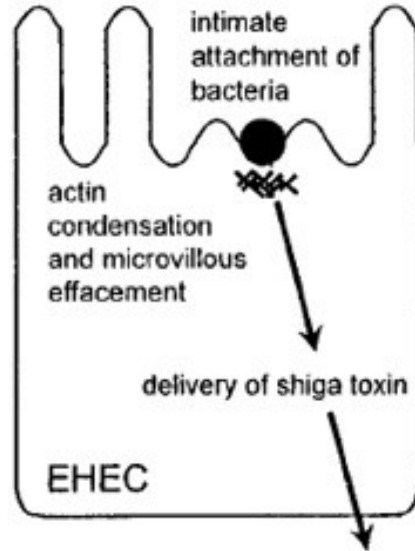
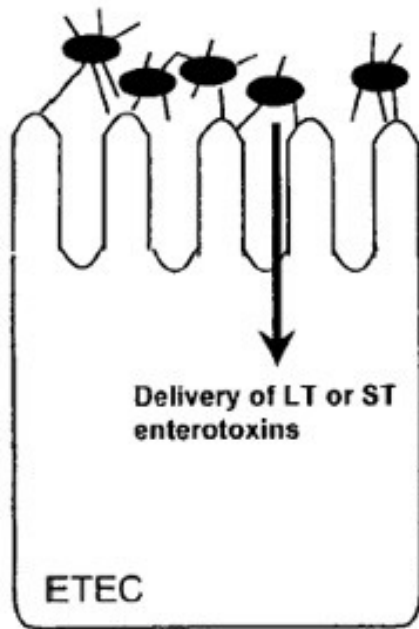
Multirezistentní enterobakterie

- 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 escherichiemi

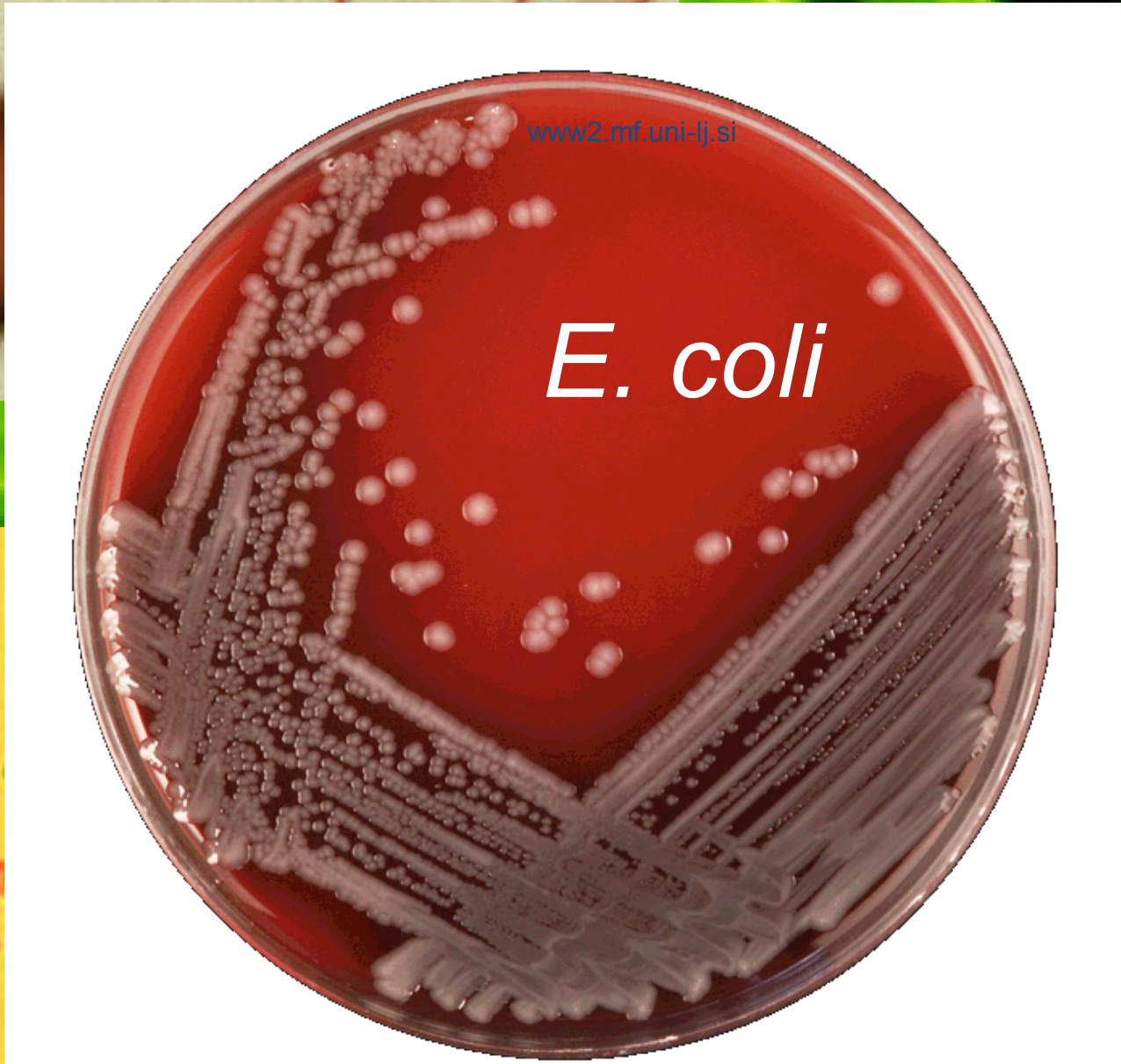




I korneální vřed může způsobit *Escherichia coli*

www2.mf.uni-lj.si





Některé další oportunně patogenní enterobakterie

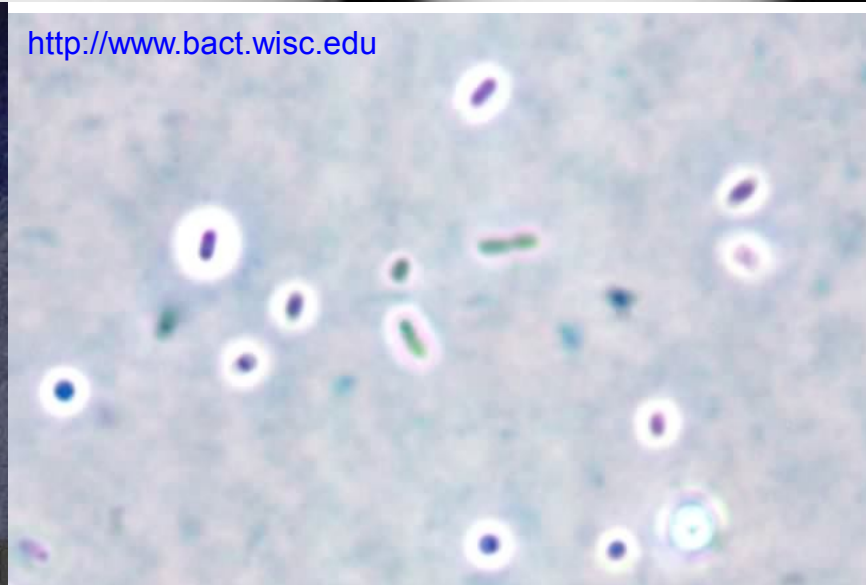
- *Enterobacter, Klebsiella, Pantoea* – často opouzdřené, mukózní kolonie. Zejména klebsiela je častým původcem nemocničních infekcí (dýchací cesty, cystitidy)
- *Proteus, Providencia, Morganella* – proteolytické kolonie (v diagnostice typický zápach jejich kolonií). Občasní původci infekcí močových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

Co tropí klebsielly...

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



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



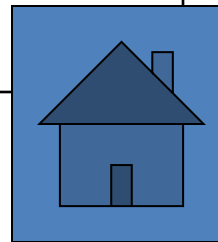
Přehled enterobaktérií

Červeně pigmentovaný kmen serracie my.opera.com



| Příběh | Patogenita | Příklady |
|--------|--------------|--|
| – | Systémová | <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

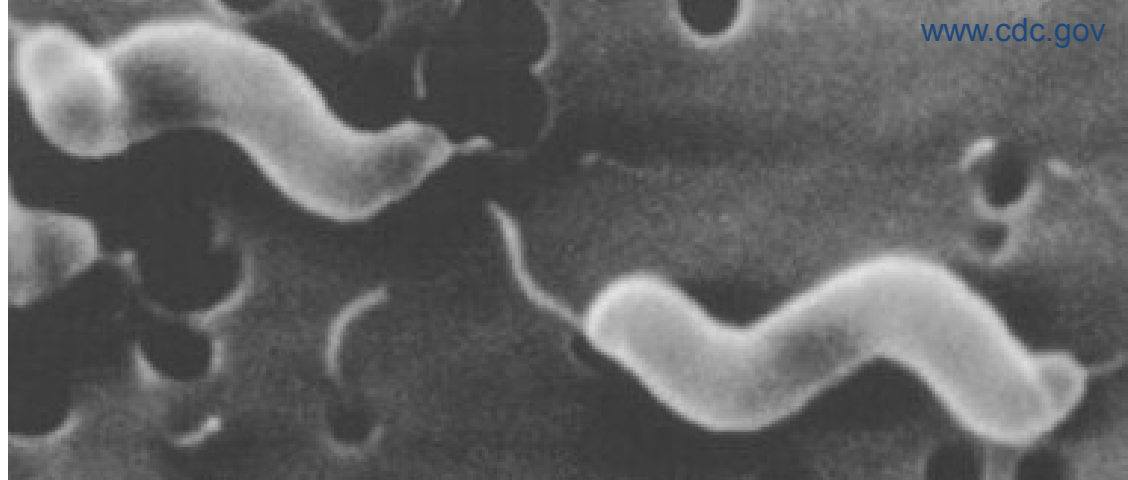


Klinický popis:
Campylobacter,
Helicobacter and
Vibrionaceae

Příběh třetí

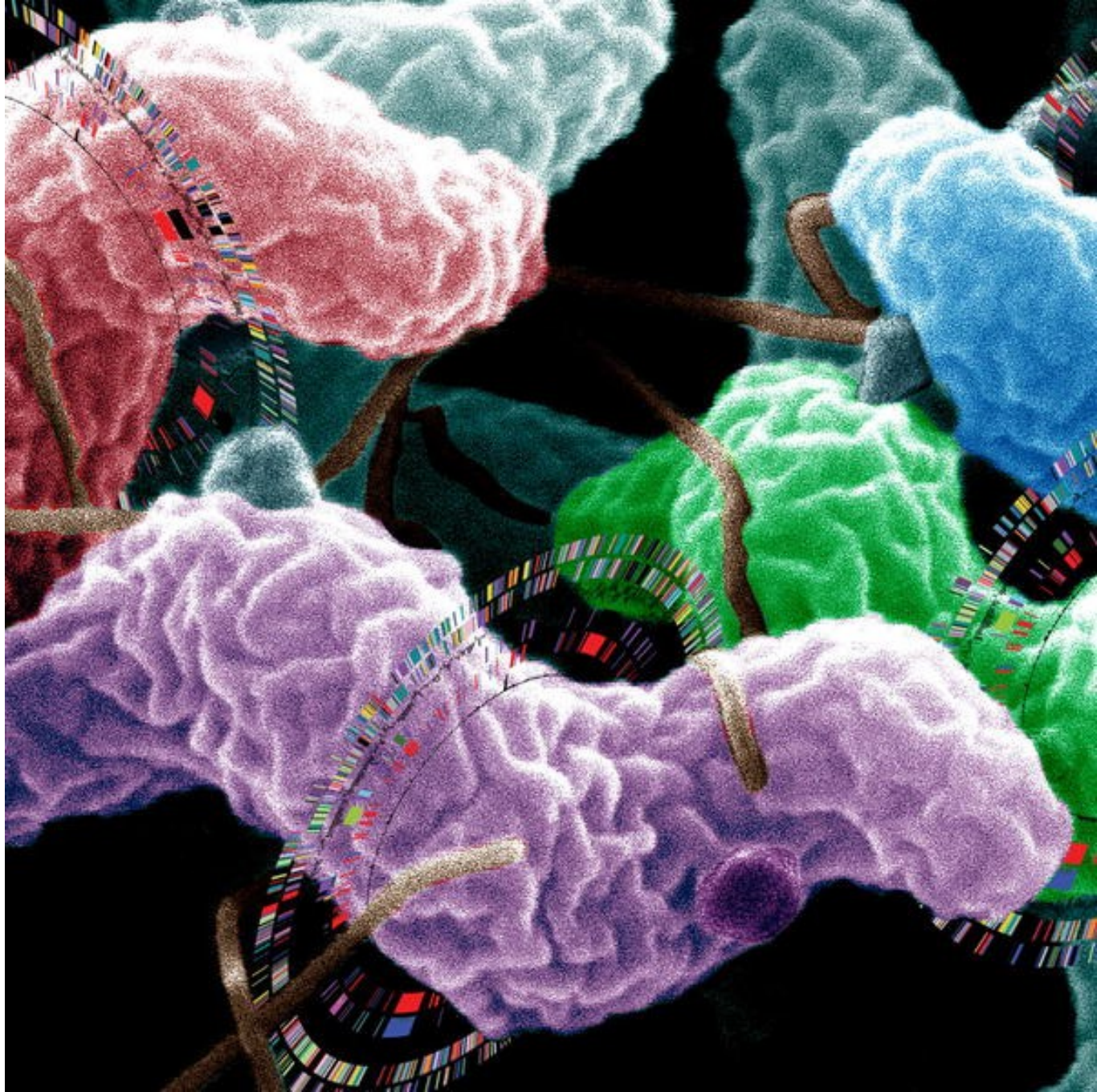
- Student František je častým návštěvníkem fast-foodů. Hlavně si rád a často pochutnává na jídlech z kuřecího masa.
- Proto ani hygienici nepřišli na to, které konkrétní jídlo mohlo za jeho průjmové potíže. František si myslel, že má nejspíš salmonelózu. Hygienici mu však vysvětlili, že salmonelóza se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

Viníkem je totiž



- *Campylobacter jejuni*, gramnegativní zahnutá tyčinka. Nepatří mezi enterobakterie, ale kamylobakteri0za je sv0m pr0b0hem a z0važností srovnatelná se salmonel0zou
- **Počet p0řipad0** u n0s je v posledn0ch letech p0řibližn0 stejn0 jako v p0řipad0 salmonel0zy. T0žko řici, do jak0 m0ry kamylobakteri0zy skutečně p0řibylo a do jak0 je jen l0pe diagnostikov0na neŹ d0řive

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 kampylobakterům



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...



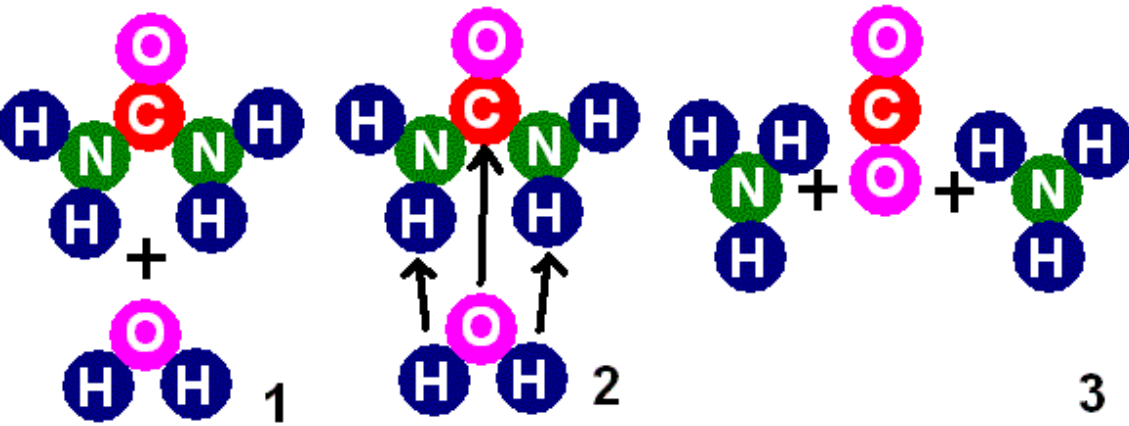
- Peptické (tedy gastrické či duodenální) vředy jsou onemocněním, které vzniká souhrou více příčin. Takovým onemocněním říkáme obvykle multifaktoriální.
- Dodnes se nejen mezi praktickými lékaři, ale i mezi specialisty liší názory na podíl bakterie *Helicobacter pylori* na vředové onemocnění. Jisto je,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

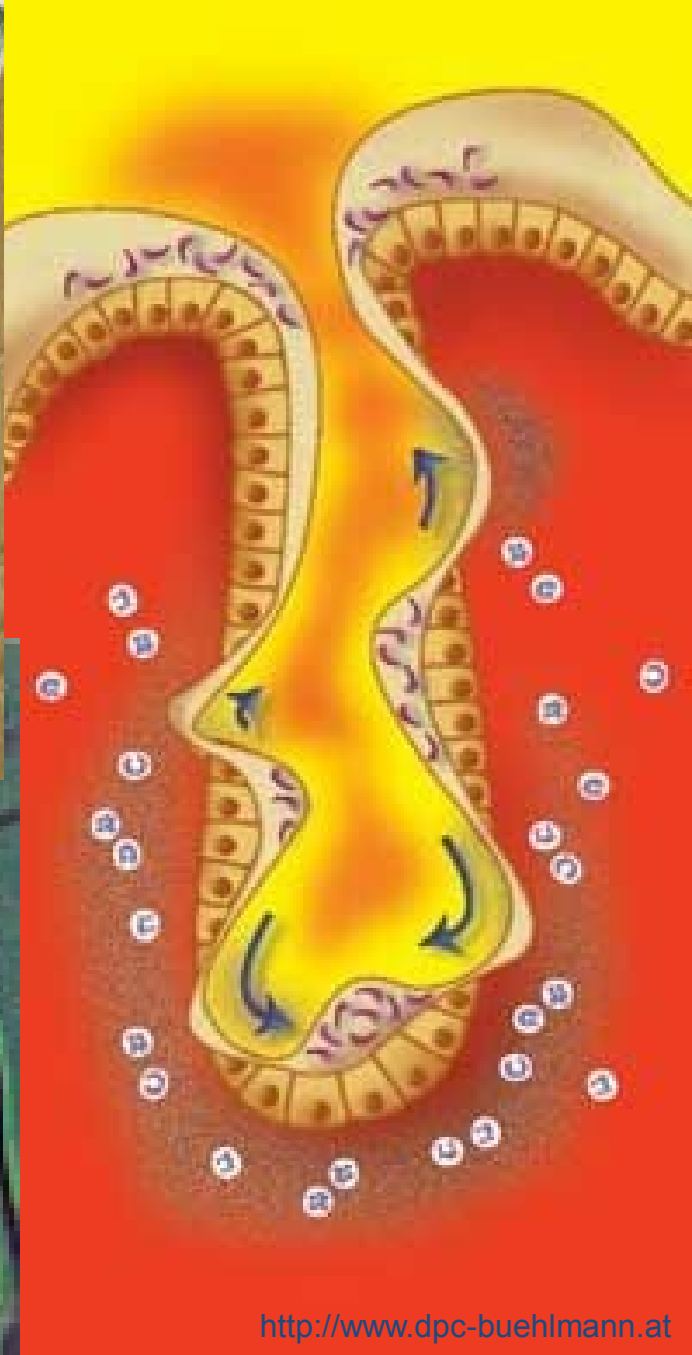
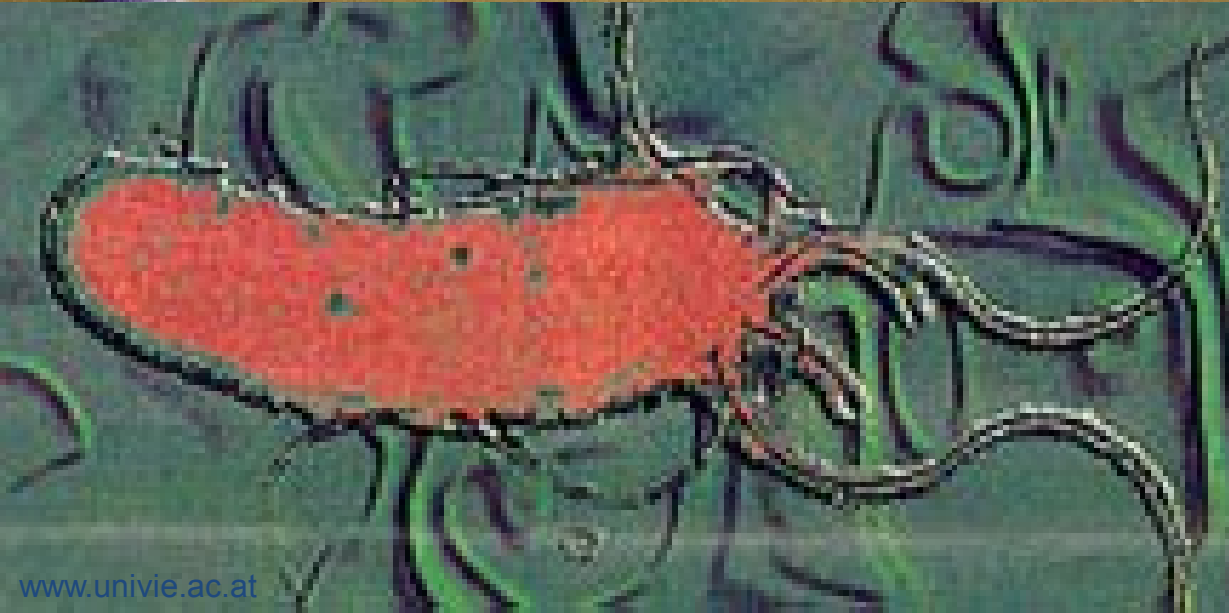
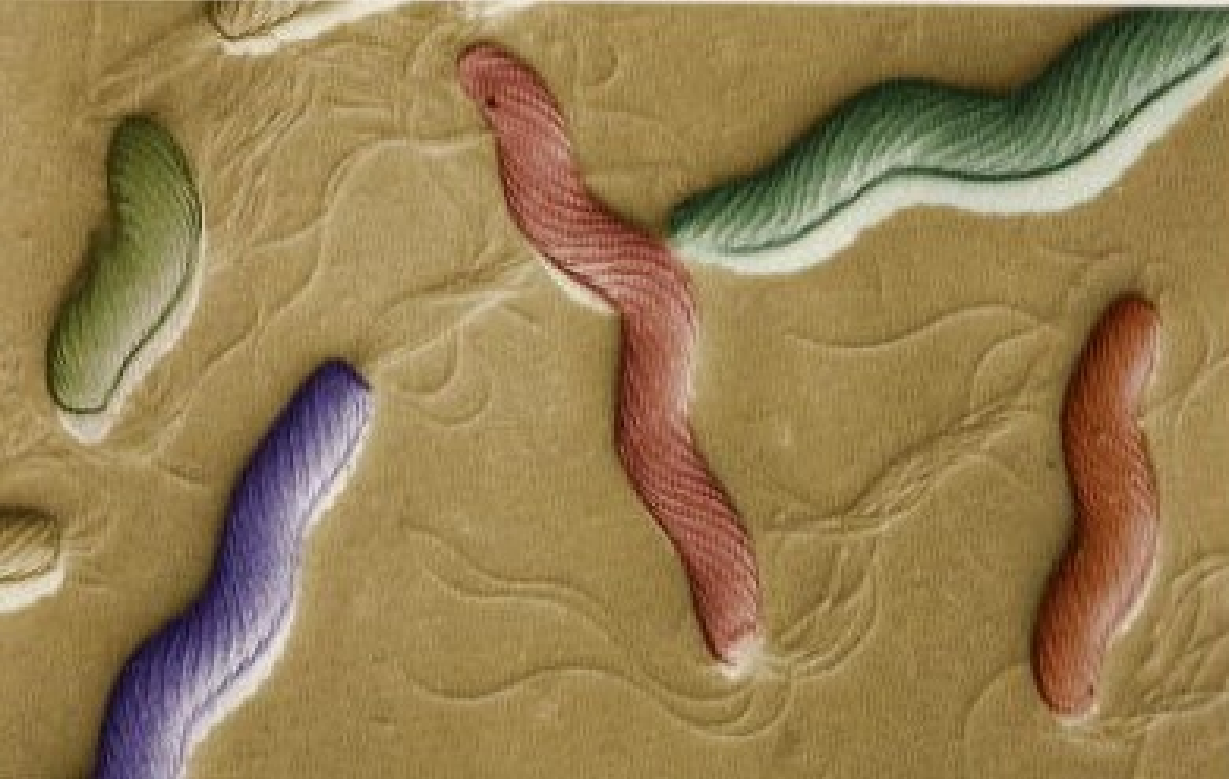
- Upravuje si své mikroprostředí – alkalizuje si ho, štěpě močovinu
- Močovina se rozštěpí na kyselý oxid uhličitý, který vyprchá, a zásaditý čpavek, který zůstane a alkalizuje prostředí
- Štěpení močoviny probíhá podle reakce:



Ještě jednou štěpení močoviny



(zde místo čpavku NH₄OH figuruje amoniak NH₃, proto také do reakce vstupuje jen jedna molekula vody – NH₃ se ovšem jako plyn okamžitě slučuje s další molekulou vody na NH₄OH)

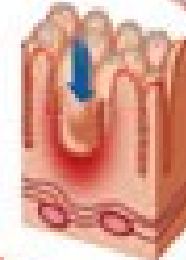


Komplikace helicobakterového onemocnění

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.

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

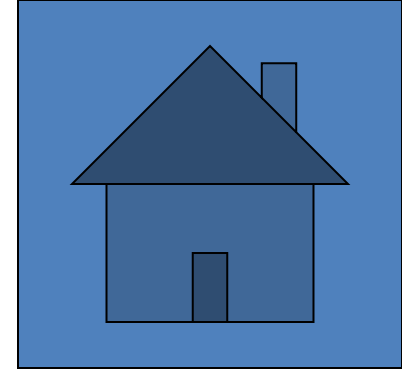
Therapie

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.

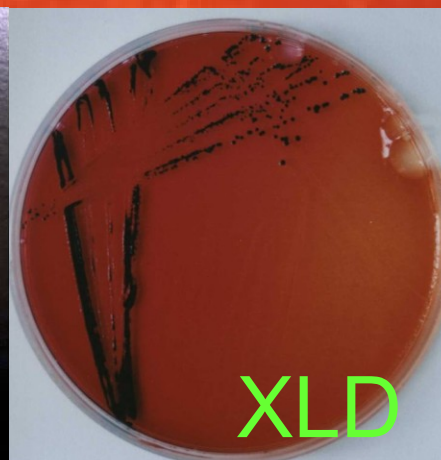
Vibrionaceae



- ***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

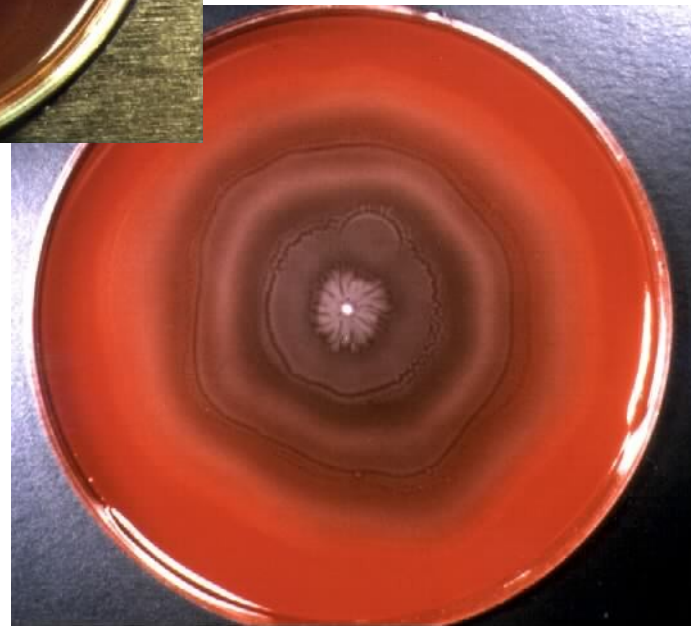


Proteus mirabilis, *P. vulgaris* (dole)

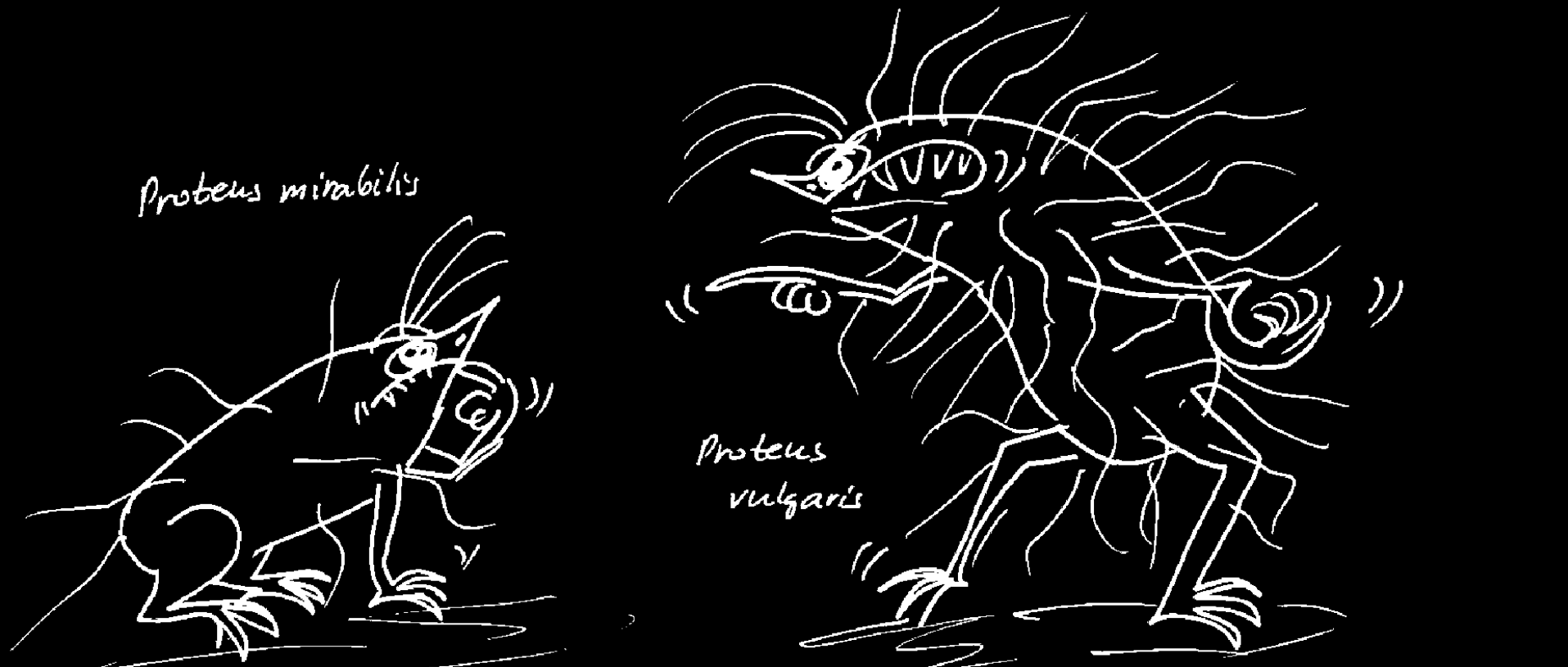


www.medmicro.info

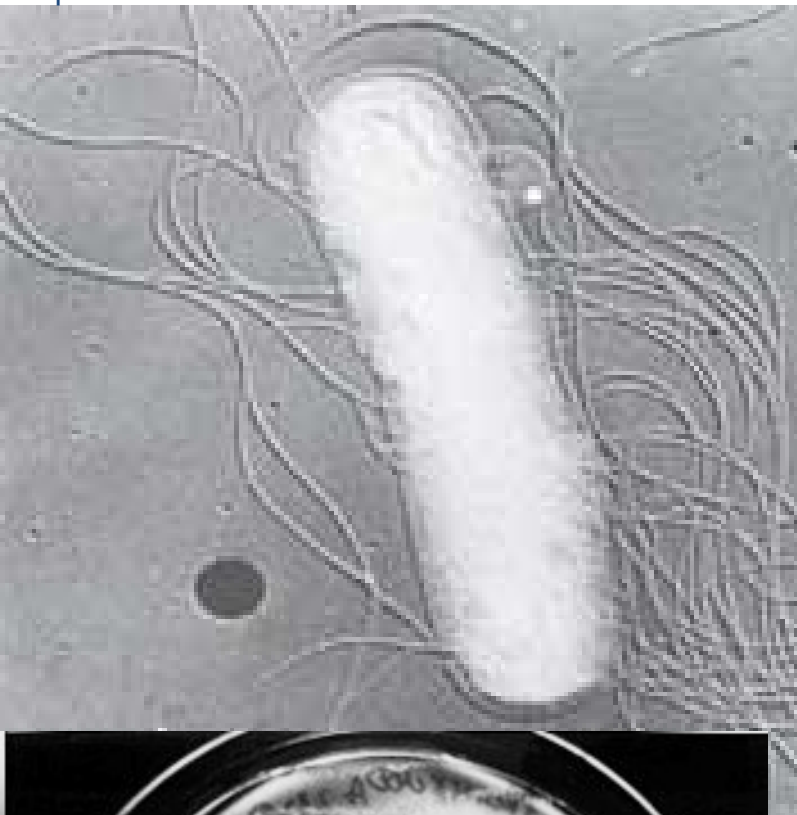
Pro protey je typické, že nerostou jen v místě inokulace, ale šíří se po povrchu agaru do stran (plazivý růst, Raussův fenomén, také fenomén příbojové vlny)



Proteus dle as. Petra Ondrovčíka

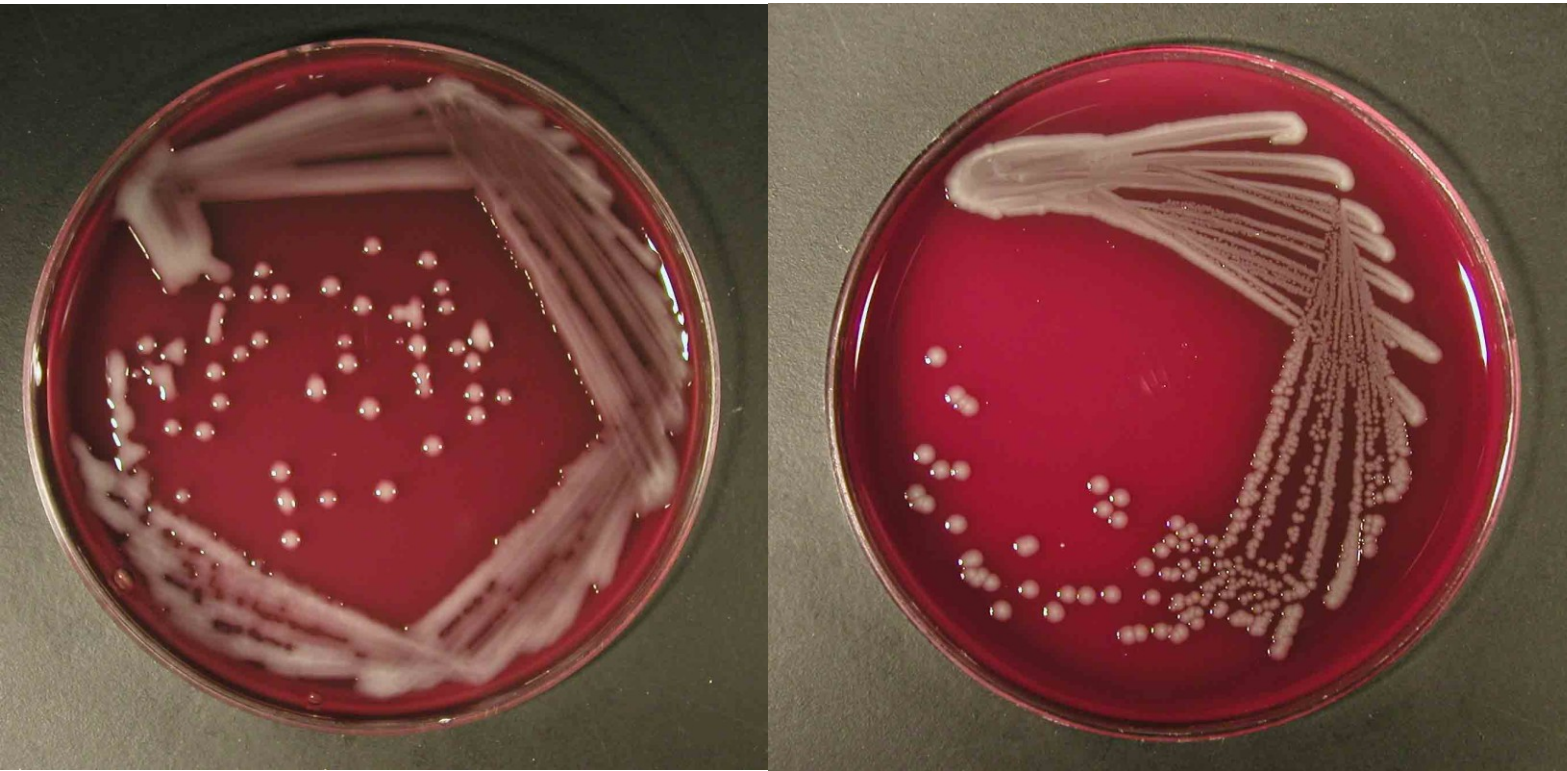


„Je sice pěkné, kolego, že dovedete dekarboxylovat ornitin; mnohem smutnější ovšem je, že se ve většině případů neumíte pořádně plazit!“



Proteus – typický plazivý růst

Klebsiely a escherichie



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



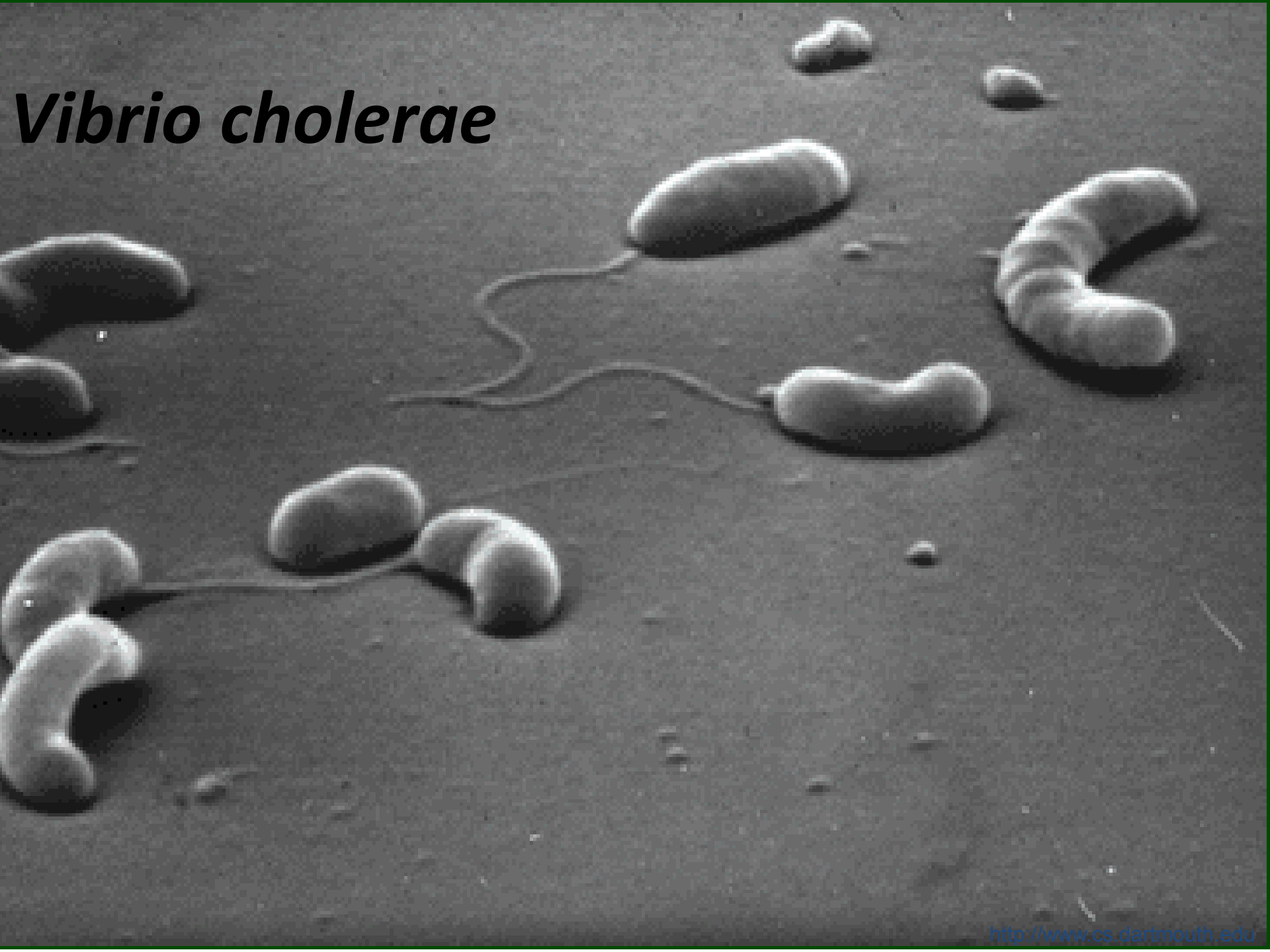
okud escherichie na KA hemolyzují (a to je dost často), uvede se to případně do výsledku, ale nehodnotí se to jako zvláštní diagnostický znak

Jeden méně známý helikobakter

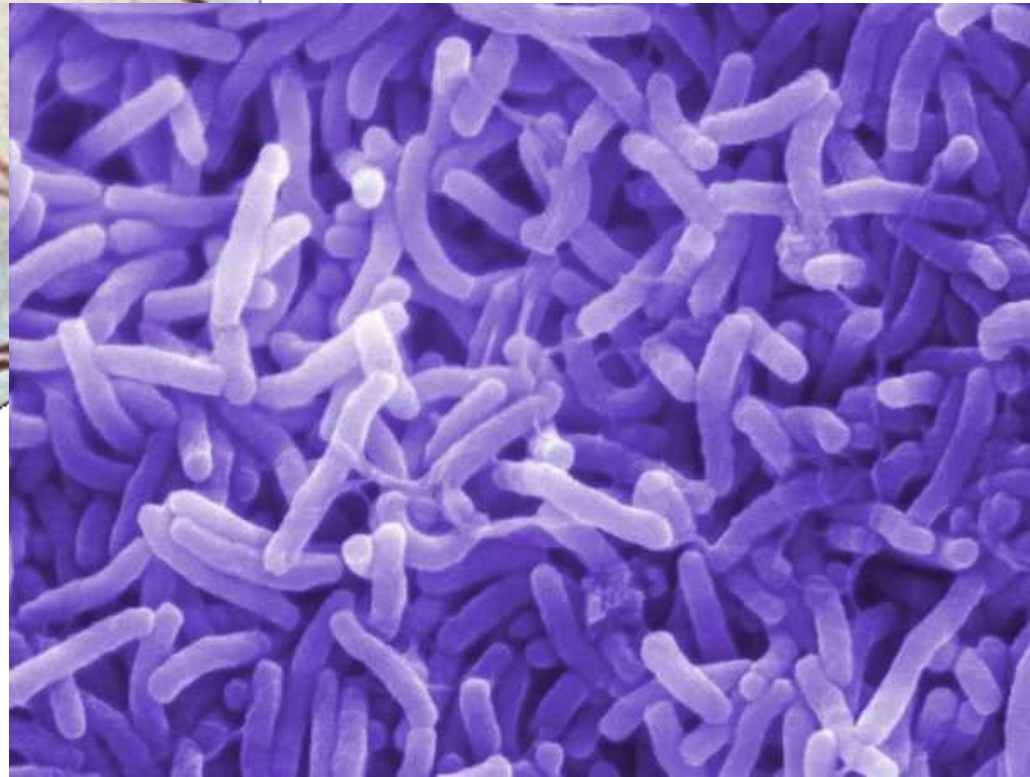
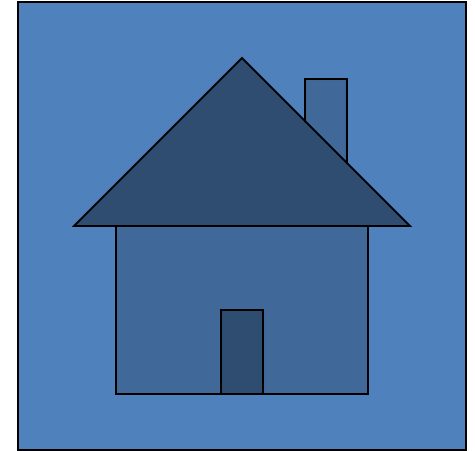
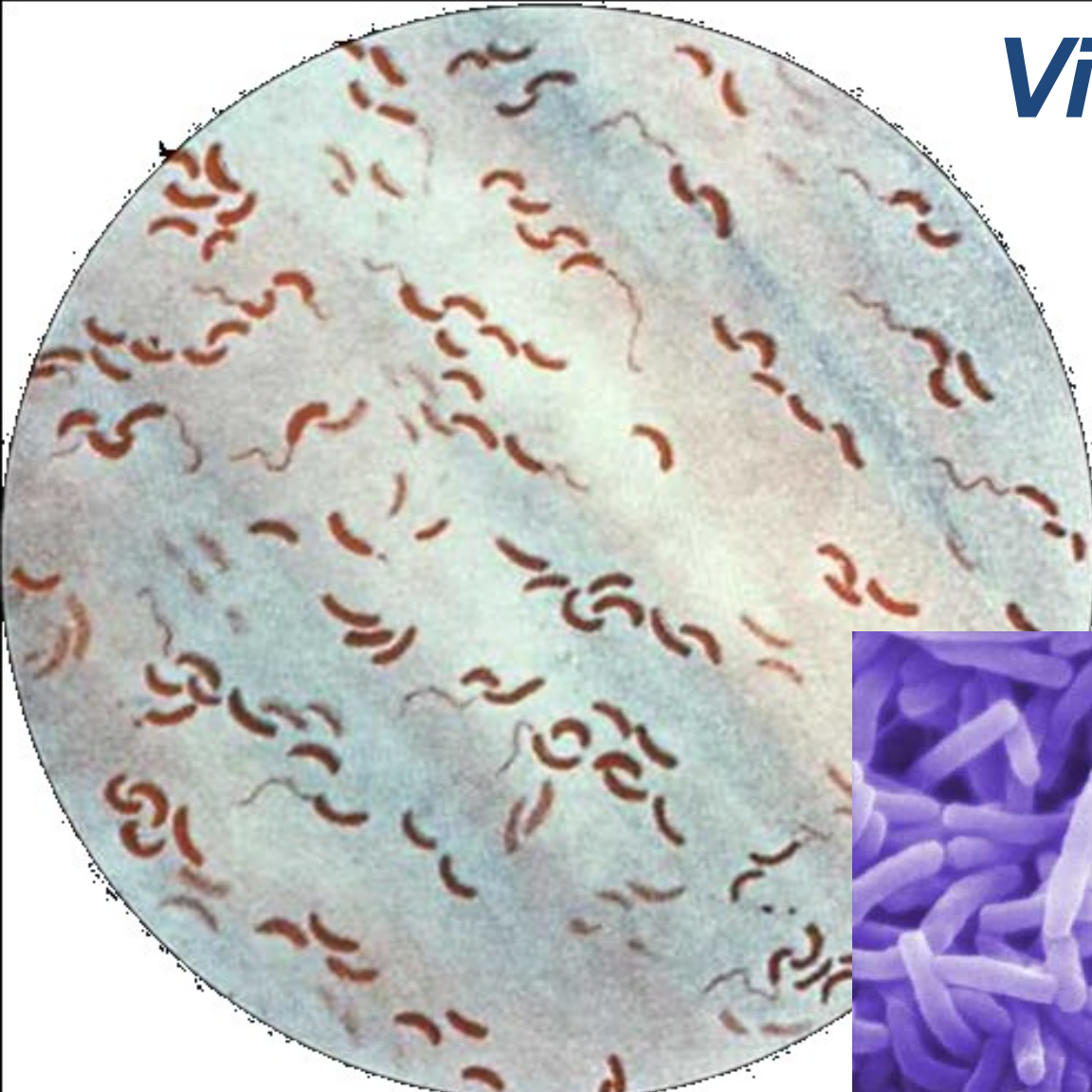
Helicobacter cinaedi



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

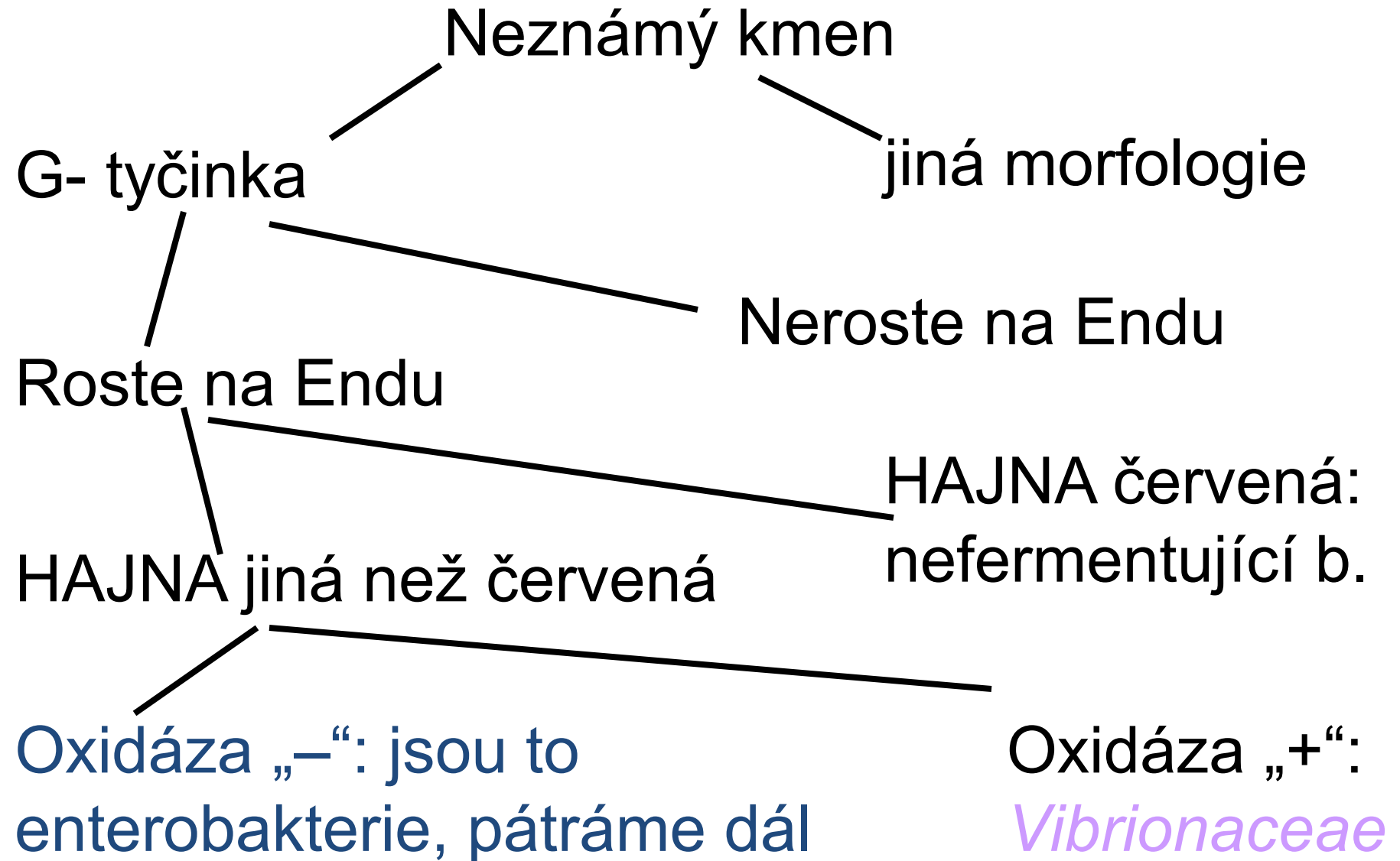
Odlišení od ostatních podezřelých (diferenciální diagnostika)

- **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, Švejcarova plotna, ENTEROtesty aj.
- Antigenní analýza zpravidla sklíčkovou aglutinací
- *Diagnostika kampylobakterů, helikobakterů a vibrií bude probrána zvlášť.*

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

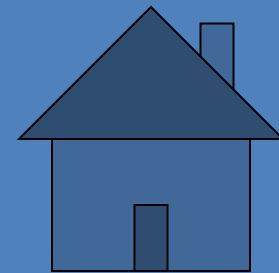
- Antibiotická citlivost se zásadně neurčuje u kmenů ze stolice. *(U bakteriálních průjmů většinou podání antibiotik paradoxně prodlužuje dobu vylučování patogena ze střeva; spíše než antibiotika se tedy užívá dieta a v rekonvalescenci probiotika.)*
- Určuje se tedy zpravidla u kmenů z moče, proto i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

Ještě k citlivosti na antibiotika

- Sestava užívaná v tomto úkolu je takzvaná „GNTM“ sestava, jedna z těch, které se u nás užívají:
 - **Pro jiné než močové infekce** máme G1 (základní sestava s převahou perorálních látek), G2 a G3 (spíše parenterální a širokospektrá antibiotika).
 - **Pro močové infekce** je test upraven: GNTM (základní) a G2M; G3 je stejný jako u jiných než močových infekcí
- Ačkoli obě varianty obsahují při kombinaci všech tří sestav 21 antibiotik, existují producenti betalaktamáz, které jsou citlivé jen na 4–6 z nich. U producentů karbapenemáz je situace ještě horší.*

Tabulka zón citlivosti

– příklad



| Antibiotikum | Zkratka | „C“ je (mm) | „R“ je (mm) |
|-----------------------------|---------|-------------|-------------|
| Ampicilin (aminopenicilin) | AMP | ≥ 14 | < 14 |
| Cefazolin (CS 1 gener.) | KZ | ≥ 15 | < 14 |
| Ko-trimoxazol (směs) | SXT | ≥ 16 | < 13 |
| Nitrofurantoin (nitrofurán) | F | ≥ 11 | < 11 |
| Tetracyklin (tetracyklin) | TE | ≥ 15 | < 12 |
| Cefuroxim (CS 2 gener.) | CXM | ≥ 18 | < 18 |
| Norfloxacin (chinolon) | NOR | ≥ 22 | < 19 |

**platí také pro doxycyklin*

Ani S, ani R → intermediární („I“)

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 kampylobakterů

- Kampylobaktery vyžadují v zásadě čtyři věci:
 - Svoji **černou půdu** –říkáme jí běžně „půda pro kampylobaktery“, 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 CO₂**
 - **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 tkáně) 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}C) nebo radioaktivním izotopem (^{14}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 CO_2 se objeví ve vydechaném vzduchu. Čím více značeného CO_2 , tím více *helikobaktera*

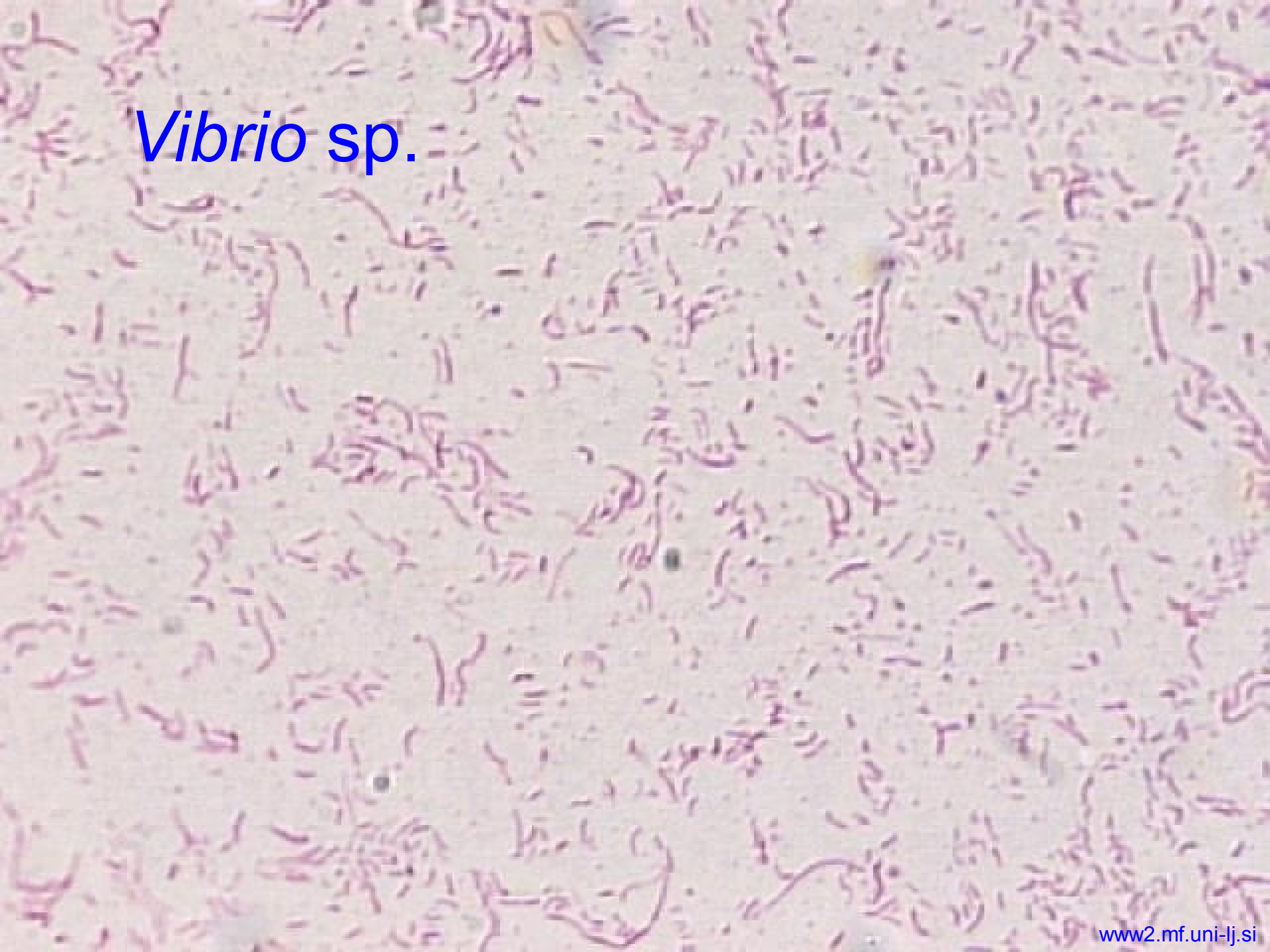
Diagnostika čeledi *Vibrionaceae*

- Provádí se podobně jako u enterobakterií, ale jsou oxidáza pozitivní.
- **Mikroskopicky** jsou vibria pohyblivé, zahnuté tyčinky
- Používá se také **speciálních pŮd**, 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*

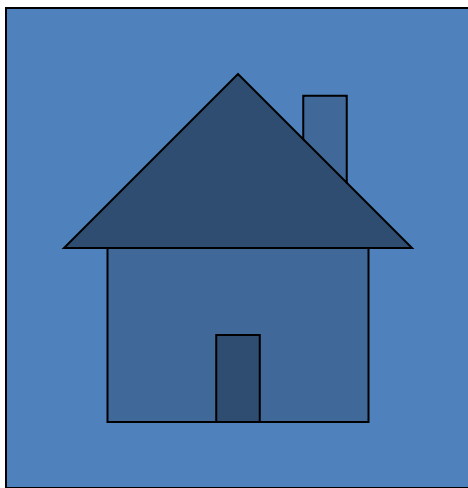
- V **mikroskopii**, *Vibrio* je **zahnutá tyčinka** (podívejte se na obrázek na další obrazovce a zakreslete)
- Pro **kultivaci** používáme **půdu TCŽS** (pevnou půdu) a **alkalickou peptonovou vodu** (tekutá půda)
- Pro **biochemickou identifikaci** používáme týž **Enterotest 16** jako pro enterobakterie, 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.

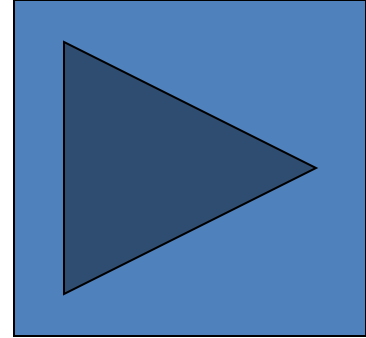


Konec

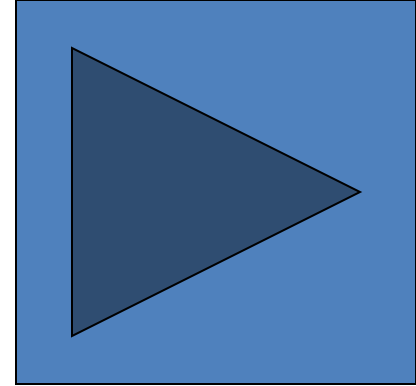
Malováno pomocí protea a
escherichie



Bonus: Širokospektré betalaktamázy (ESBL)

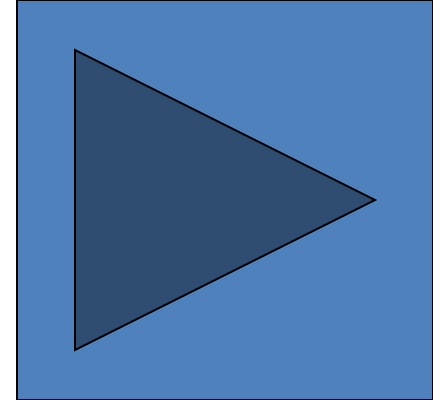


Betalaktamázy TEM, SHV, CTX apod.



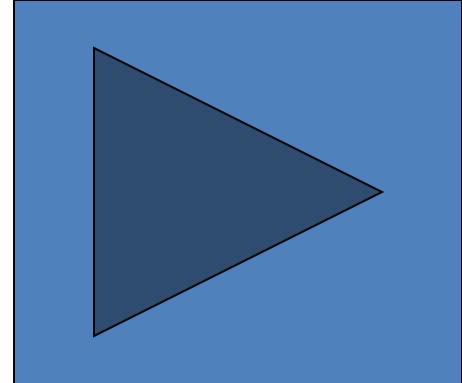
- Vyskytují se především u **enterobakterií**: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, ale mohou být i u nefermentujících tyčinek
- Existuje jich mnoho typů
- Geny pro ně jsou uloženy v plasmidech, mutace jsou časté, vznikají stále nové varianty
- Z betalaktamů zůstávají citlivé karbapenemy

Metalobetalaktamázy



- Vyskytují se u **G- nefermentujících bakterií**, zejména pseudomonád
- Štěpí i karbapenemy
- Zbývají citlivé monobaktamy (aztreonam)
- U enterobakterií se v poslední době vyskytují podobné **karbapenemázy**. V Brně se aktuálně objevily první takové kmeny – jde o kmeny citlivé většinou pouze na kolistin, případně ani na ten (jde-li o serratie, protey či morganely)

Induktory a selektory betalaktamáz

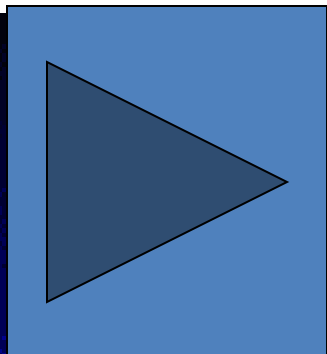
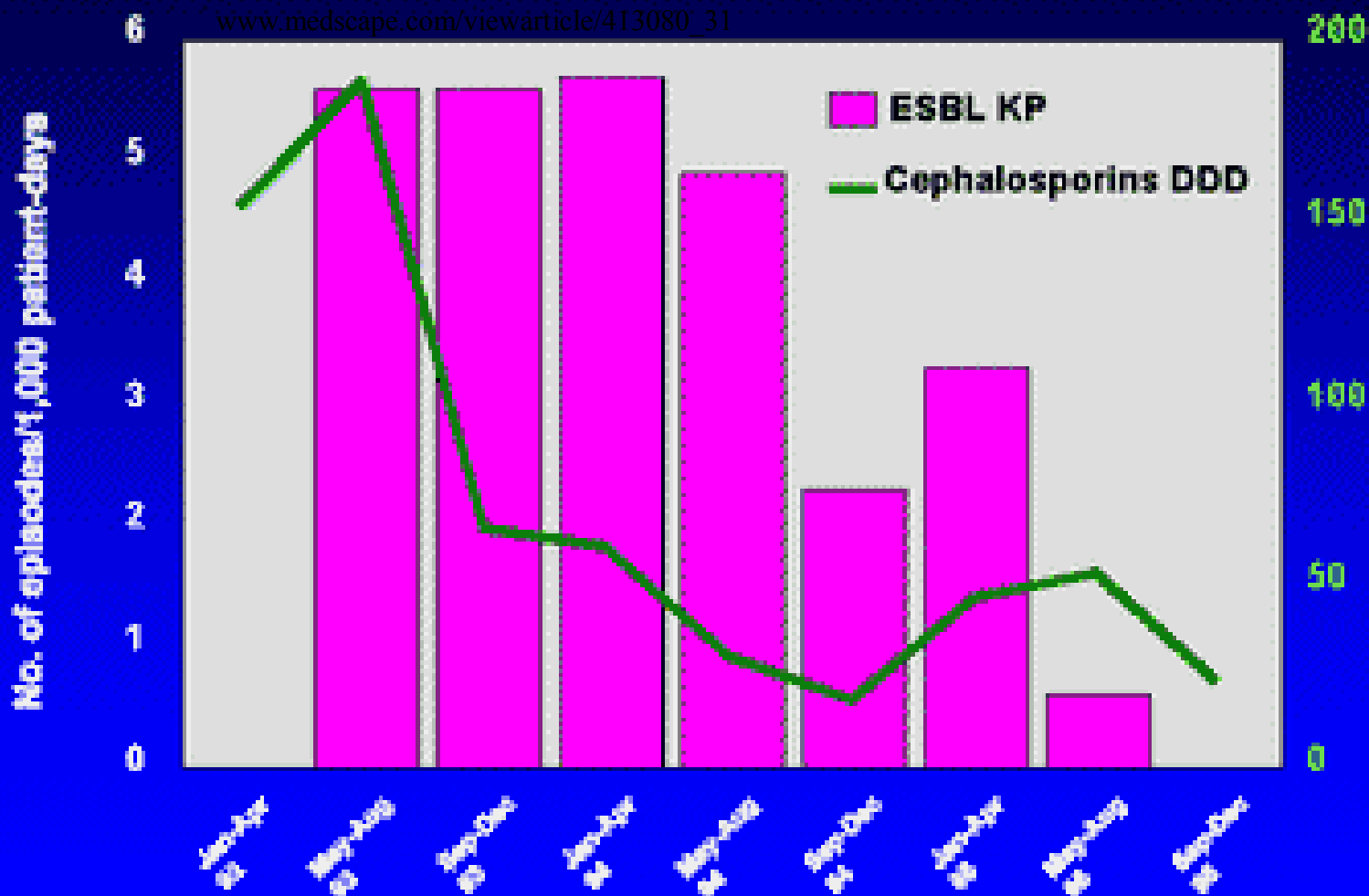


- Tvorba některých betalaktamáz může být **indukována** používáním určitého antibiotika (induktoru). Příkladem induktoru je **ko-amoxicilin**
- Nebezpečnější než induktory jsou však **selektory**: poměrně účinná antibiotika, která vyhubí citlivou část populace, a zůstanou pouze odolné, polyrezistentní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

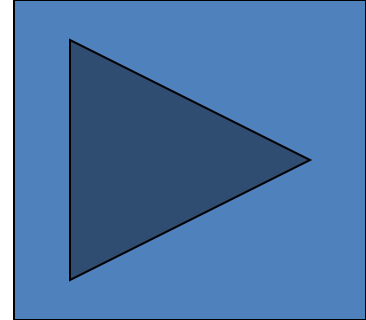
Spotřeba cefalosporinů a ESBL

ESBL-KP Incidence Rate and Cephalosporin Use in ICUs

www.medscape.com/viewarticle/413080_31



Aktuální situace



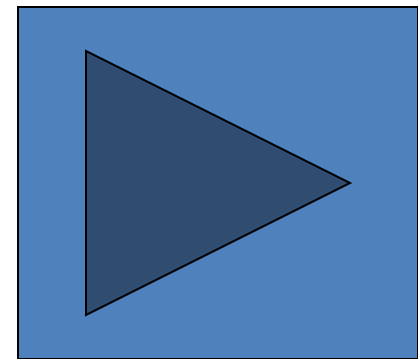
- V nemocnici u sv. Anny jsou bohužel **velmi běžné**. Lokálně se jejich **výskyt na určitých klinikách či odděleních daří omezit**, obecně se však stále vyskytují velmi často
- Časté na **urologii, interně, ARK** – často nozokomiální a chronické (lze se pokusit o přípravu autovakcíny)
- Před několika 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**

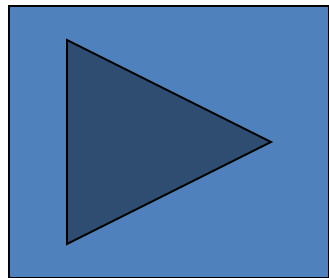


Porovnáváme
1 s 3 a 2 s 4

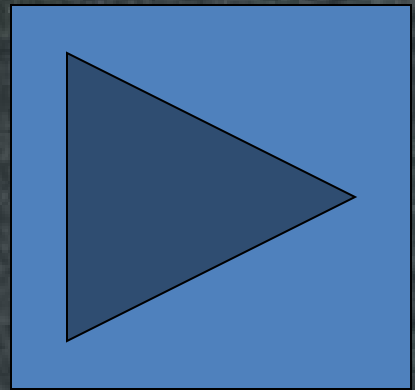
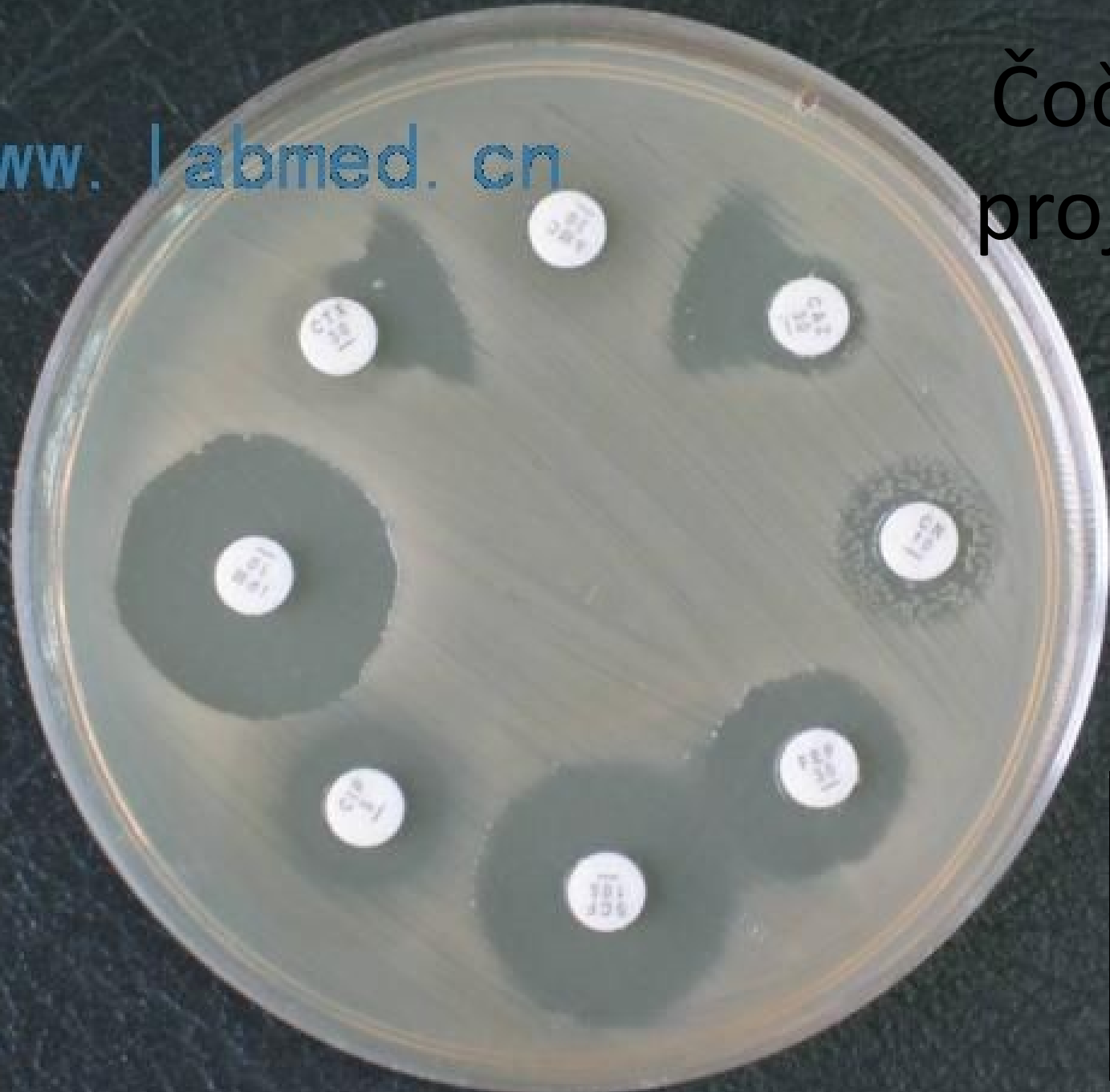


Zjištění produkce ESBL při běžném testování citlivosti mikrodilučním testem

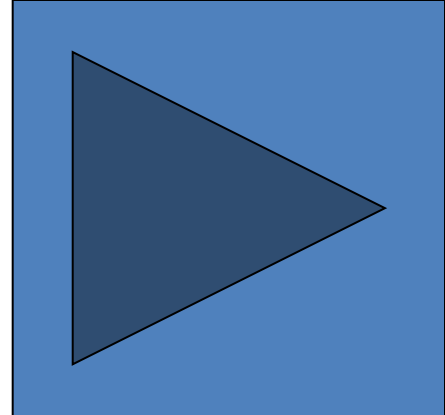
- Testy jsou záměrně uspořádány tak, aby **ko-amoxicilin byl obklopen mohutnými betalaktamovými antibiotiky** (aztreonam, cefotaxim).
- V místě, kam difundoval jak např. aztreonam, tak i kyselina klavulanová z ko-amoxicilinu, vzniká charakteristické **čočkovité projasnění růstu mikroba.**



Čočkovité projasnění

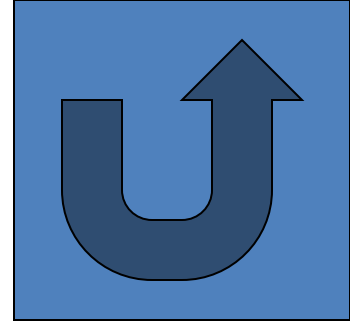


Terapie



- 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)