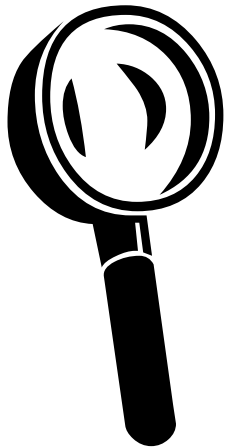


Mikrobiologický ústav uvádí

NA STOPĚ PACHATELE



Díl druhý:
Pachatelem je streptokok

Přehled streptokoků

Příběh	Na KA	Jméno pachatele
4.	viri- dace (alfa)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
5.		skupina „ústních streptokoků“
1.	(beta) hemo- lýza*	<i>Streptococcus pyogenes</i>
2.		<i>Streptococcus agalactiae</i>
3.		Skupina „non-A-non-B“ streptokoků
–	žádná	Streptokoky bez hemolýzy („gamáči“)

*u *S. agalactiae* jen částečná hemolýza

Přehled témat

Klinická charakteristika: Streptokoky s hemolýzou

Klinická charakteristika: Streptokoky s viridací

Léčba streptokokových onemocnění

Diagnostika streptokoků

Diferenciální diagnostika streptokoků

Pozdní následky streptokokových infekcí

Poznámky

- Klasifikovat streptokoky lze mnoha způsoby. Jeden je založen na **antigenech podle Lancefieldové** (v této prezentaci je použito pouze pro „non-A-non-B“ streptokoky). Nové studie se také zabývají **podobností genomu** apod. Nicméně klasifikace založená na **typu hemolýzy** je tradiční a stále široce rozšířená v praxi, i když má problémy: **některé kmeny mohou být velmi variabilní v produkci úplné, částečné nebo žádné hemolýzy**, a některé (např. *S. anginosus*) dokonce vykazují občas viridaci a občas (beta)hemolýzu. Navzdory těmto výjimkám lze naprostou většinu streptokoků identifikovat způsoby, které dále popíšeme.
- Streptokoky sdílejí **kokovitý tvar se stafylokoky**, ale taxonomicky jsou spíše blízké **lactobacilům** a dalším bakteriím produkujícím kyselinu mléčnou z laktózy – všechny tyto patří do řádu Lactobacillales.

Klinická charakteristika:
streptokoky

s (β -)hemolýzou

(částečnou či úplnou)


Příběh první

- Pan Hmoždinka je kutil. Pracoval v dílně, když se uvolnila těžká fošna se svěrákem a spadla mu na nohu. Vznikla **velká tržná rána**, navíc znečištěná. Pana Hmoždinku odvezli do nemocnice. **Ránu chirurgicky ošetřili**, ale objevily se vysoké horečky a příznaky **sepsy**. Při reoperaci byl zjištěn **zánět svalových obalů (fascií) s nekrózou**. Bohužel, veškerá péče nepomohla: **noha nakonec musela být amputována**.

Kdo je vinen?

- Vinen je ***Streptococcus pyogenes***

strepto = v řetízcích, *pyo-genes* = hnisotvorný

- *Streptococcus pyogenes* je známý jako původce angíny (akutní tonsilitidy)  Způsobuje ale také hnisavé záněty tkání. Na rozdíl od abscesů, často působených stafylokoky, jde zde spíše o flegmony.
- Kromě angín má také na svědomí spálové angíny a erysipel – růži. Jde o kmeny produkující tzv. erythrogenní toxin (erythros = řecky červený)
- Pokud je bakterie sama napadena určitým bakteriofágem, stává se „masožravým streptokokem“ – „meat eating bug“ – náš případ.

Typická onemocnění

Streptokoková angína (tonsilofaryngitida)

Spála (šarlach, skarlatina, anglicky scarlet fever)

Erysipel (růže)

Jen vzácně také onemocnění jako je

Nekrotizující fasciitida

Příběh druhý

- Mladá paní E. během těhotenství příliš **nedbala na těhotenské prohlídky**. V porodnici se objevila až při samotném porodu. **Porod proběhl bez komplikací**. Brzy se však u dítěte objevily **příznaky sepse s respiračním selháním**. Včasnou léčbou se podařilo dítě zachránit a také předejít možnému vzniku **meningitidy**, která v podobných případech bohužel není nijak výjimečná.
- Později se ukázalo, že paní E. byla **nosičkou bakterie**, která byla ověřena jako pachatel onemocnění...

Kdo za to tentokrát může?

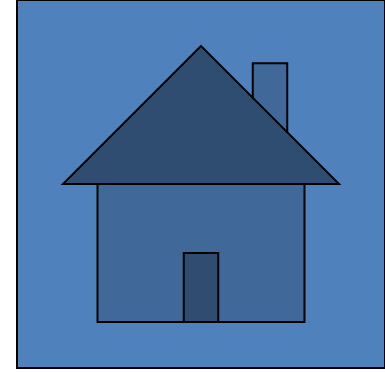
I bakterie ***Streptococcus agalactiae*** je streptokokem. U člověka se však specializuje spíše na dolní část těla (**urogenitální infekce**), s možným postižením dítěte při porodu.

*Bystří studenti si všimnou druhového jména **a-galactiae**, tedy bez-mléčný. Tato bakterie opravdu způsobuje také záněty mléčné žlázy s poruchou tvorby mléka, avšak většinou je to u krav, nikoli u člověka.*

Příběh třetí

- Klučíka J. škrábe v krku a nelepší se to. Že by angína? Jenže angína je zánět mandlí, a jemu mandle „vyndali“, i ty „nosní“ (adenektomie) a dokonce i ty krční (tonsilektomie).
- Rodiče s ním zašli k doktorce, ať mu napíše antibiotika. Doktorka ale rozhodla – nejdřív výtěr z krku, a pak se uvidí. Pozvala si J. za tři dny, až už měl výsledek. Nasadila mu penicilin, a ten brzy zabral.

Kdo za to může?





- Takzvaným „**non-A-non-B**“ streptokokům tak říkáme proto, že nepatří ani do skupiny A (ve které je *Streptococcus pyogenes*) ani do skupiny B (kde je *S. agalactiae* a některé zvířecí streptokoky).
- Nezpůsobují tak často angíny, ale spíše **faryngitidy** – **záněty hltanu**. Často však mohou být přítomny v krku bez klinických potíží.
- Stejně jako u angín je u citlivých kmenů lékem volby **penicilin**; makrolidy jen u alergiků.

Klinická charakteristika:
streptokoky
s viridací
(α -hemolýzou)

Příběh čtvrtý

- Paní B., důchodkyně nemá slezinu – vyňali jí ji před léty po autonehodě.
- Před několika dny začala být „nachlazená“, nevěnovala tomu pozornost, ale teď se její stav zhoršil, takže ji dcera dovezla do nemocnice, kde ji hospitalizovali na infekčním oddělení s podezřením na zánět mozkových blan
- Díky včasnému nasazení antibiotik se její stav zlepšil a za dva týdny se uzdravila.

Zločincem je v tomto případě

- ***Streptococcus pneumoniae***, čili „pneumokok“. Dříve se mu říkalo *Diplococcus pneumoniae*, tvoří totiž řetízky, ale spíše dvojice (i když druhotně často uspořádané do řetízků). Také není ideálně kulatý, má spíše lancetovitý (to česky znamená kopíčkovitý) tvar.
- V malém množství se nachází i ve farynzích zdravých osob. Jinak je ale původcem zánětů plic, paranasálních dutin  středního ucha, a také  původcem sepsí a meningitid.

Příběh pátý

- Pan S. má už dlouho dobu potíže se srdcem, které si dokonce vyžádaly operaci, při které mu byla do srdce voperována **umělá srdeční chlopeň**.
- Před měsícem měl **ošklivý zubní kaz**, a dost dlouho trvalo, než našel čas zajít k zubaři.
- Nyní se mu zhoršily srdeční potíže natolik, že musel být hospitalizován. Byla stanovena diagnóza **endocarditis lenta**.

Kdo je tentokrát pachatelem?

- **Ústní streptokoky, viridující streptokoky, alfa streptokoky**, v laboratoři dokonce můžete zaslechnout slovo „**alfíci**“ – všechny tyto pojmy označují skupinu streptokoků, které **na krevním agaru viridují**; obvykle se ovšem myslí „ty ostatní kromě pneumokoka“.
- Jsou **normální součástí mikroflóry ústní dutiny a částečně i faryngu**. I za fyziologických okolností se neustále v malém množství dostávají do krve. Malér je, když se jich tam dostane hodně najednou a když narazí na terén, kde se uchytí.

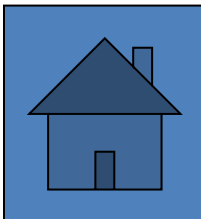
Někteří možní pachatelé

S. salivarius – běžně nalézáný ve slinách

S. sanguis (synonymum *S. sanguinis*) bývá spojován s endokarditidou

S. mutans má pravděpodobně ze všech ústních streptokoků největší vztah k zubnímu kazu.

Více o viridujících streptokokcích včetně rozdělení na skupiny na anglické wikipedii



Léčba streptokokových onemocnění

Léčba: spravedlivý trest zločinci

- Zločinné streptokoky potrestáme vhodným antibiotikem. U streptokoků je stále lékem volby klasický Flemingův penicilin (ať už parenterální G-penicilin nebo perorální V-penicilin). Makrolidy se používají u prokázané alergie na penicilin, mezi léky další volby patří doxycyklin, ko-trimoxazol, ampicilin a další. Vankomycin je rezervní, zatím stoprocentně účinné atb (žádná zóna = chyba, nejde o streptokoka).

Odečítání in vitro citlivosti

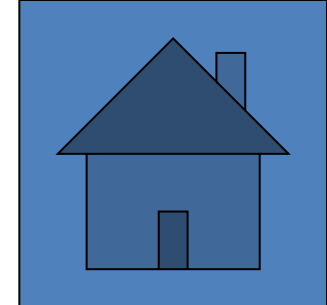
- Zpravidla odečteme **difusní diskový test** – změříme zóny a porovnáme s referenčními zónami
- Opět: horší patogen (pyogenní streptokok) je citlivější než mírnější patogeny
- Testy jsou provedeny na **MH agaru s krvinkami** nebo na **krevním agaru**. Na prostém MH agaru totiž většina streptokoků roste špatně nebo vůbec.

Ovšem v diagnostice se to nedá využít, protože některé streptokoky vyrůst mohou!

Referenční zóny nejběžnějších antibiotik

Antibiotikum	Zkr.	„C“ je-li \geq než (mm)	„I“ je-li mezi (mm)	„R“ je-li $<$ než (mm)
Penicilin	P	≥ 18	 	< 18
Erytromycin (makrolid)	E	≥ 21	18–20	< 18
Klindamycin (linkosamid)	DA	≥ 17	 	< 17
Chloramfenikol	C	≥ 19	 	< 19
Tetracyklin (tetracyklin)	TE	≥ 23	20–22	< 20
Vankomycin (glykopeptid)	VA	≥ 13	 	< 13

Referenční zóny nejběžnějších antibiotik– močové cesty



Antibiotikum	Zkr.	„C“ je-li \geq než (mm)	„I“ je-li mezi (mm)	„R“ je-li $<$ než (mm)
Penicilin (penicilin) (interpretován jako ampicilin)	P	≥ 18		< 18
Tetracyklin (tetracyklin)	TE	≥ 23	20–22	< 20
Vankomycin (glykopeptid)	VA	≥ 13		< 13
Nitrofurantoin (nitrofurantoin)	F	≥ 17	15–16	< 15

Diagnostika streptokoků

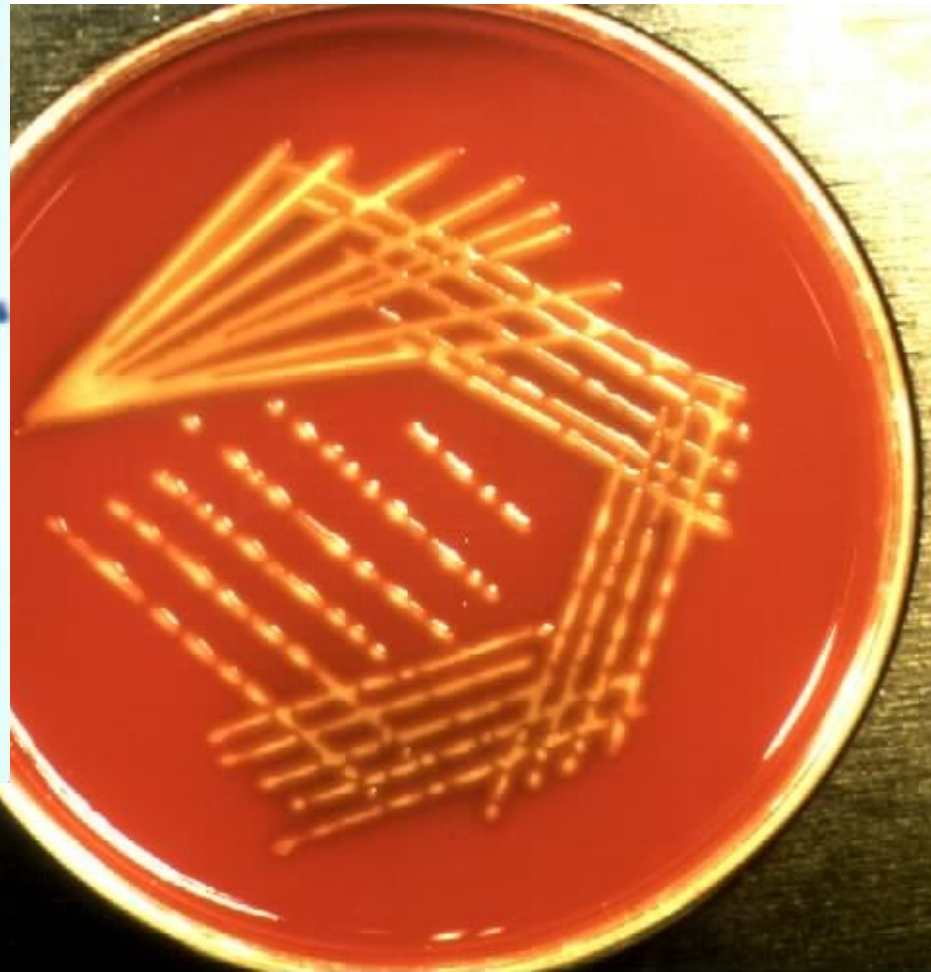
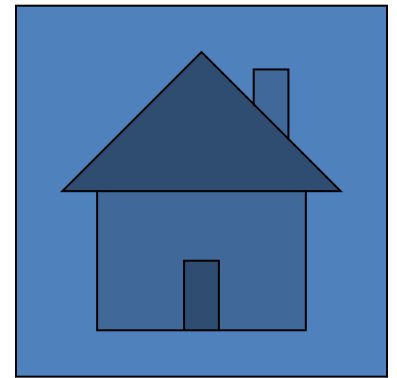
Popis pachatelů (diagnostika) – 1

- **Mikroskopie:** grampozitivní koky
- **Kultivace:** na KA kolonie šedé až bezbarvé, většinou drobné, větší kolonie má *Streptococcus agalactiae*
- **Hemolytické vlastnosti:** některé viridují, některé částečně či úplně hemolyzují
- **Nerostou** na KA s 10 % NaCl, ani na Slanetz-Bartleyově či žluč-eskulinové půdě. Jsou však (spolu s enterokoky) rezistentní na aminoglykosidy.

Popis pachatelů (diagnostika) – 2

- **Biochemické testy:** kataláza i oxidáza negativní, biochemicky lze rozlišit jednotlivé druhy zejména u viridujících
- **Antigenní analýza** může naopak pomoci spíše u hemolyzujících streptokoků. Používá se **system dle Lancefieldové** – teoreticky zahrnuje všechny streptokoky, ale mnohé viridující nedisponují žádným antigenem v tomto systému. Skupiny mají písmena **A, B, C, E, F, G** a další.

Fotografie z databáze zločinců



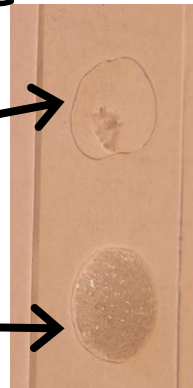
Zdroj: archiv
Mikrobiologického ústavu

Diferenciální diagnostika streptokoků

Odlišení od ostatních podezřelých (diferenciální diagnostika 1)

Foto: Mikrobiologický
ústav

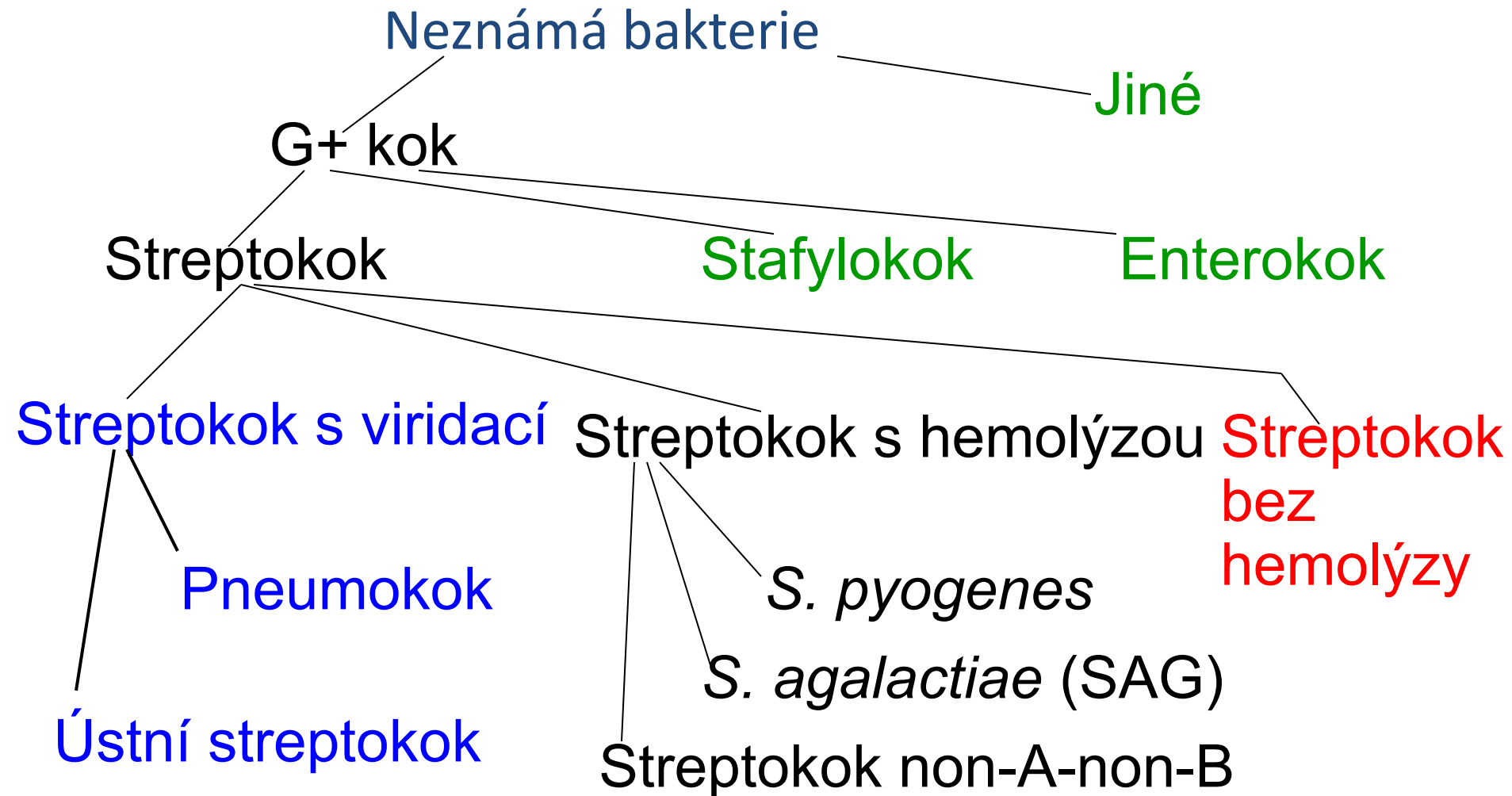
- Gramovo barvení odhalí všechny bakterie, které nepatří mezi grampozitivní koky.
- Pozitivní kataláza od streptokoků
odliší stafylokoky
- Růst na SB a ŽE půdě odhalí enterokoky, které jsou také všechny pozitivní v takzvaném PYR-testu, kdežto streptokok je pozitivní jen jeden, a to zrovna takový, kterého si málokdo s enterokokem splete (o něm bude řeč dále)



Rozlišení podezřelých streptokoků (diferenciální diagnostika 2)

- Při rozlišování streptokoků hodnotíme nejdříve **hemolýzu** – streptokoky členíme na viridující, hemolyzující (částečně či úplně) a ahemolytické
- **Pneumokoka** od **ostatních viridujících** poznáme pomocí pozitivního optochinového testu, testu rozpustnosti ve žluči a dalších
- ***S. pyogenes*** se od **ostatních hemolytických** pozná pozitivním bacitracinovým a PYR testem
- ***S. agalactiae*** se zase pozná pozitivním CAMP testem – o všech těchto testech viz dále

Schematicky:



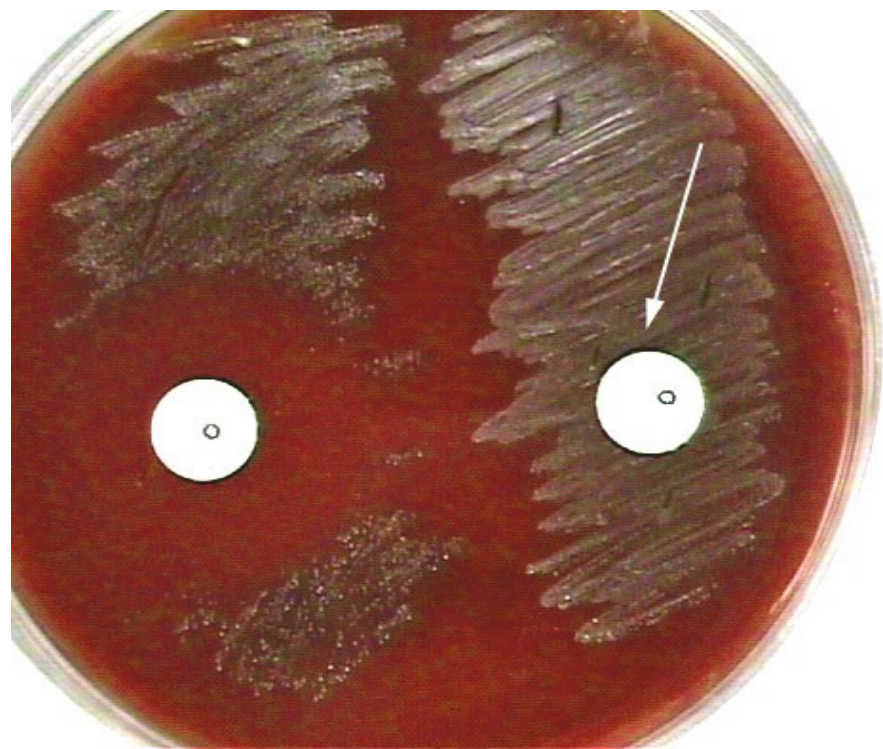
Pneumokok: jak pojmout podezření

- Pneumokoka odlišíme optochinovým testem – viz další obrazovka.
- Podezření však můžeme pojmout, když:
 - mikroskopicky vidíme lancetovité diplokoky
 - kultivačně jsou kolonie ploché, penízkovité až miskovité, někdy s centrálním vyvýšením
 - někdy naopak jsou kolonie výrazné, hlenovité to jsou kmeny s výraznou tvorbou pouzdra (zpravidla velmi virulentní)

Optochinový test

- Klasický test k odlišení pneumokoka od ústních streptokoků. Pneumokok je citlivý na antibiotikum optochin, ústní streptokoky jsou rezistentní. (Optochin se dnes už nepoužívá léčebně, zůstal tedy jen v diagnostice)

- Občas se používá také test rozpustnosti ve žluči. Dnes už historický význam má test patogenity pro myš.



Druhové určení ústního streptokoka

- Jen blázen (nebo badatel) by druhově určoval ústního streptokoka z ústní dutiny nebo krku. Proč to činit, když je v těchto místech běžnou flórou?
- Na druhou stranu, máme-li kmen z hemokultury či likvoru, je jeho určení na místě. U viridujících streptokoků nemá smysl snažit se o antigenní analýzu, zato, jak jsme se již dozvěděli, velice dobře lze použít biochemické určení.
- V našich podmínkách je to STREPTOtest 16

STREPTOtest 16 – jak odečíst

Tři mušketýři byli čtyři. STREPTOtest 16 (a stejně tak i STAPHYtest 16 a ENTEROtest 16) používá 17 reakcí.

- První reakcí je opět VPT (D'Artagnan!)
- Druhou až devátou reakcí je opět první řádek v dvojřádku
- Obdobně desátou až sedmnáctou reakcí je druhý řádek v dvojřádku

Příklad výsledku STREPTOtestu 16:

Kód 511 420 *Streptococcus salivarius*

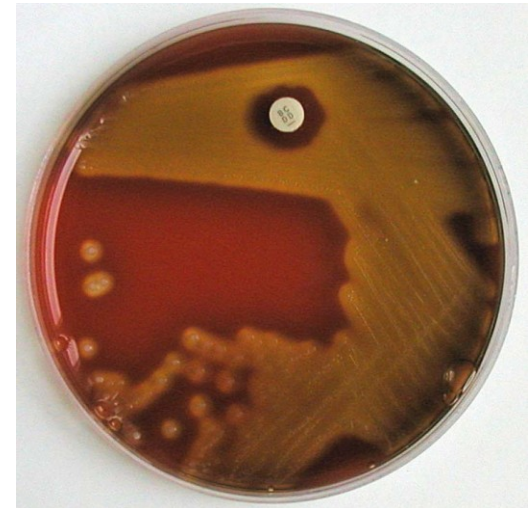
% pravd. 97,19 Index typičnosti 1,00

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
	Zkum	H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C	B	A	
		První řádek panelu								Druhý řádek panelu								
+																		
-																		
?																		
	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	
	5			1			1			4			2			0		

Obzvlášť obávaný pachatel: **pyogenní streptokok**. Jak na něj?

PYR test

- **PYR test** je provedením podobný oxidázovému. Na kolonie se umístí reakční ploška proužku. Počká se deset minut a přikápně se činidlo. Pozitivní je červené zbarvení.
- *Bacitracinový test byl stejný jako optochinový, jen se použilo jiné antibiotikum. Dnes byl pro menší spolehlivost opuštěn.*



A přichází druhý:

***Streptococcus agalactiae* – 1**

- Mnohé bakterie tvoří hemolyziny
- Pokud na agar působí dva hemolyziny, může být jejich působení **synergické** nebo **antagonistické**.
- Příkladem synergismu je **CAMP faktor *Str. agalactiae*** a **beta lyzin *Staphylococcus aureus***
- Nelze jej použít k diagnostice zlatého stafylokoka – ne každý totiž produkuje beta lyzin! Používá se tedy jen v dg. streptokoků

CAMP test

- Na agar se naočkuje testovaný kmen (*S. agalactiae*) a kolmo k němu laboratorní kmen zlatého stafylokoka
- V případě positivity vidíme zesílenou hemolýzu ve tvaru dvou trojúhelníků, anebo, poetičtěji, motýlích křídel

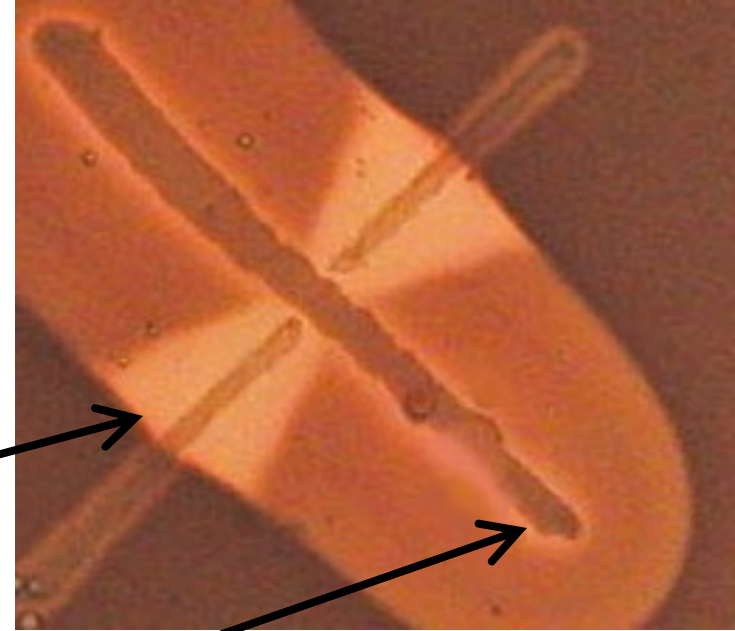


Foto O. Z.

Hemolytiční pachatelé – shrnutí

Bacitracinový a PYR test	CAMP test	Streptokok
pozitivní	negativní*	<i>S. pyogenes</i>
negativní	pozitivní	<i>S. agalactiae</i>
negativní	negativní	non-A-non-B streptokok**
pozitivní	pozitivní	ptákovina, špatný test, případně směs dvou kmenů

*někdy slabý synergismus, který nemá charakteristický tvar a velikost

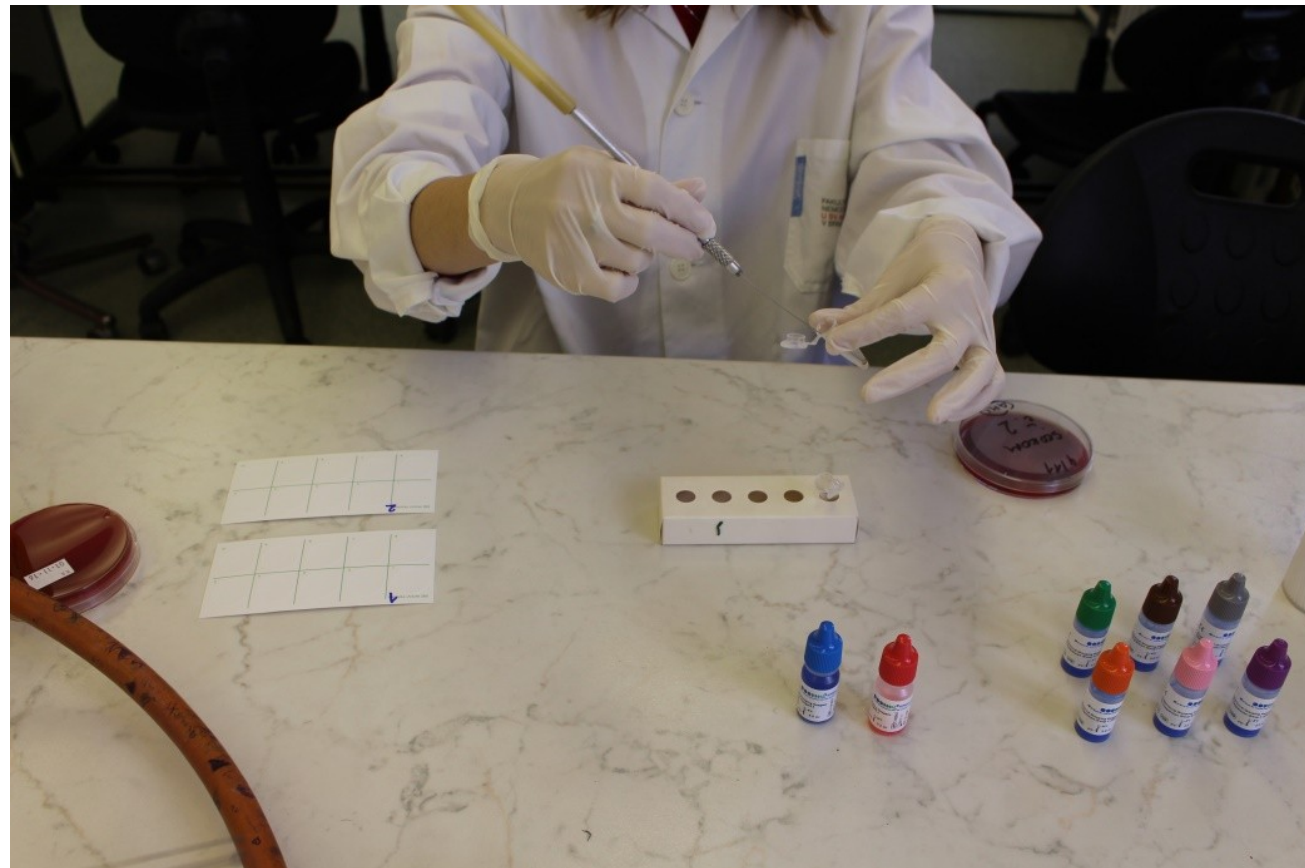
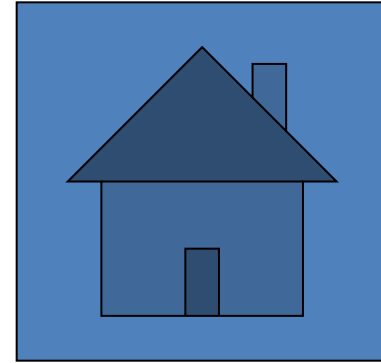
**v případě potřeby se blíže identifikuje průkazem antigenu

Zapamatujte si:

- **Streptokoky s hemolýzou** (úplnou nebo částečnou), ale také streptokoky zcela bez hemolýzy mohou být zpravidla dále určovány **latexovou aglutinací** (je-li to zapotřebí). Jejich biochemická aktivita je zpravidla chabá.
- **Streptokoky s viridací** (alfa-streptokoky) lze zpravidla dále určovat **biochemickými testy** (je-li to zapotřebí). Jejich antigenní determinanty jsou zpravidla slabé.

Latexová aglutinace

- Latexová aglutinace slouží k přesnému určení non-A-non-B streptokoků dle schématu Lancefieldové (nicméně zpravidla stačí určení „je to non-A-non-B streptokok“).



Pozdní následky streptokokových infekcí

Streptococcus pyogenes:

- Už víte, že *S. pyogenes* způsobuje angíny, spály, erysipel, flegmóny.
- I po té, co sám zmizí z organismu, může po něm zbýt děsivé dědictví! Protilátky proti němu kolují v krvi... a omylem se místo na streptokoky vážou na některé struktury organismu. Tím vzniká akutní glomerulonefritis či revmatická horečka.

Bystří studenti si vzpomněli, že už o tom slyšeli...

ASLO: způsob, jak zjistit, kolik protilátek vlastně v krvi koluje

- Pomocí testu ASLO zjistíte, zda je přítomna **normální protilátková odpověď**, nebo **přemrštěná autoimunita** s rizikem vývoje glomerulonefritidy nebo revmatické horečky
- Test ASLO se provádí zpravidla po prodělané **streptokokové infekci**. Průkazem protilátky se nesnažíme prokázat infekci (o té víme), ale zjistit, zda dochází k vývoji autoimunity. Nejde tedy vlastně o nepřímý průkaz, přestože prokazujeme protilátky.

ASLO: princip (opakování)

- Protilátka blokuje hemolytický efekt toxinu (streptolysin O) na krvinku.
- U ASLO neužíváme geometrickou řadu. Hodnoty ředění jsou na lístečku.
- Titr nad cca 250 znamená možnost autoimunitní odpovědi
- Všimněte si, že v.angličtině se ASLO označuje jako ASO. Zrada je, že zkratka ASLO přitom také existuje a označuje stafylolysin.

Jak odečíst panel ASLO

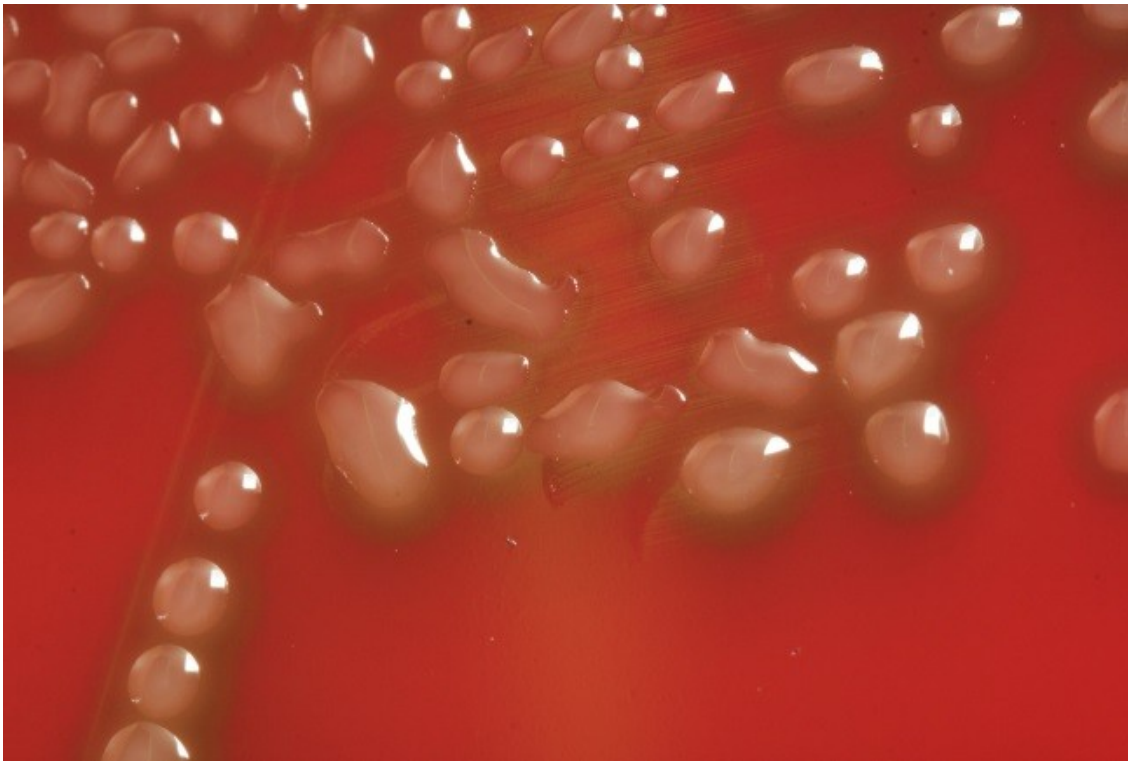
- Každý pacient jen jeden řádek, hodnoty ředění jsou uvedeny zde:

Hodnocení výsledků ASLO

řádek	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
hodnota mlj	100	120	150	180	225	270	337	405	506	607	759	911

- Panel se odečítá naležato. Kromě patientských sér většinou testuje kontrola.

Nashledanou při dalším dílu!



Detail kolonií
pnaumokoka

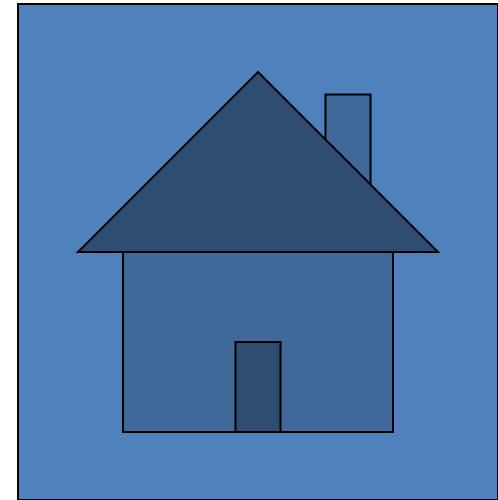
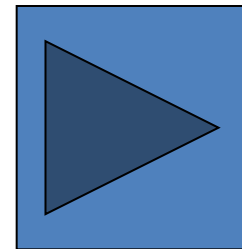


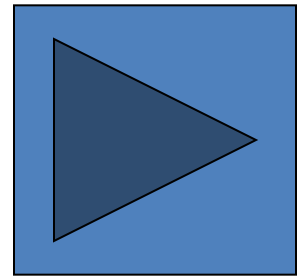
Foto: Mikrobiologický ústav

Bonus 1: Záněty přínosných dutin (paranasálních, sinusitis acuta)



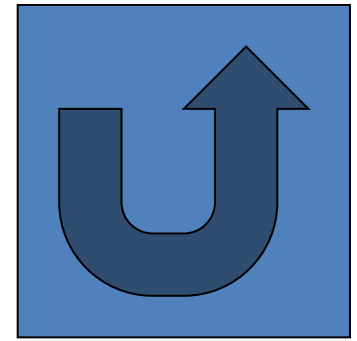
- Přechodný zánětlivý nález v dutinách je normální při klasické rýmě a není důvodem k léčbě (ani při rtg nálezu)
- Důvodem k léčbě je **bolestivý zánět dutin**, který se projevuje bolestí zubů, hlavy, horečkou a trvá aspoň týden, nebo je podrážděný trojklanný nerv (pak ani tak dlouho trvat nemusí)
- Původcem bývá ***Streptococcus pneumoniae*** či ***Haemophilus influenzae***

Výplach dutin: ano či ne?



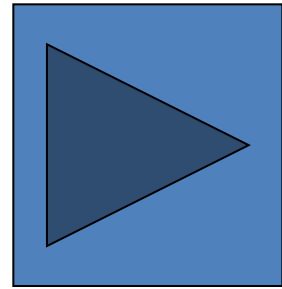
- **Je zbytečné provádět výplach dutin jen za účelem vyšetření.** Zde i mikrobiologové připouštějí empirickou léčbu obvyklých původců
- Pokud se ale provádí výplach s cílem uvolnění dutiny, **je užitečné provést první výplach fyziologickým roztokem a zaslat tekutinu na vyšetření,** a teprve další provést např. borovou vodou s cílem desinfekce dutiny
- Výplach musí být ovšem proveden správně a měl by jej provádět otorhinolaryngolog

Vyšetřování a léčba infekcí přínosných dutin



- **Léčba** by měla být zahájena neprodleně, i bez vyšetření.
- **Lékem volby** je amoxicilin (např. AMOCLEN), alternativou může být doxycyklin (DOXYBENE), u dětí co-trimoxazol (např. BISEPTOL)
- Vyšetřovat **výtěr z nosu či krku je k ničemu**, léčit antibiotiky případného vypěstovaného „patogena“ je přímo chybou.

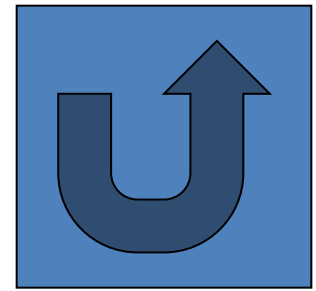
BONUS 2: Zánět středního ucha – otitis media



- **Častý u dětí** (krátká vodorovná Eustach. trubice)
- **Původci:** *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*
- **U chronických** se mohou uplatnit i některé gramnegativní tyčinky

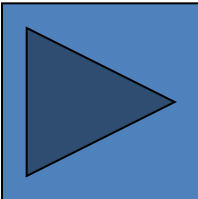
Nutno odlišit záněty boltce a zevního zvukovodu: tady je původcem hlavně Staphylococcus aureus (jako u jiných zánětů kůže), léčba lokálně např. framykoin kapky

Vyšetřování a léčba infekcí středního ucha

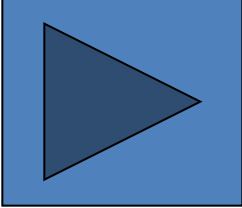


- **Léčba** má smysl, pokud jde o skutečně prokázaný zánět (bolest, zarudnutí, horečka) a nereaguje na protizánětlivou léčbu
- **Lékem volby** je amoxicilin (např. AMOCLEN), alternativou může být co-trimoxazol
- Vyšetřovat **výtěr ze zvukovodu** má smysl pouze po provedené paracentéze (propíchnutí bubínku)
- Jinak má samozřejmě smysl vyšetřit **hnisavou tekutinu**, která je při paracentéze odebrána

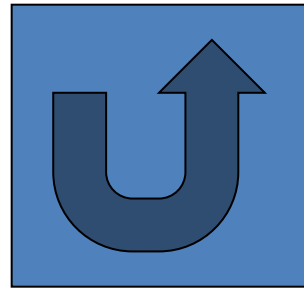
BONUS 3: Infekce hltanu a mandlí (pharyngitis, tonsilopharyngitis)

- Akutní záněty hltanu a mandlí:
většinou virové (rhinoviry, koronaviry, adenoviry, ale i při infekční mononukleóze)
- Z bakteriálních nejvýznamnější: akutní tonsilitida (povlaková angína) vyvolaná *Streptococcus pyogenes* (hemolytický streptokok skupiny A) 
- Další bakterie: arkanobakteria, další hemolytické streptokoky, pneumokoky aj.
- Vzácné, ale důležité: záškrt, kapavka

Vyšetřování a léčba infekcí faryngu

- Vždy by měl být proveden **výtěr z krku** (tonsil) pro ověření bakteriálního původu, popř. určení původce. 
- Alternativou je rychlý průkaz streptokoka, ovšem při negativním či sporném výsledku je stejně nutná klasická kultivace
- Případně se také hodí **vyšetření CRP** (zvýšený u bakteriálních infekcí)
- Negativní výsledek kultivace u sexuálně aktivní osoby při zvýšeném CRP – uvažovat též o **kapavce (klasický výtěr, ale vyznačit na průvodce)**

Léčba tonsilitid a tonsilofaryngitid



- **Léčba by měla být cílená.** U angín způsobených *Streptococcus pyogenes* (a těch je naprostá většina) je lékem volby **V-penicilin**.
- **Makrolidy** (RULID, KLACID, SUMAMED) by se měly používat **pouze u alergických pacientů**
- Pokud již saháme po počáteční empirické terapii, měli bychom opět volit **V-penicilin, nikoli ampicilin či amoxicilin, a to kvůli vážným komplikacím v případě infekční mononukleózy**