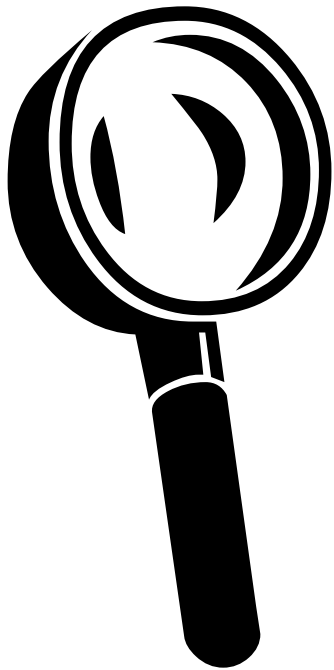


Mikrobiologický ústav uvádí



## NA STOPĚ PACHATELE

Díl šestý:

Další gramnegativní koky a tyčinky

# Přehled témat

Klinická charakteristika – G– koky

Klinická charakteristika – „jiné G– tyčinky“

Diagnostika G– koků

Diagnostika „jiných G– tyčinek“

Klinická  
charakteristika –  
G– koky

# Příběh první

- Honza byl maminčin mazlíček a s holkami to neuměl. Tak se stalo, že ještě ve dvaceti neměl žádnou sexuální zkušenost. Kamarádi z něj měli legraci. Jednou se na něj domluvili, opili ho a zaplatili mu „společnici“ na večer. Honza měl pocit, že je konečně mužem... jenže pak přišlo svědění a odkapávání hnisu z močové trubice.

# Určitě tušíte, kdo je viníkem

- Samozřejmě, je to *Neisseria gonorrhoeae*, (gonokok) původce kapavky.
- Kapavka se projevuje jako zánět uretry, u žen také cervixu; asymptomaticky či symptomaticky se gonokoky vyskytují i ve faryngu a v rektu.
- U žen naopak nejde o kolpitudu (zánět pochvy) a proto pochva není místem, odkud by bylo doporučeno odebírat u podezření na kapavku výtěry

# Příběh druhý

- Lucie se už čtyři týdny učila na zkoušku z fyziologie. **Vůbec nevycházela z domu** a jen seděla na zadnici. U zkoušky měla pocit, že ze sebe nic nevydoluje, ale nakonec si na cosi vzpomněla a prolezla s E-čkem
- Večer to s kamarádkami **šla oslavit na taneční party**. Bylo tam nakouřeno a tancovalo se do hluboké noci. Druhý den **Lucce nebylo dobře**, začala mít **teploty** a pak se objevila i **vyrážka**.

# (pokračování)



- Až tehdy se nechala odvézt do nemocnice na **infekční oddělení**. V sanitce upadla do bezvědomí a lékaři konstatovali **rozvrat metabolismu**. Po deseti hodinách marné snahy o zachování základních životních funkcí **Lucka zemřela**.
- Takový průběh může bohužel někdy mít infekce způsobovaná velmi zákeřným pachatelem. Některé jeho kmeny jsou přítomny v krku zcela zdravých osob...

# A tímto viníkem je...

- ... *Neisseria meningitidis* neboli **meningokok**
- Meningokok způsobuje meningitidy, ale i sepse a jiné závažné stavy; to vše se týká tzv. **klonálních kmenů**.
- Jiné kmeny jsou ale docela nevinné a udává se, že **asi deset procent populace má meningokoka v krku**
- Virulence souvisí zřejmě především s výbavou **proteinovými antigeny**. Naopak **polysacharidové antigeny** určují především to, zda kmen je preventabilní očkováním



# Proč někdy infekce nastane a jindy se nic nestane

- K invazivní infekci dojde pouze pokud je kmen vysoce virulentní (specifické klony mikroba) a hostitelský organismus je vnímavý
- Meningokok se přenáší **těsným kontaktem**. Invazivní infekci **napomáhá narušení sliznice, např. i kouřením či předchozí virovou infekcí.**
- Infekce propukne často tehdy, když je tělo oslabeno **neúměrnou fyzickou námahou po předchozí inaktivitě**

***Navzdory závažnosti je meningokoková infekce u nás poměrně vzácná, na rozdíl od některých jiných částí světa, jak je vidět na následujícím obrázku.***

# Meningokoková meningitida je celosvětově velmi závažnou nákazou

„Meningitis belt“, kde se hodně vyskytuje meningokoková meningitis



By Ninjatacoshell - Own work  
Africa.svg, CC BY-SA 3.0,  
<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Africa.svg>

# Léčba

- Klíčové je **zabezpečit přežití pacienta** (hlídat krvácení a acidobazickou rovnováhu)
- Zároveň se podávají antibiotika
- Lékem volby dle guidelinů je i dnes **klasický penicilin**, ale reálně by se použil spíše na mírnější infekce. U meningitid dnes převažují cefalosporiny třetí generace (**ceftriaxon** – dobrý průnik do likvoru) nebo další antibiotika (makrolidy, tetracykliny, chinolony)

# Prevence očkováním

- Vzhledem k nízké incidenci se v Evropě (navzdory vysoké smrtnosti) zpravidla neočkuje celá populace, ale jen rizikové skupiny (vojáci, lidé v kontaktu s rizikovými kmeny)
- Problémem je **seroskupina B**, jejíž antigenní determinanta je slabá. Dlouhou dobu nebyla k dispozici žádná univerzální vakcína proti této skupině (pouze proti jednotlivým typům). Nyní již univerzální vakcína existuje, ale její účinnost je nejistá (první data hovoří o účinnosti kolem 74 %).

# Vakcíny

- Mezi vakcínami jsou rozdíly. **Staré polysacharidové** vakcíny chrání hůře než **nové konjugované** vakcíny
- Jsou také rozdíly v **seroskupinách** (samotné C, A + C nebo tetra vakcína A + C + W135 + Y)
- B a C jsou zdaleka nejběžnější v Česku, ale například při hadždži do Mekky ( ) by se poutníci měli nechat očkovat proti W135

# Porovnejme neisserie:

	In vivo	In vitro
Gonokok	Nejchoulostivější, přenos jen sexuální	Nejchoulostivější, roste jen na čokoládovém agaru
Meningokok	Méně choulostivý, přenos na krátké vzdálenosti i kapénkami	Méně choulostivý, je-li krevní agar obohacen, může na něm růst
Tzv. „ústní“ neisserie	Nejméně choulostivé	Roste i na chudém krevním agaru

# Příběh třetí

- Anička **plakala a chytala se za ucho**. Maminka jí změřila teplotu, a ta byla zvýšená
- V ordinaci praktického lékaře pro děti a dorost byla vyšetřena a stanovena diagnóza **zánětu středního ucha**
- Jelikož **bubínek již byl prasklý**, hnis byl zaslán k vyšetření
- Okamžitě byl nasazen AMOCLEN (**amoxicilin**), následně byl vykultivován **citlivý patogen**

# A tím patogenem byla

- ***Moraxella* (podrod *Branhamella*) *catarrhalis***
- Tento organismus bývá přítomen u zdravých osob v malém množství ve faryngu
- V čisté kultuře způsobuje **sinusitidy, otitis media, faryngitidy** a podobně.
- Jméno podrodu (původně rodu) *Branhamella* je odvozeno od Sáry Branhamové, jedné z prvních žen-badatelek. Byla to jedna ze statečných žen, které ukázaly mužům, že nejen oni mohou být dobrými vědci



# *Moraxella (Branhamella)* *catarrhalis*

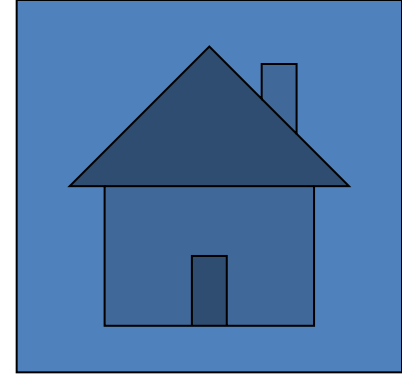


Photo Inst. for Microbiology



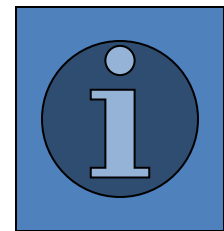
Klinická  
charakteristika –  
„jiné G- tyčinky“

# Příběh čtvrtý

- Toho dne bylo v nemocnici velké hemžení: další tři pacienti, všichni **senioři**, onemocněli, a u všech to bylo totéž – **problémy s dechem a horečka**
- Po důkladném vyšetření laboratoř našla patogena nejen ve vzorcích od pacientů, ale i ve **vodovodním vedení** nemocnice. Vodovod musel být předělán, a teprve pak se další infekce definitivně zastavily.

# Legionářská nemoc

- Tuto nemoc působí *Legionella pneumophila*
- Legionářská nemoc je těžší variantou nemoci; existuje ještě mírnější varianta, **Pontiacká horečka**.
- Bakterie má často rezervoár ve **vodovodech, klimatizaci, atd.**
- Při stavbě nových částí nemocnic (ale i domovů důchodců, hotelů, lázní...) se musí podniknout opatření na prevenci legionelózy, především při plánování vodovodní sítě (problémem jsou zejména slepé odbočky, které pak nelze propláchnout horkou vodou či desinfekcí)



# „Další gramnegativní bakterie“

- Není to žádná skupina, natož čeleď. Jsou to ale všechno poměrně vzácnější bakterie, zpravidla nerostoucí na Endově agaru, některé z nich rostoucí na agaru krevním, a způsobující různé nemoci.
- Vedle rodu *Legionella* zmiňme alespoň tři rody: *Bordetella*, *Brucella* a *Francisella*

# Rod *Bordetella*

- *B. pertussis* a *B. parapertussis* způsobují černý kašel
- *B. bronchiseptica* způsobuje různé patologické stavy u člověka i zvířat
- Černý kašel je velmi vzácný díky očkování
- **Pernasální výtěr** slouží k diagnostice (odběr z nosohltanu bez dotyku okolních sliznic)

# Rod *Brucella*

- Je to původce zoonóz
- ***Brucella abortus*** je kraví patogen. Často napadá hovězí placenty, způsobujíc zmetání (potraty) skotu. U lidí způsobuje **Bangovu nemoc** (horečka, orgánová postižení atd.)
- Dalšími brucelami jsou ***Brucella suis*** z prasat, ***Brucella melitensis*** z ovcí a koz a ***Brucella canis*** ze psů

# Rod *Francisella*

- Nejdůležitějším druhem je *F. tularensis*
- Způsobuje **tularémii** – „zaječí mor“
- **Myslivci**, ale ještě více **kuchaři připravující zvěřinu** jsou v riziku infekce
- Tento organismus může napadat **rány**, ale také je možné jej vdechnout, což vede k **zápalům plic**

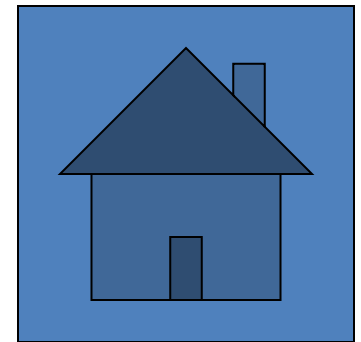


# Z hlášení KHS o epidemiologické situaci (září 2008) – I (zkráceno)

- **Tularémie – A21:** Žena nar. 1970 z Valtic, zahradnice 20. 6. návštěva OL pro T 38 °C, bolest v krku, zduření uzlin nad klíčkem vpravo. Provedena exstirpace uzliny v nadklíčku. První sérologické vyšetření na tularémii negativní, další 2. 7. potvrzena tularémie
- **Brucelóza – A23:** Muž nar. 1972, Brno. 10. 5. zažívací obtíže, febrilie, hepatopatie, dg. potvrzena sérologickým vyšetřením. *Brucella abortus* pozitivní, KFR 1:8. V anamnéze od 15.4.–25.4. zájezd do Indonésie – Borneo (Kalimantan) – zájezd do pralesa. Dodatečně vykazované onemocnění

# Z hlášení o epidemiologické situaci (září 2008) – II

- **Pertussis (A37.0):** Hlášena 4 onemocnění z BO 2x, HO 2x, ve věku 14 až 17 let, všichni očkováni a jeden nepřeočkován.
- **Parapertussis (A37.1):** Onemocnění ve 3 případech, BO 1x, HO 2x jako koinfekce.



Diagnostika

G- koků

# *Neisseria gonorrhoeae* – odběry

U podezření na kapavku je velmi důležité provést správně odběry. Navzdory veškeré péči je časté, že patogen nepřežije transport. Proto je doporučováno poslat také nátěr na sklíčko z cervixu a urethry (avšak ne z rekta a faryngu)

Takže „komplexní vyšetření na kapavku“ zahrnuje

- **výtěr z urethry** na Amiesovu půdu + **nátěr**
- **výtěr z cervixu** na Amiesovu půdu + **nátěr ( † )**
- **výtěr z rekta** na Amiesovu půdu (bez nátěru)
- **výtěr z faryngu** na Amiesovu půdu (bez nátěru)

# Odběry a akutní diagnostika u purulentní meningitidy

U podezření na purulentní meningitidu se zpravidla odebírá **mozkomíšní mok**, případně také krev na hemokultivaci. Mozkomíšní mok lze vyšetřit biochemicky, cytologicky a mikrobiologicky.

Už odebírající lékař si ale může povšimnout, že **likvor je zkalený a vytéká pod tlakem**

V laboratoři připadají v úvahu dvě **rychlé metody**:

- mikroskopie
- přímý průkaz antigenu

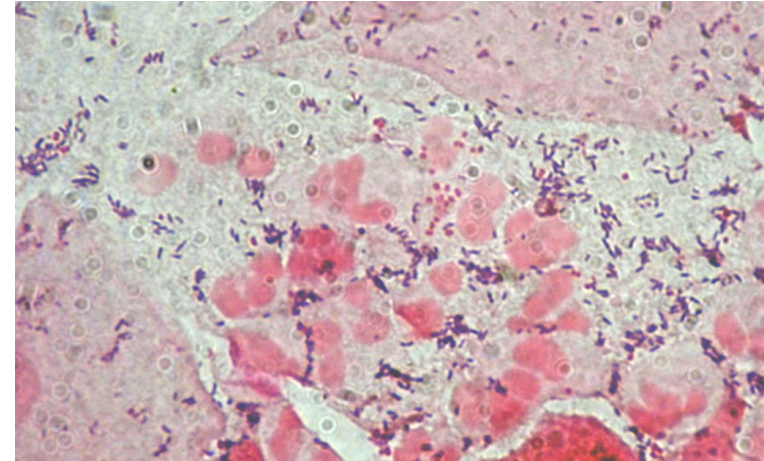
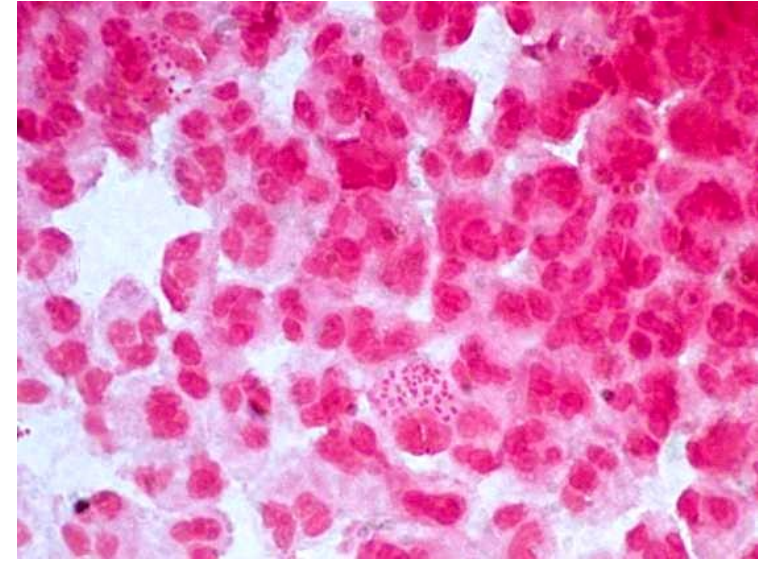
*Bez ohledu na diagnostiku a její výsledky je ovšem nejdůležitější co nejrychlejší zahájení léčby pacienta!*

# Neisserie a moraxely – charakteristika 1

- **Mikroskopie:** G – diplokoky tvaru kávového zrna, často intrecelulárně lokalizované (vizte další snímek)
- *Některé neisserie a moraxelly mohou být protáhlé a může jít o kokobacily až tyčinky (např. Neisseria elongata)*

# Prohlédnutí nátěrů kapavky

- Gonokoky (ale i meningokoky) jsou gramnegativní diplokoky tvaru kávového zrna, často uložené intracelulárně. Intracelulární uložení je jejich typickou vlastností.



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

leukocyt s gonokoky



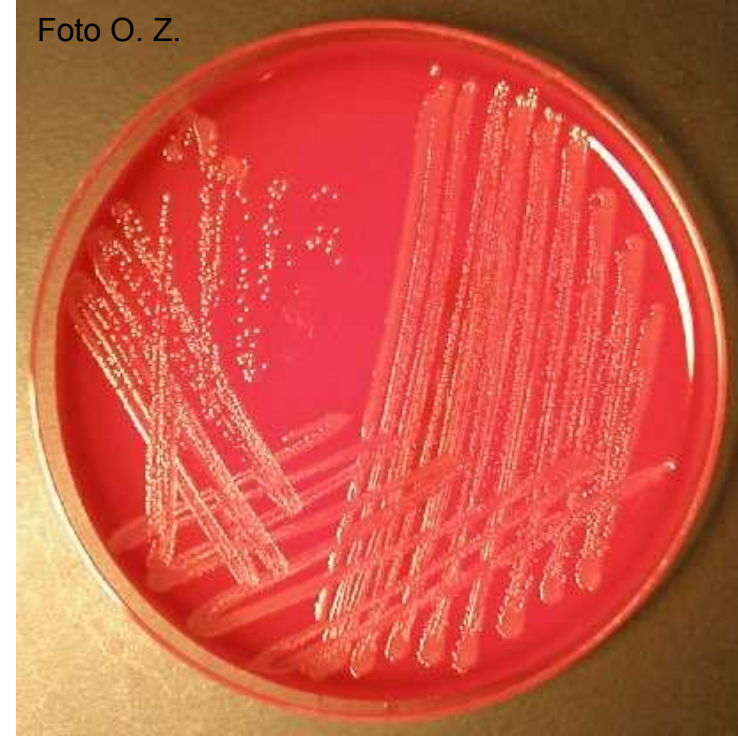


# Neisserie a moraxely – charakteristika 2

- **Kultivace:** drobné, bezbarvé nebo nažloutlé (podle druhu) kolonie, rostoucí (podle druhu) na krevním či čokoládovém agaru
- Krevní agar či čokoládový agar je nezbytný i pro **difusní diskový test**

# Kultivace

Foto O. Z.



## Růst na různých půdách rozliší

- **Gonokoky (GO)**, které rostou jen na čokoládovém agaru)
- **Meningokoky (ME)**, které rostou na bohatších krevních, ale samozřejmě i na čokoládových agarech
- **ústní neisserie a *M. catarrhalis* (Ú+M)**, které rostou na chudém i bohatém krevním agaru i na čokoládovém agaru

	KA	KA+	ČA
GO	NE	NE	ANO
ME	NE	ANO	ANO
Ú+M	ANO	ANO	ANO

# Gonokok testování atb citlivosti



# Neisserie a moraxely – charakteristika 3

- **Biochemie:** kataláza pozitivní, oxidáza pozitivní; *Moraxella catarrhalis* pozitivní ve specifickém testu, zvaném INAC (indoxylacetátový test)
- **Antigenní analýza:** zpravidla prováděná jako latexová aglutinace, velmi důležitá u meningokoků k určení seroskupiny (kvůli očkování)

# Základní biochemické testy

- Rychlé testy s diagnostickými proužky velmi usnadňují diagnostiku
- Neisserie jsou oxidáza pozitivní, moraxely také, ale mohou mít opožděnou reakci.
- Moraxely se poznají podle pozitivního INAC testu
- U INAC testu se postupuje jako u oxidázy, ale proužek je nutno zvlhčit a je nutno pět minut počkat. Zbarvení je modrozelené.

# Druhové určení neisserií

- K druhovému určení neisserií se používají biochemické testy různé provenience, u nás zpravidla NEISSERIAtest, v jiných zemích jiné testy (jako ten dole nebo na další obrazovce)
- Poměrně málo biochemicky aktivní jsou obě patogenní neisserie: **g**onokok štěpí jen **g**lukózu, **m**eningokok jen glukózu a **m**altózu.

# Neisserie a moraxely – diferenciální diagnostika 1

- **Gramovo barvení:** G – (diplo)koky
- **Oxidáza** rozlišuje některé jiné G– koky (např. acinetobaktery ze skupiny G– nefermentujících bakterií jsou také kokoidní)
- **Růst na různých půdách** rozliší
  - **gonokoky** (rostou jen na čokoládovém agaru),
  - **meningokoky** (rostou na bohatších krevních, ale samozřejmě i na čokoládových agarech)
  - **ústní neisserie** (rostou na chudém i bohatém krevním agaru i na čokoládovém agaru)
  - ***M. catarrhalis*** (růst jako u ústních neisserií)



# Neisserie a moraxely – diferenciální diagnostika 2

- **INAC test** (proužkový test podobný oxidázovému) – pozitivní u *Moraxella catarrhalis*
- **Komplexní biochemický test** (NEISSERIAtest) se používá hlavně k vzájemnému rozlišení ústních neisserií
- **Antigenní analýza** (určení seroskupiny meningokoků u invazivních infekcí)



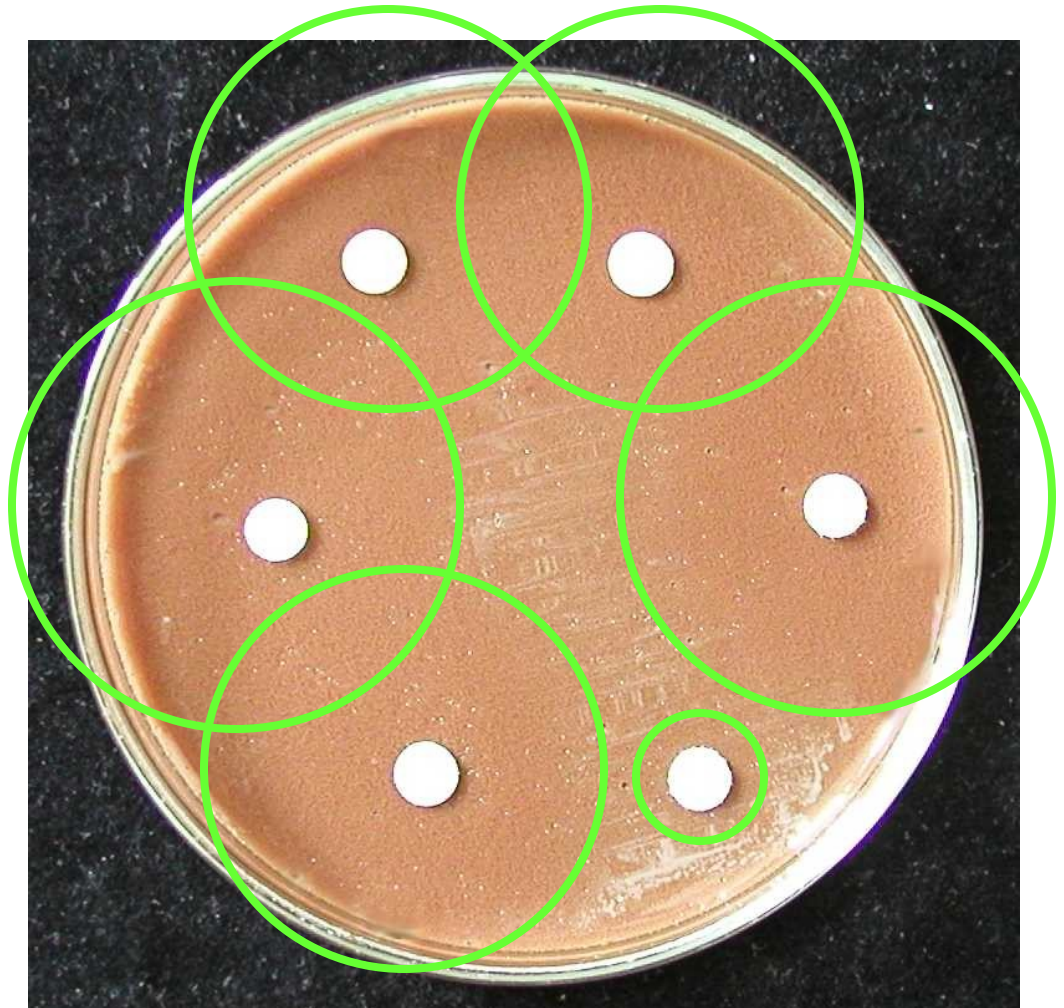
# Testování antibiotické citlivosti u neisserií a podobných bakterií

- Antibiotická citlivost se u patogenních neisserií určuje na půdách, na kterých jsou schopny růst, tj. nikoli na MH agaru
- Lékem volby u meningokoka je stále klasický penicilin. Ten se osvědčuje i u gonokoka. Nicméně rezistence nejsou vyloučeny! Další možností jsou makrolidy, chinolony či ceftriaxon.

# U neisserií jsou často zóny citlivosti velké a splývající

Jsou-li zóny tak velké, že se nedá změřit průměr, pokusíme se změřit alespoň poloměr a vynásobíme dvěma.

*Zeleně jsou vyznačeny hypotetické okraje zón – všimněte si, že z naprosté většiny buď splývají, nebo jsou mimo misku*



# Sada antibiotik proti *Neisseria meningitidis*

Antibiotikum	Zkratka	Referenční zóna / MIC*
Penicilin (penicilin) – E-test	P	$C \leq 0,06$ $R > 0,25$
Cefotaxim (cefalosporin 3G)	CTX	$C \geq 34$ $R < 34$
Meropenem (karbapenem)	MEM	$C \geq 30$ $R < 30$
Azithromycin (azalid)	AZM	$C \geq 20$ $R < 20$
Ciprofloxacin (fluorochinolon)	CIP	$C \geq 35$ $R < 33$

\*U difusních diskových testů zóna v mm, u e-testů breakpoint v mg/l

# Sada antibiotik proti *Neisseria gonorrhoeae*

Antibiotikum	Zkratka	Referenční zóna /MIC*
Penicilin (penicilin) – E-test	P	$C \leq 0,06$ $R > 1$
Cefuroxim (cefalosporin 2G)	CXM	$C \geq 31$ $R < 26$
Cefotaxim (CS 3G) – E-test	CTX	$C \leq 0,12$ $R > 0,12$
Azithromycin (azalid)	AZM	$C \geq 25$ $R < 25$
Tetracyklin (tetracyklin)	TE	$C \geq 38$ $R < 30$
Ciprofloxacin (fluorochinolon)	CIP	$C \geq 41$ $R < 28$

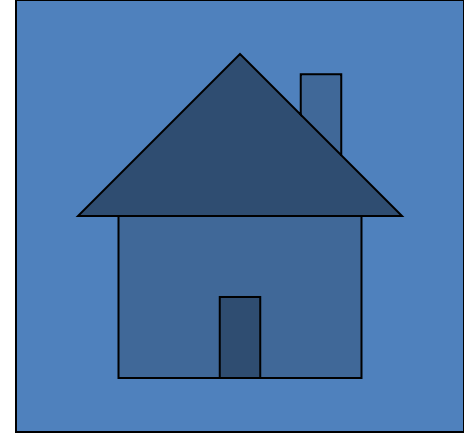
\*U difusních diskových testů zóna v mm, u e-testů breakpoint v mg/l

# Průkaz antigenu / Antigenní analýza

- Soupravu na aglutinaci mozkomíšního moku se používá pro zachycení několika nejběžnějších původců meningitid. U meningokoků odhalí i jednotlivé seroskupiny. Dá se tedy použít i k antigenní analýze již vypěstovaného kmene.



# Antigeny detekované při průkazu antigenu v likvoru



- *Neisseria meningitidis* A
  - *Neisseria meningitidis* B
  - *Neisseria meningitidis* C
  - *N. meningitidis* Y/W135
- teenageři, batolata**
- *Haemophilus influenzae* b **batolata (dříve)**
  - *Streptococcus pneumoniae* **senioři**
  - *Streptococcus agalactiae* **novorozenci**
  - **Zeleně vždy uvedena věková skupina, u které je daná infekce nejtypičtější**

# Diagnostika „jiných G- tyčinek“

# „Další G- bakterie“ – charakteristika

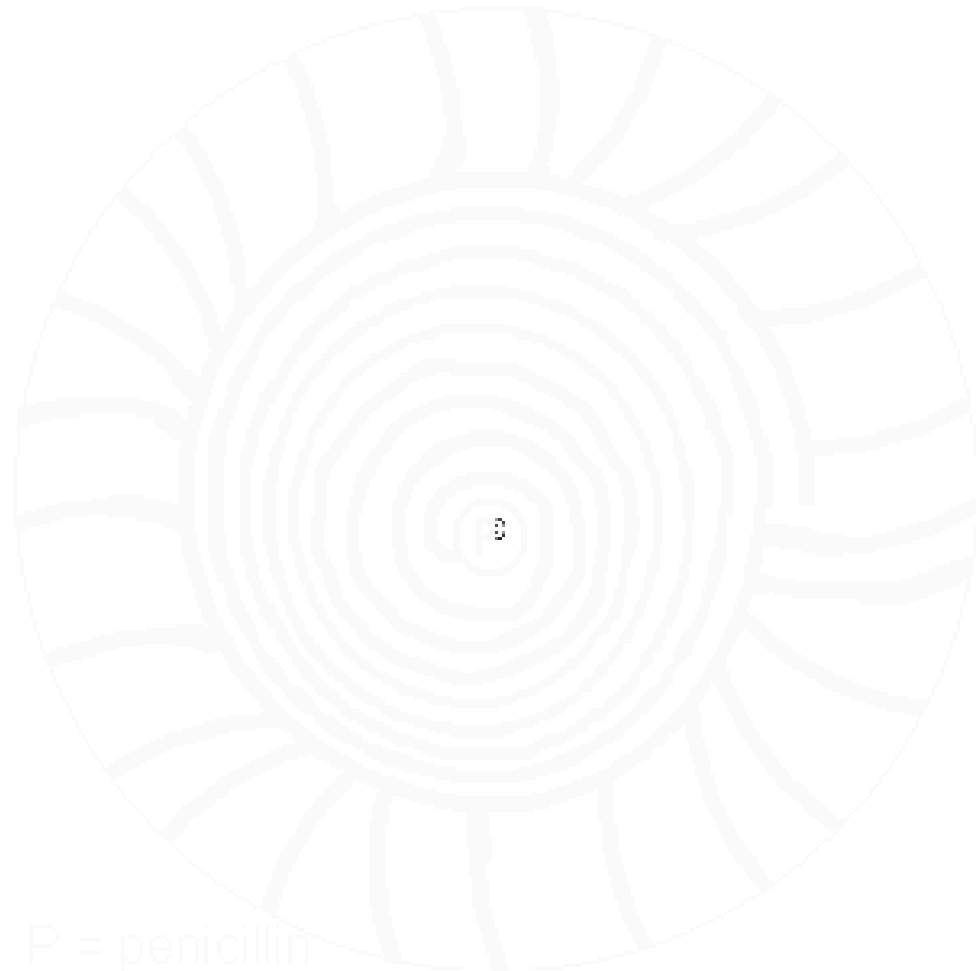
- **Mikroskopie:** G – tyčinky, často krátké
- **Kultivace:** zpravidla speciální půdy (BG pro bordetely, BCYE pro legionely atd.)
- **Biochemická identifikace:** některé znaky mohou být využity
- **Antigenní analýza:** někdy užitečná
- **Nepřímé metody** se využívají, nejspíš u tularémie
- **Diferenciální diagnostika** tu neprobíhá algoritmicky. Zpravidla jsou vzorky zasílány na vyšetření přímo s podezřením na legionelózu, dávivý kašel, Bangovu chorobu apod.



# *Bordetella*: Očkování na Bordet-Gengou (BG) agar

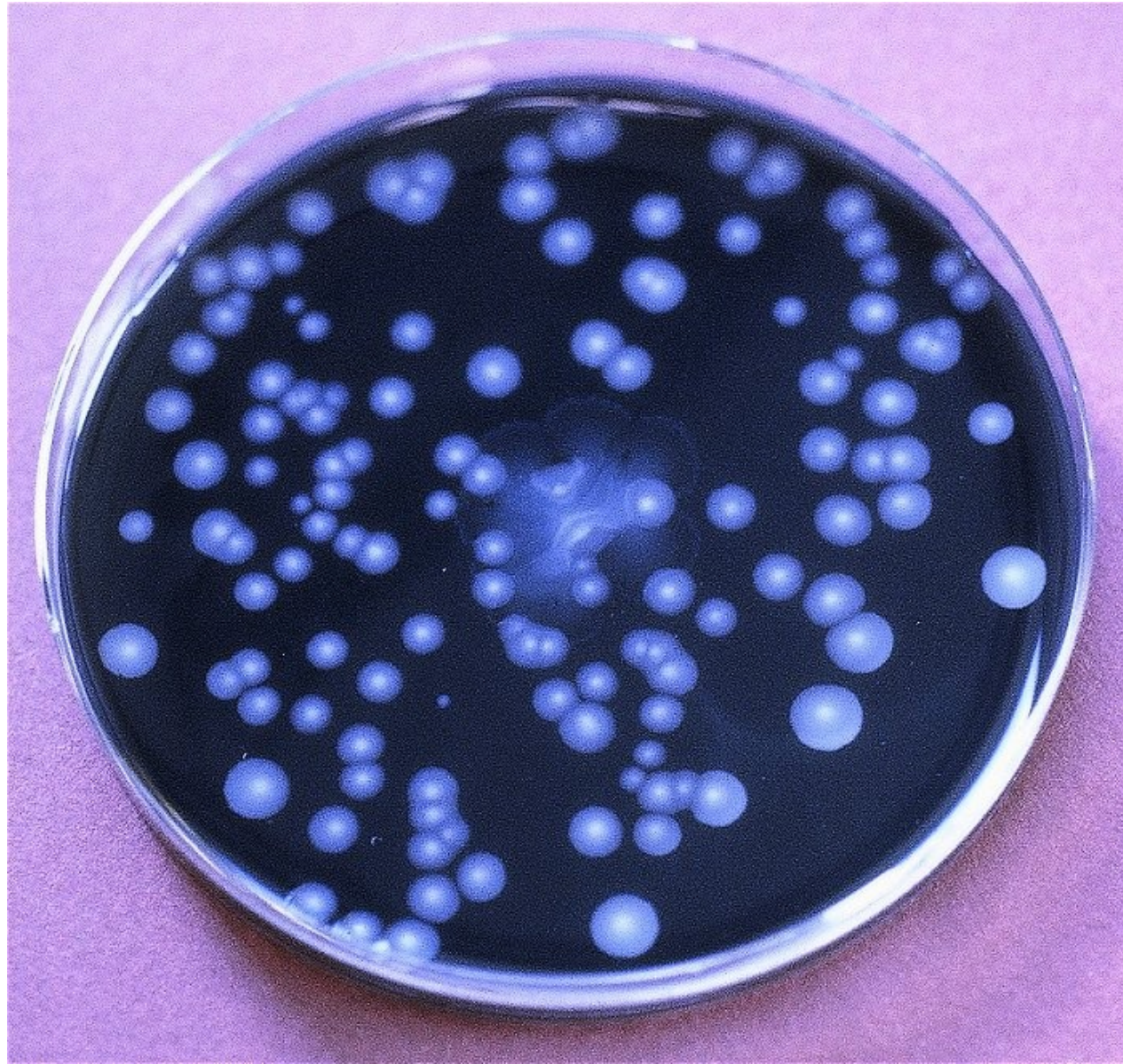
Tento zvláštní způsob se používá proto, že zkušenost ukázala, že zvyšuje záchyt bordetel.

- 1) Naočkování středového pole do kapky penicilinu
- 2) Spirála směrem k.okraji
- 3) Radiální paprsky



# BCYE agar pro legionely

**B**uffered  
**C**harcoal  
**Y**east  
**E**xtract



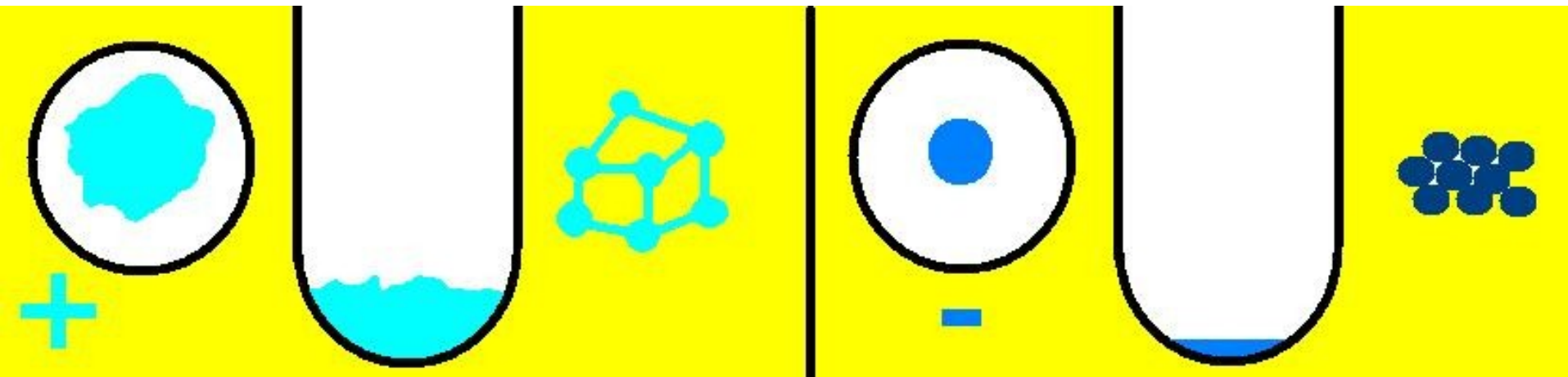
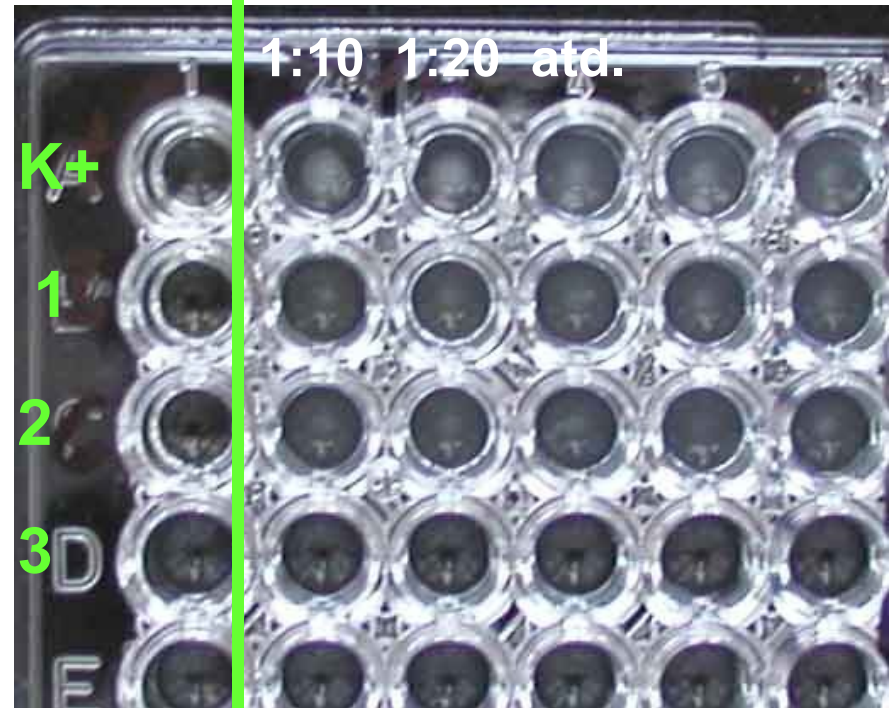


# Diagnostika rodu *Francisella*: Odečítání titru

- Spočítá se titr, tedy nejvyšší ředění s pozitivní reakcí

Jakýkoli titr (tj. všechny případy, kde je *nějaký* titr) považujte za pozitivní!

Mikrobiologický ústav



# Diagnostika brucelózy

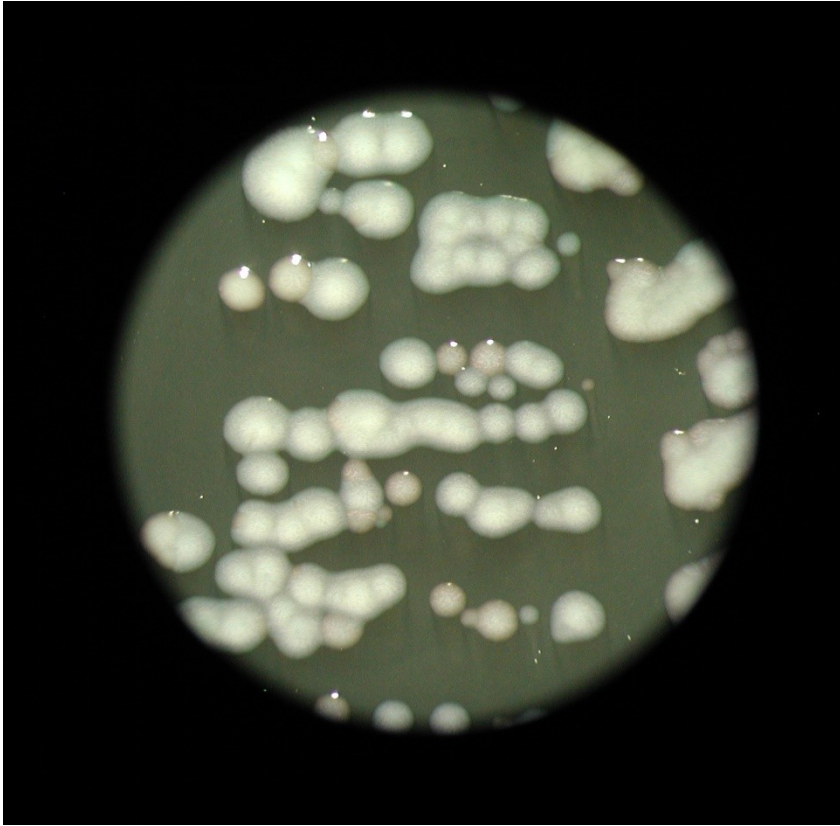
- Používají se serologické reakce, například ELISA, ale provádí se to pouze ve specializovaných laboratořích

Sir David Bruce  
(1855-1931)

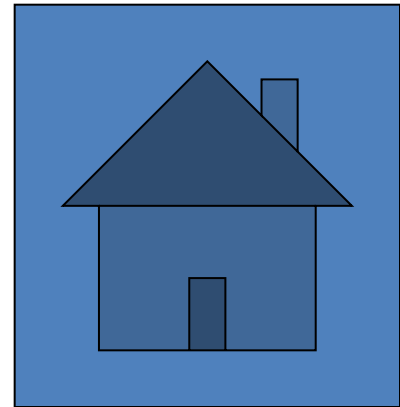


By see above - Dietmar Steverding. The history of African trypanosomiasis. Parasites & Vectors 2008, 1:3doi:10.1186/1756-3305-1-3, CC BY 2.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=4306063>

# Konec

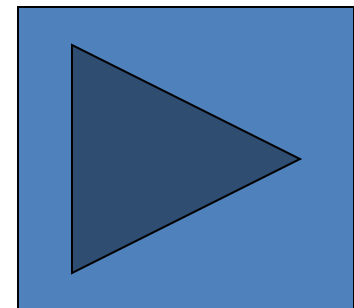


Legionella pneumophila – foto RNDr. V. Drašar



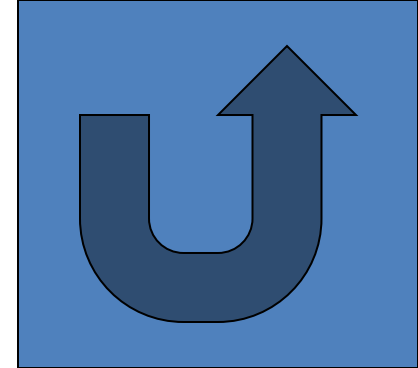
# Stavebně technická opatření v prevenci nozokomiálních nákaz

- zabezpečení **stavební dispozice** zdravotnického zařízení (dost prostoru pro personál, jeho hygienu, pro oddělené skladování apod.)
- zabezpečení **teplé i studené vody**
- zabezpečení **odpadních vod i pevných odpadů**
- zabezpečení **topení či klimatizace** apod.



*Osvícené nemocnice již při volbě architekta dbají na to, aby architekt měl základní povědomí o požadavcích na zdravotnické stavby.*

# Zvlášť pro legionelózy



- Infekcí, která je obzvlášť spjatá se stavem budovy, ve které se vyskytla, je **legionelóza**.
- V řadě případů je výskyt legionelózy důsledkem **špatného projektu vodovodní sítě, klimatizace a podobně**
- V případě vodovodů jsou nebezpečná zejména **slepá ramena**, která nelze propláchnout a mohou se v nich hromadit legionely
- Náprava je v tomto případě možná jen formou **předělání instalací**.