

Mikrobiologický ústav uvádí

# NA STOPĚ PACHATELE



Díl šestý:

Další gramnegativní koky a  
tyčinky

# Opět začneme testíkem...

- Které jsou klinicky významné G+ koky?

Stafylokoky, streptokoky, enterokoky

- A které klinicky významné G+ tyčinky?

Např. listerie, koryneformní tyčinky, bacily

- Které bakterie rostou na Endově půdě?

Enterobakterie, *Vibrionaceae* a nefermentující

- Které gramnegativní na Endu nerostou?

Z těch, které byly v praxi, jsou to

kampylobaktery, helikobaktery a hemofily

# Testík pokračuje...

- Které půdy se používají na enterobakterie?

Např. Endova, XLD, MAL, CIN a další

- Jak poznáte nefermentující od enterobakterií?

Nefermentující nefermentují glukózu, např.

Hajnova půda zůstává celá červená

- Jak rozlišíte EPEC od jiných kmenů *E. coli*?

Antigenní analýzou – sklíčkovou aglutinací

- Uved'te několik bakterií, které nerostou na MH

Např. streptokoky a hemofily

# A testík ještě pokračuje...

- Co je charakteristické pro pseudomonády?

Typická vůně, pigment (zelený, vzácněji jiný),  
pozitivní oxidázová reakce

- Kdy mohou růst hemofily na krevním agaru?

Když rostou kolem stafylokoka jako satelit

- Které růstové faktory vyžaduje *H. influenzae*?

Vyžaduje jak faktor X, tak i faktor V.

- Proč ubylo hemofilových invazivních infekcí?

Protože děti jsou nyní proti „Hib“ očkovány

# Úvod: Medická sprostonárodní

Na patologické anatomii  
hrabou se medičky ve **shnilém pyji**  
Nevěří svému oku  
co je tam **gonokoků**  
Co mi to vytéká z močové roury?  
Chytil jsem **kapavku** od nějaké coury  
**Hnis mi tam odkapuje**  
Trenýrky zaplavuje

*(Zpívá se jako Tálinskej rybník)*



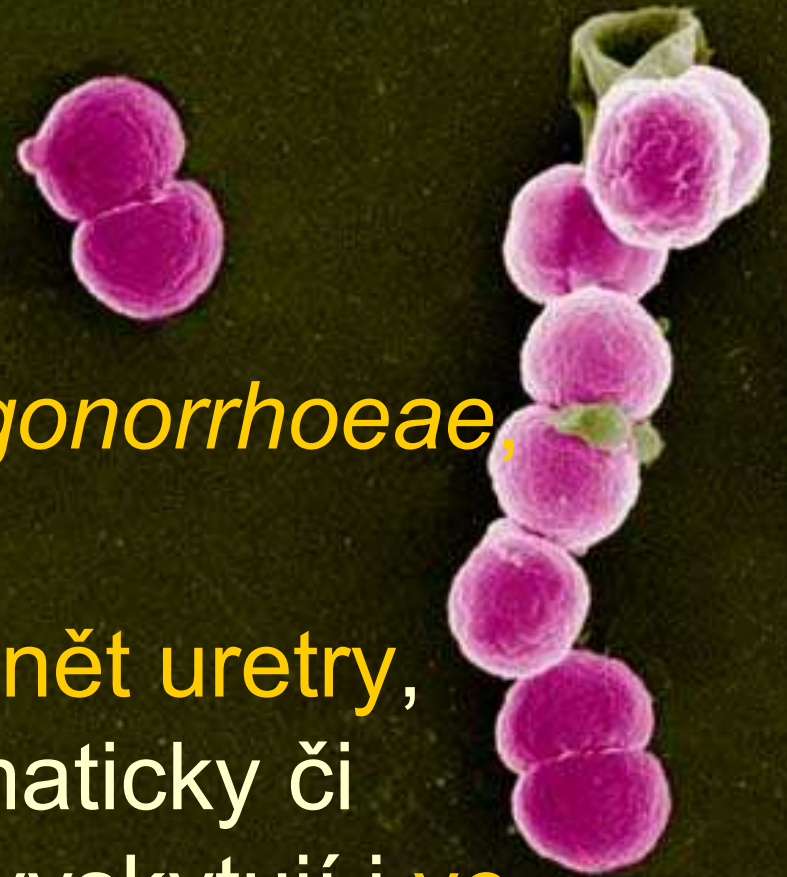
# Příběh první



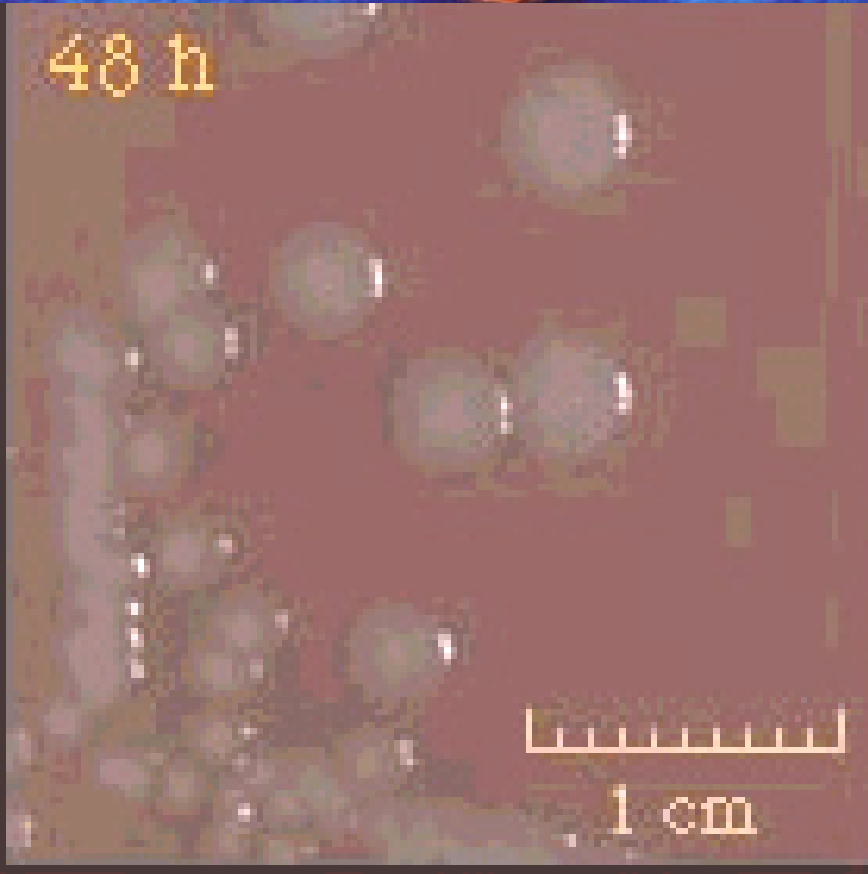
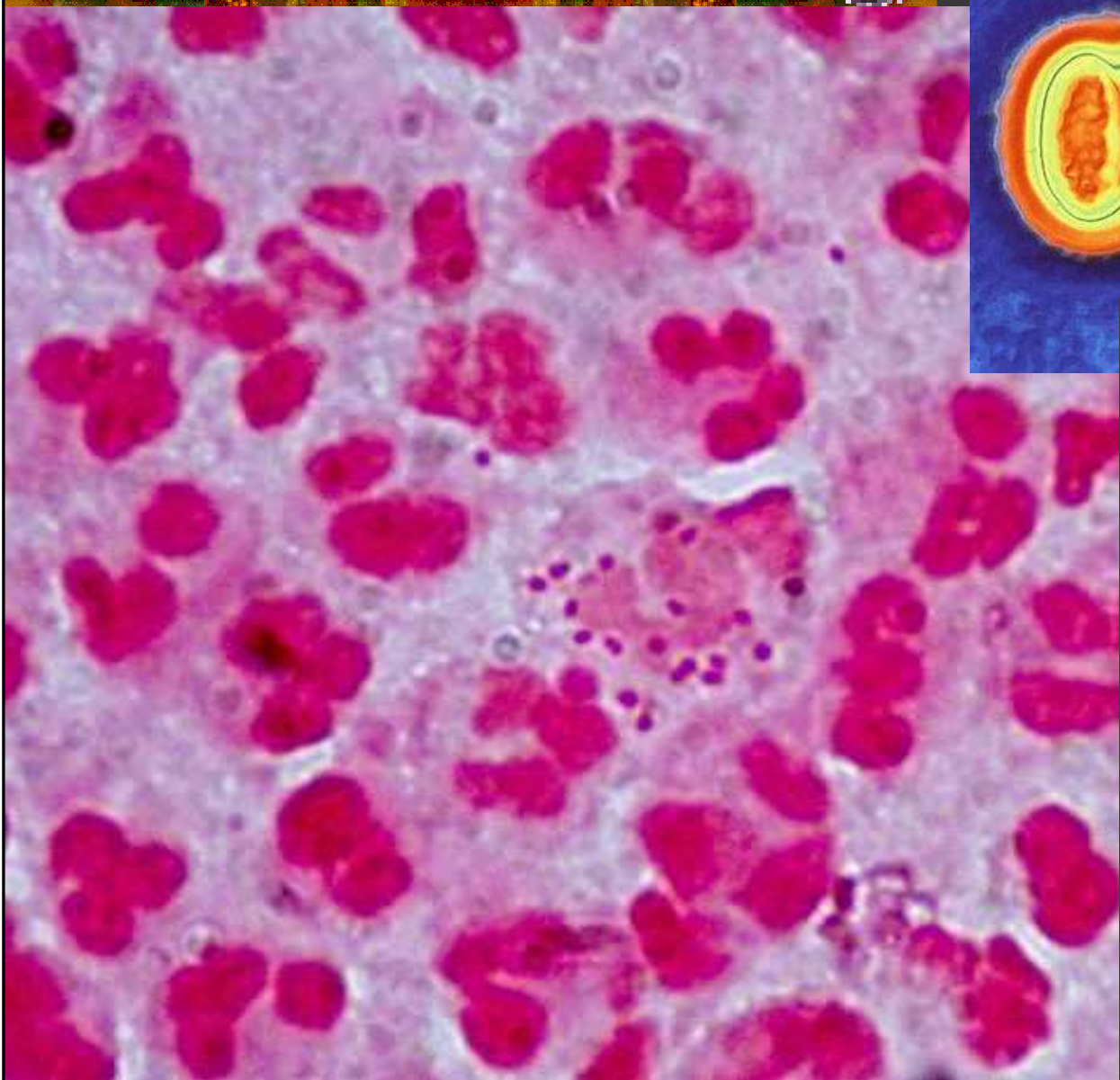
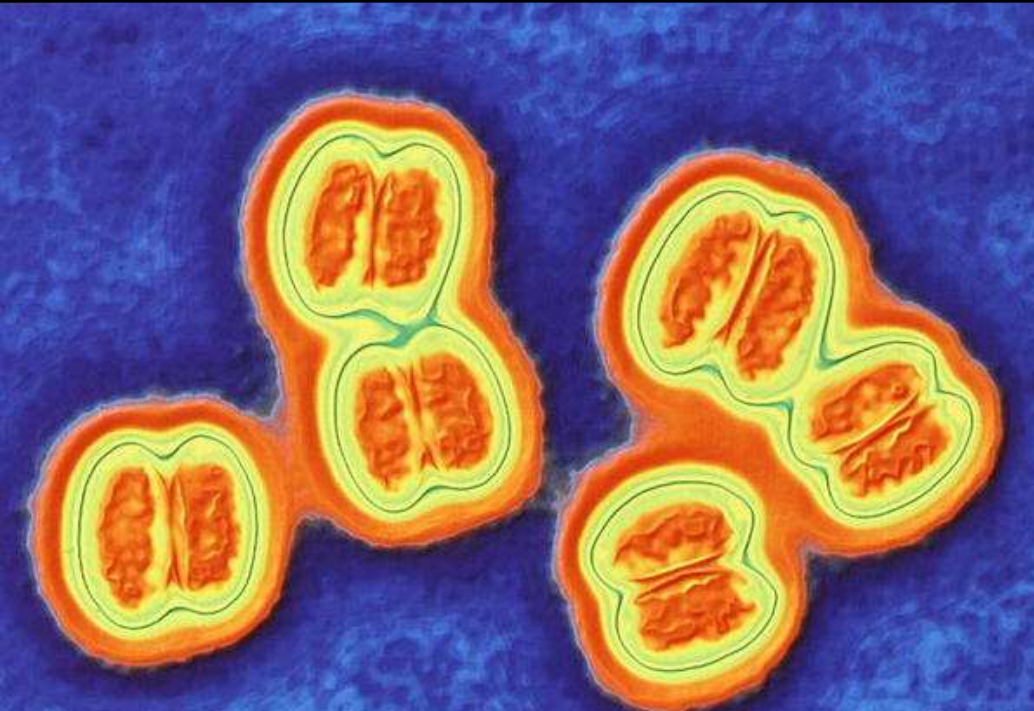
- **Honza** byl maminčin mazlíček a s holkami to neuměl. Tak se stalo, že ještě ve dvaceti **neměl žádnou sexuální zkušenost**. Kamarádi z něj měli legraci. Jednou se na něj domluvili, opili ho a zaplatili mu „společníci“ na večer. Honza **měl pocit, že je konečně mužem...** do doby, než začal mít pocit, že je netěsnícím vodovodním **kohoutkem, z kterého neustále něco odkapává (totiž hnis...)**

# 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



# Gonokoky





Honzova partnerka  
z oné noci...



**JEDEN Z NICH NAKAZIL  
ŠÉFA KAPAVKOU**



**VÍŠ, S KÝM V PRÁCI SPIŠ?**

# 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 trojkou
- 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)

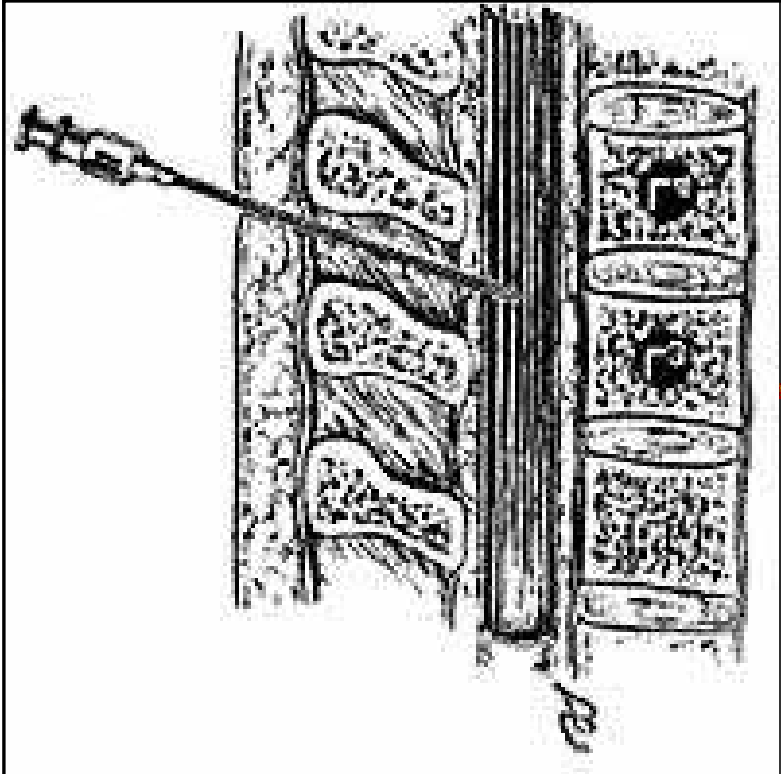


- Až tehdy se nechala odvézt do nemocnice na **infekční oddělení**. V sanitce upadla do bezvědomí a lékaři konstatovali **rozvrat metabolismu**. Po deseti hodinách marné snahy o zachování základních životních funkcí **Lucka zemřela**.
- Takový průběh může bohužel někdy mít infekce způsobovaná velmi zákeřným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

# A tímto viníkem je...

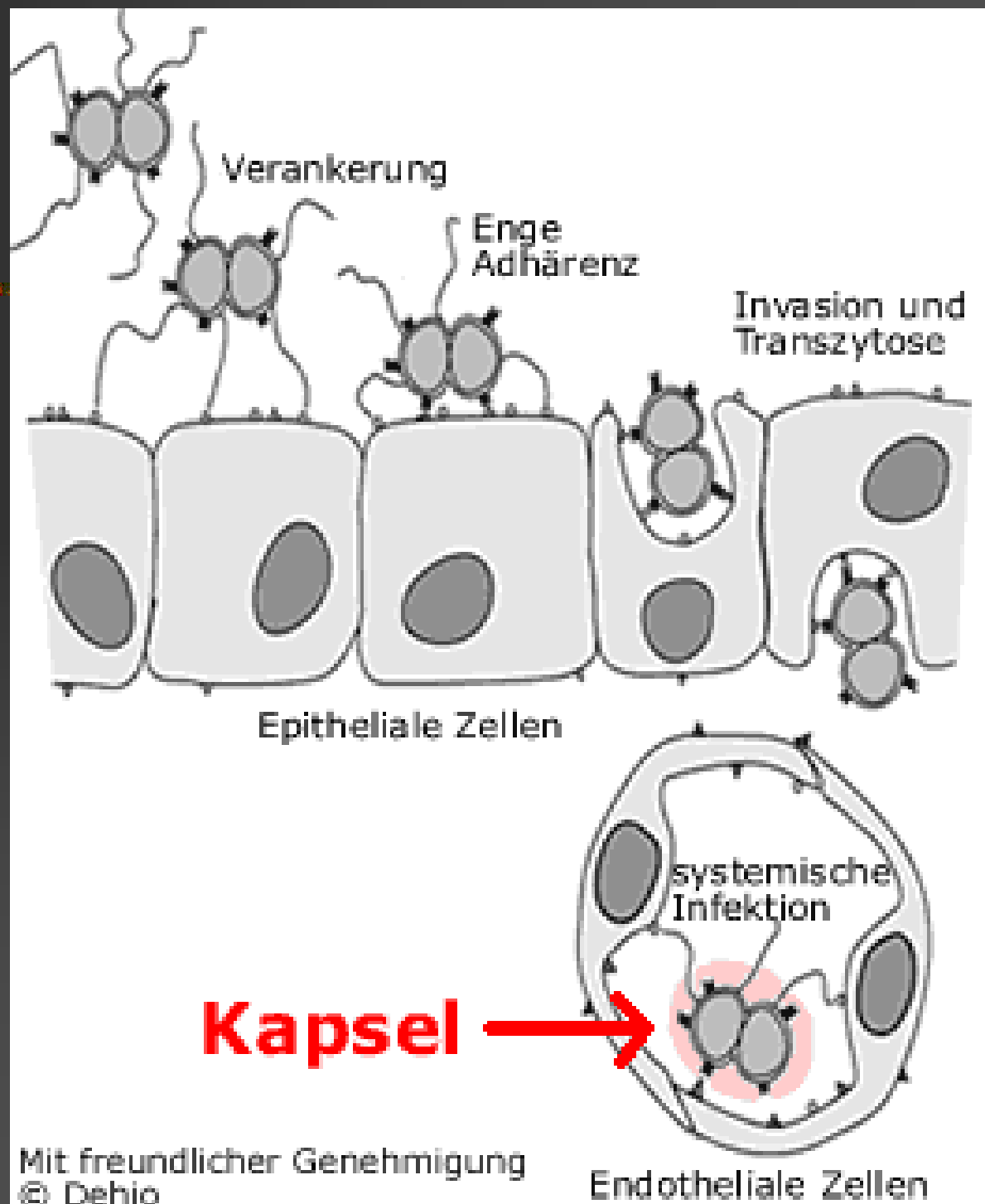
- ... *Neisseria meningitidis* neboli meningokok
- Meningokok způsobuje meningitidy, ale i sepse a jiné závažné stavy; to vše se týká tzv. **klonálních kmenů**. Jiné kmeny jsou ale docela nevinné a udává se, že asi deset procent populace má meningokoka v krku
- Meningokok se přenáší **těsným kontaktem**. 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**



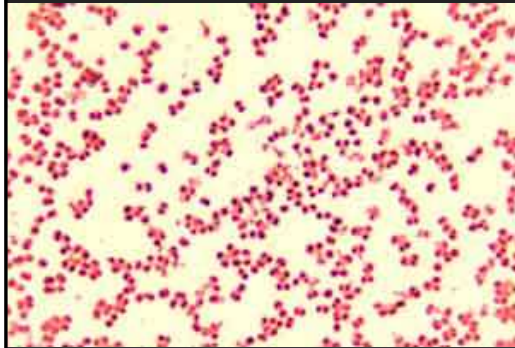


Odběr likvoru

Takto pronikají  
do tkání



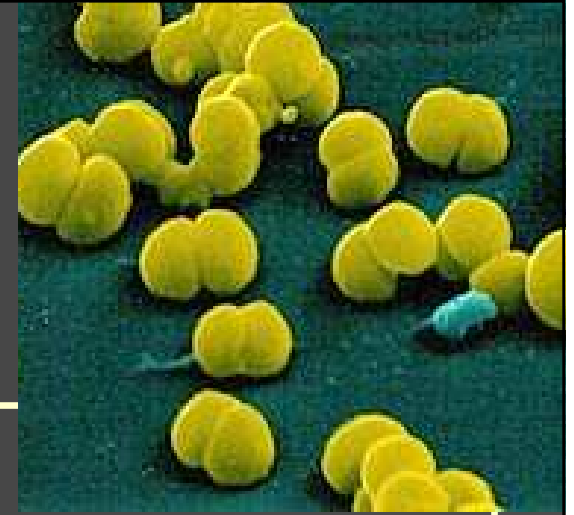
# Meningokoková meningitida je celosvětově velmi závažnou nákazou



„Meningitis belt“,  
kde se hodně  
vyskytuje  
meningokoková  
meningitis

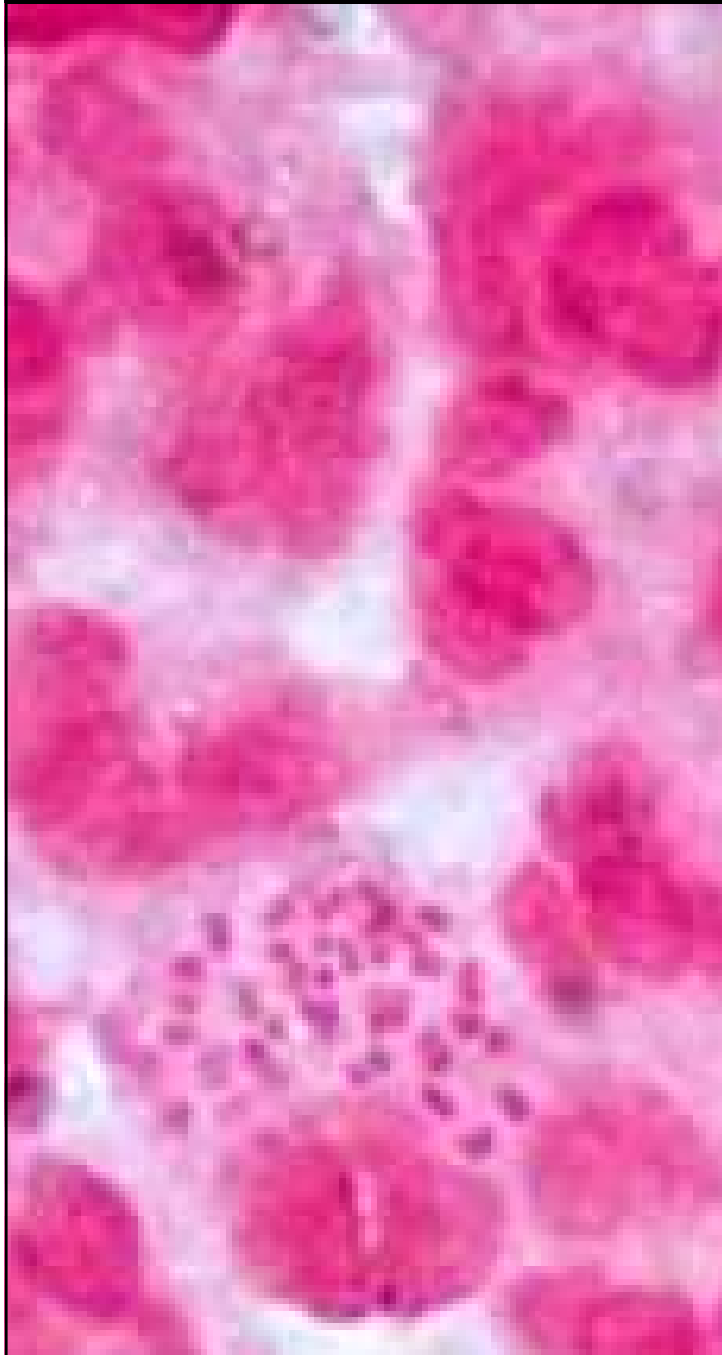


# Porovnejme neisserie:



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

# Fotografie z databáze zločinců





# Ještě jeden zločinec: *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*

Moraxely (dříve branhamely) se vyskytují v malém množství v krku i u zdravých osob. V čisté kultuře se však považují za původce různých infekcí dýchacích cest



# Neisserie – charakteristika

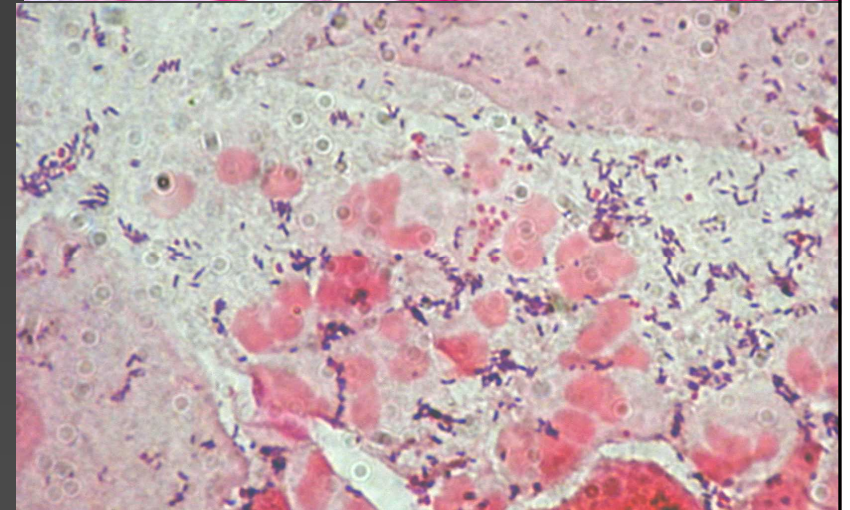
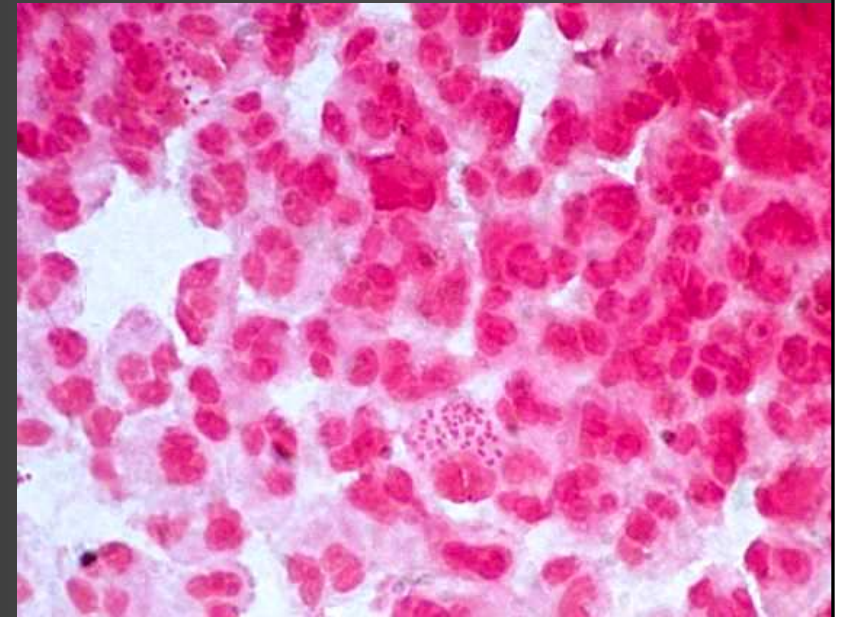
- **Mikroskopie:** G – diplokoky tvaru kávového zrna, často intrecelulárně lokalizované
- **Kultivace:** drobné, bezbarvé nebo nažloutlé (podle druhu) kolonie, rostoucí (podle druhu) na krevním či čokoládovém agaru
- **Biochemie:** kataláza pozitivní, oxidáza pozitivní, vzájemně biochemicky rozlišitelné
- **Antigenní analýza:** velký význam u meningokoka, seroskupina B není preventabilní očkováním!

# Úkol 1a: Defilé podezřelých (barvení kultur podle Grama)

- Obarvěte podle Grama podezřelé kmeny (pro zopakování: natřít, nechat uschnout, fixovat plamenem, poté barvit: Gram 30 s, Lugol 30 s, alkohol 15 s, voda, safranin 60 s, voda, osušit, imerzní obj.)
- Rozlišíte bakterie podle tvaru a typu buněčné stěny. Pro vzájemné G- koků musíte pokračovat dál.

# Úkol 1b: Prohlédnutí nátěrů kapavky

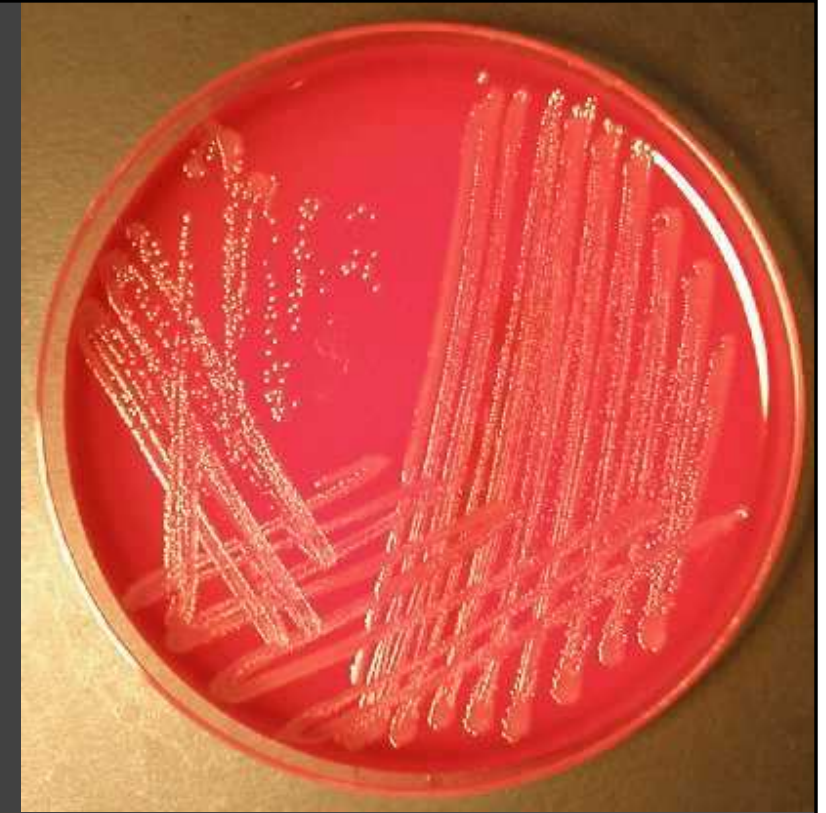
- Všimněte si gramnegativních diplokoků tvaru kávového zrna, zejména intracelulárních. Intracelulární uložení je jejich typickou vlastností.



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

# Úkol 2 Otisky prstů (kultivace)

- Popište kolonie gramnegativních koků na různých půdách, a hlavně si všimněte, jestli tam vůbec rostou.





# Úkoly 3: 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.

# Úkol 4 – druhové určení neisserií

- K druhovému určení neisserií se používají biochemické testy různé provenience, u nás zpravidla NEISSERIAtest
- Poměrně málo biochemicky aktivní jsou obě patogenní neisserie: **g**onokok štěpí jen **g**lukózu, **m**eningokok jen glukózu a **m**altózu.

<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Glucose and Maltose are oxidized to acids.	Only Glucose is oxidized to acid.
 <p>N. meningitidis</p> <p>C G M L S DNase β-Lac</p>	 <p>N. gonorrhoeae</p> <p>C G M L S DNase β-Lac</p>
Yol! Glucose and <b>M</b> altose for <b>MC</b> .	<b>G</b> lucose only for <b>GC</b> .



## NEISSERIA 4H

CONT. NEG.	GLU +	MAL +	FRU -	SAC -	ONPG -	TRI -	PS 24h
GGT +	NO <sub>3</sub> -	NO <sub>2</sub> (1)	NO <sub>2</sub> +/23	1395			



# Úkol 5 – testy antibiotické citlivosti

- 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 osvědčují i u gonokoka. Další možností jsou **makrolidy, chinolony či cefriaxon**.

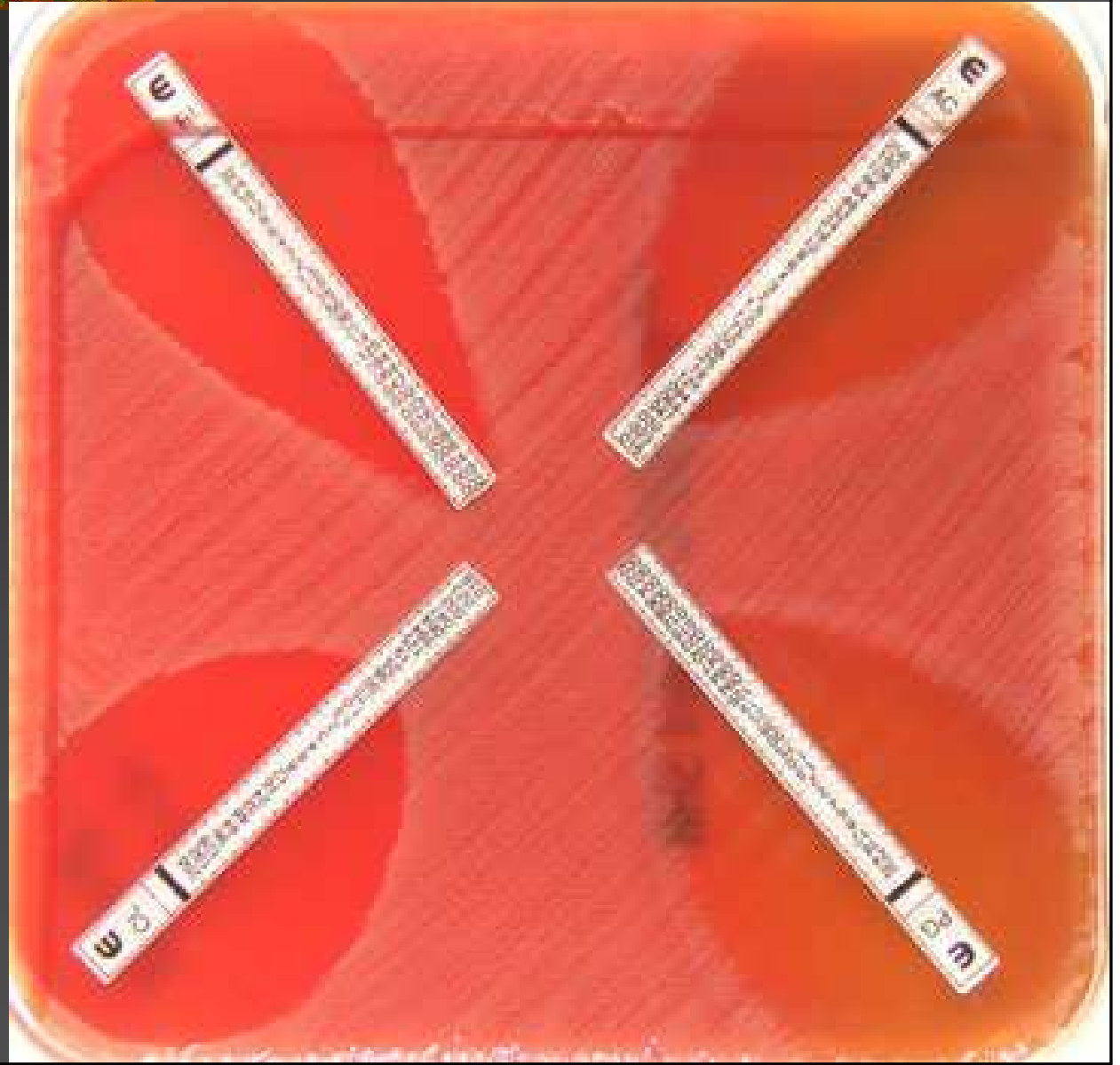
# Tabulka zón citlivosti – MEN

Antibiotikum	Zkratka	Referenč. zóna
Penicilin (základ. penicilin)	AMP	28 mm
Chloramfenikol	C	18 mm
Azithromycin (makrolid)	AZM	12 mm
Doxycyklin (tetracyklin)	DO	19 mm
Ampicilin (aminopenicilin)	AMP	29 mm
Ko-trimoxazol (směs)	SXT	16 mm

# Tabulka zón citlivosti – BRA

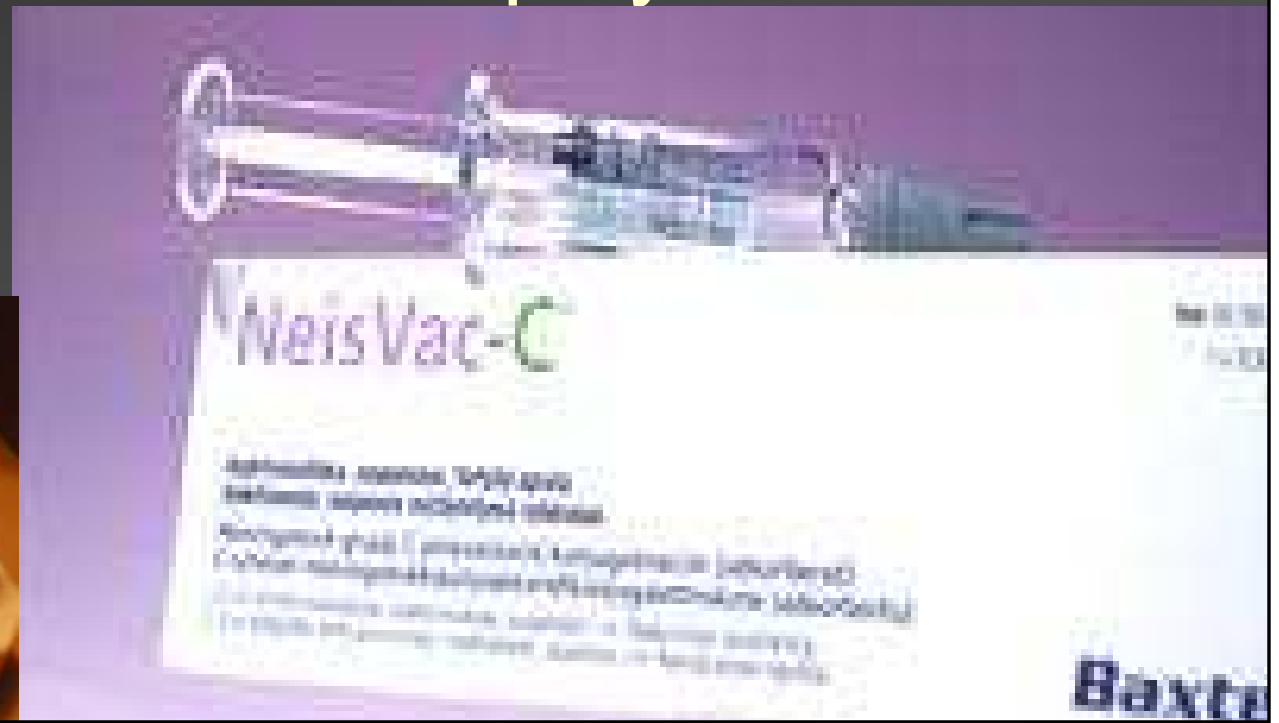
Antibiotikum	Zkratka	Referenč. zóna
Ampicilin (aminopenicilin)	AMP	29 mm
Cefuroxim (CS 2. gen.)	CXM	30 mm
Doxycyklin (tetracyklin)	DO	23 mm
Azithromycin (makrolid)	AZM	18 mm
Ko-trimoxazol (směs)	SXT	16 mm
Ko-amoxicilin	AMC	18 mm

# Ve světě používají i E-test



# Úkol 6 – antigenní analýza

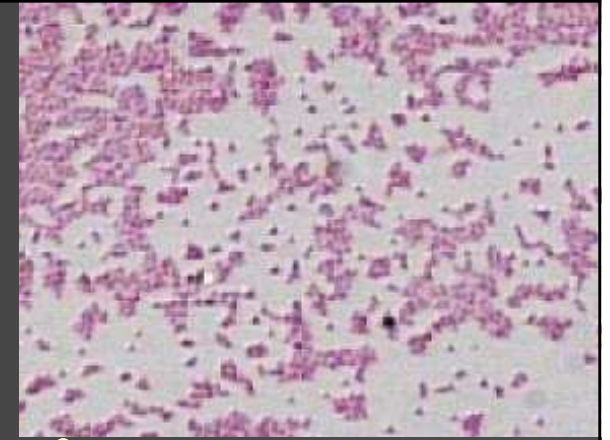
- Prohlédněte si soupravu na aglutinaci mozkomíšního moku a zapište, které patogeny je schopna zachytit. U meningokoků si povšimněte, které seroskupiny odhalí.



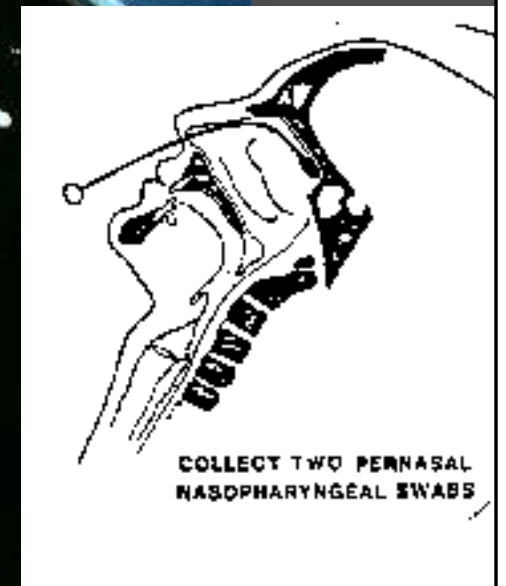
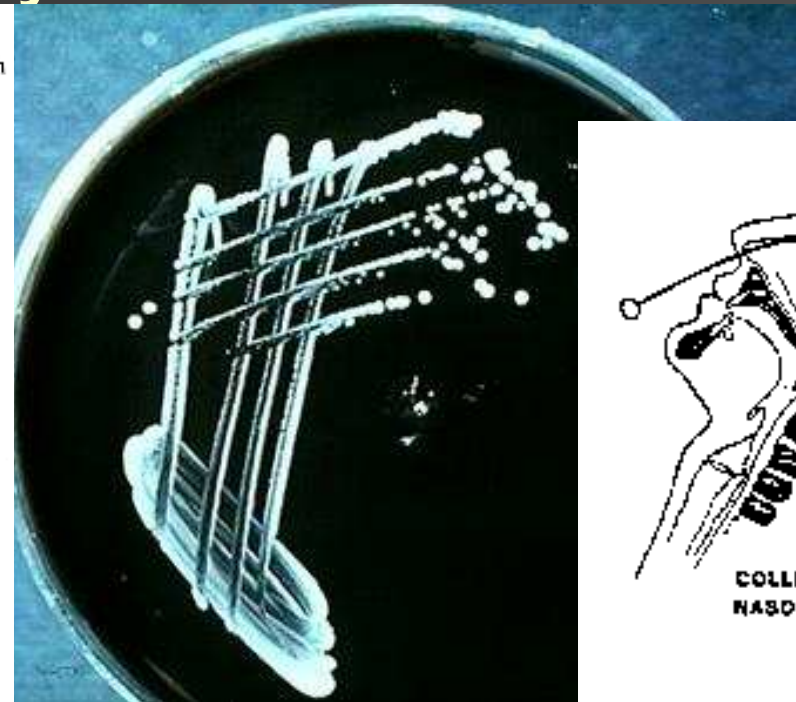
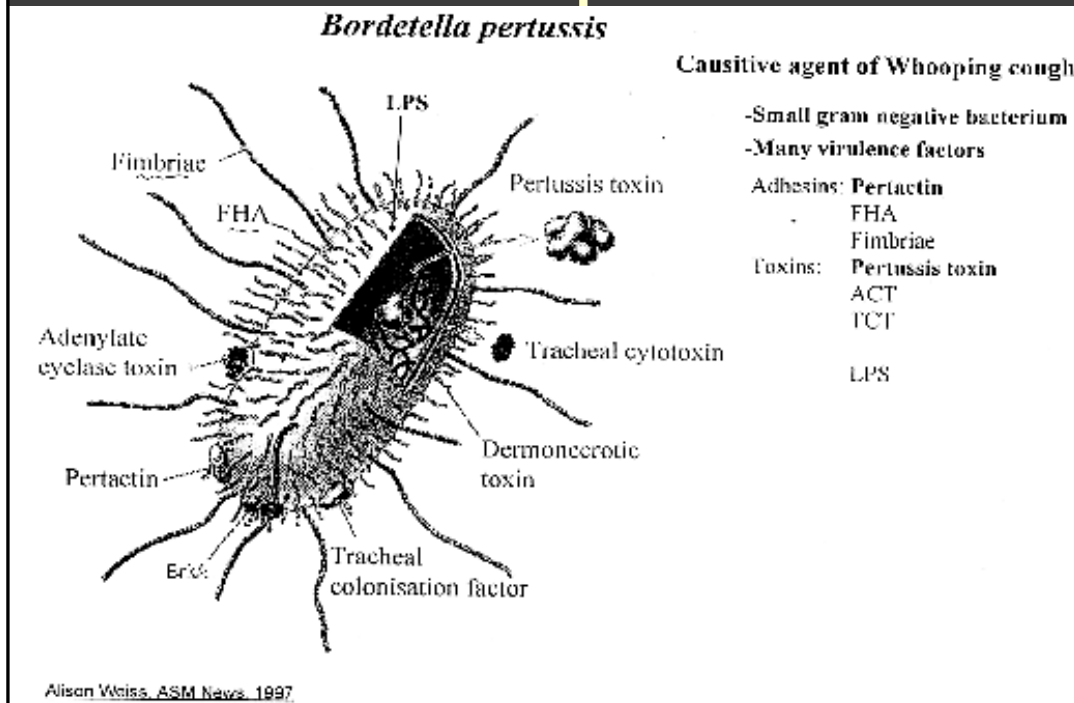
# Úkol 7: Diagnostika bordetel, brucel, legionel a francisel

- Různé gramnegativní tyčinky, které nerostou na Endově půdě a většinou ani na krevním agaru
- K jejich diagnostice se používají speciální půdy nebo nepřímá diagnostika (průkaz protilátek)
- Infekce jsou méně časté, ale mohou být velmi závažné

# Bordetelly



- *B. pertussis* a *B. parapertussis* způsobují dávivý kašel. *B. bronchiseptica* vyvolává různé patologické stavy u lidí i zvířat.
- Užíval se pernazální výtěr



*Bordetella bronchiseptica:*  
infekce kočky





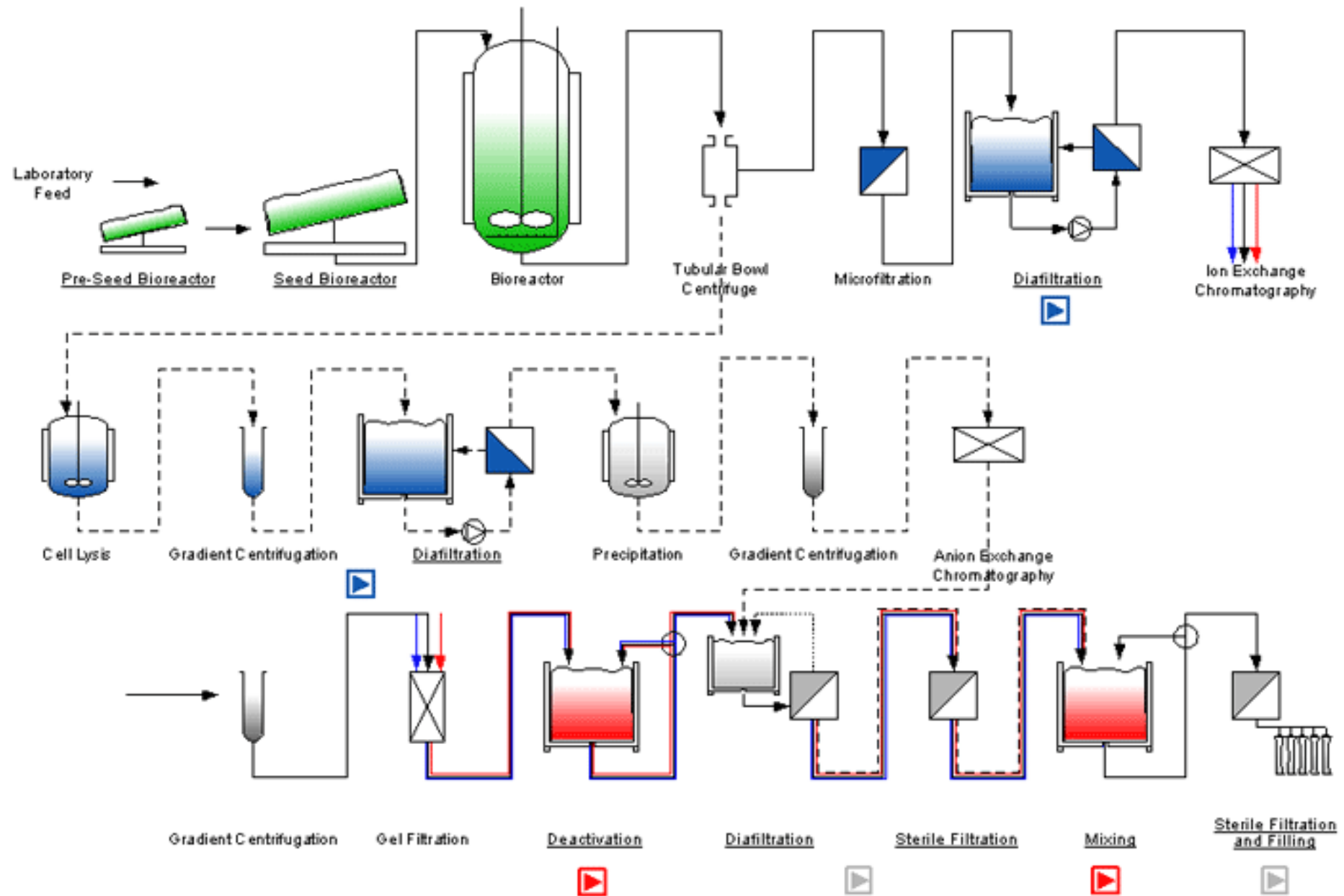
# 7a – Postup očkování na BG agar

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

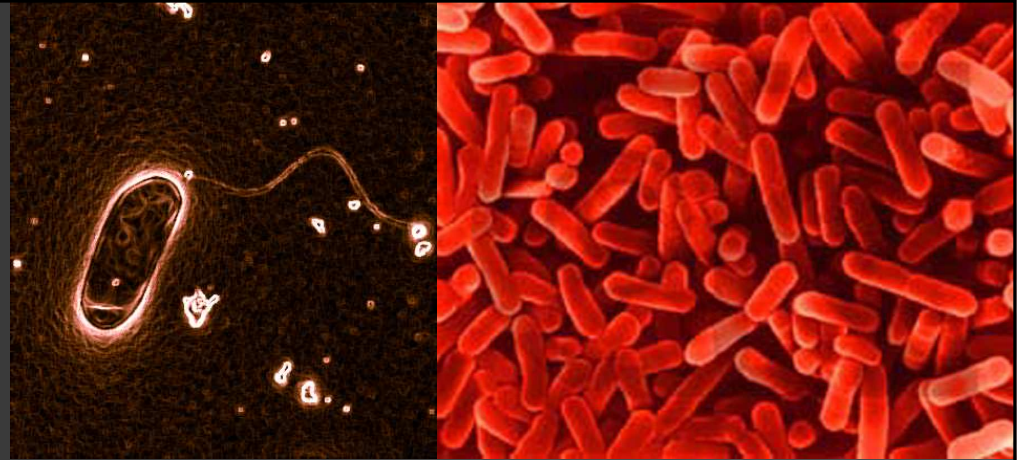
- 1) Naočkování středového pole
- 2) Spirála směrem k okraji
- 3) Radiální paprsky



# Jak se dělá pertusová vakcína



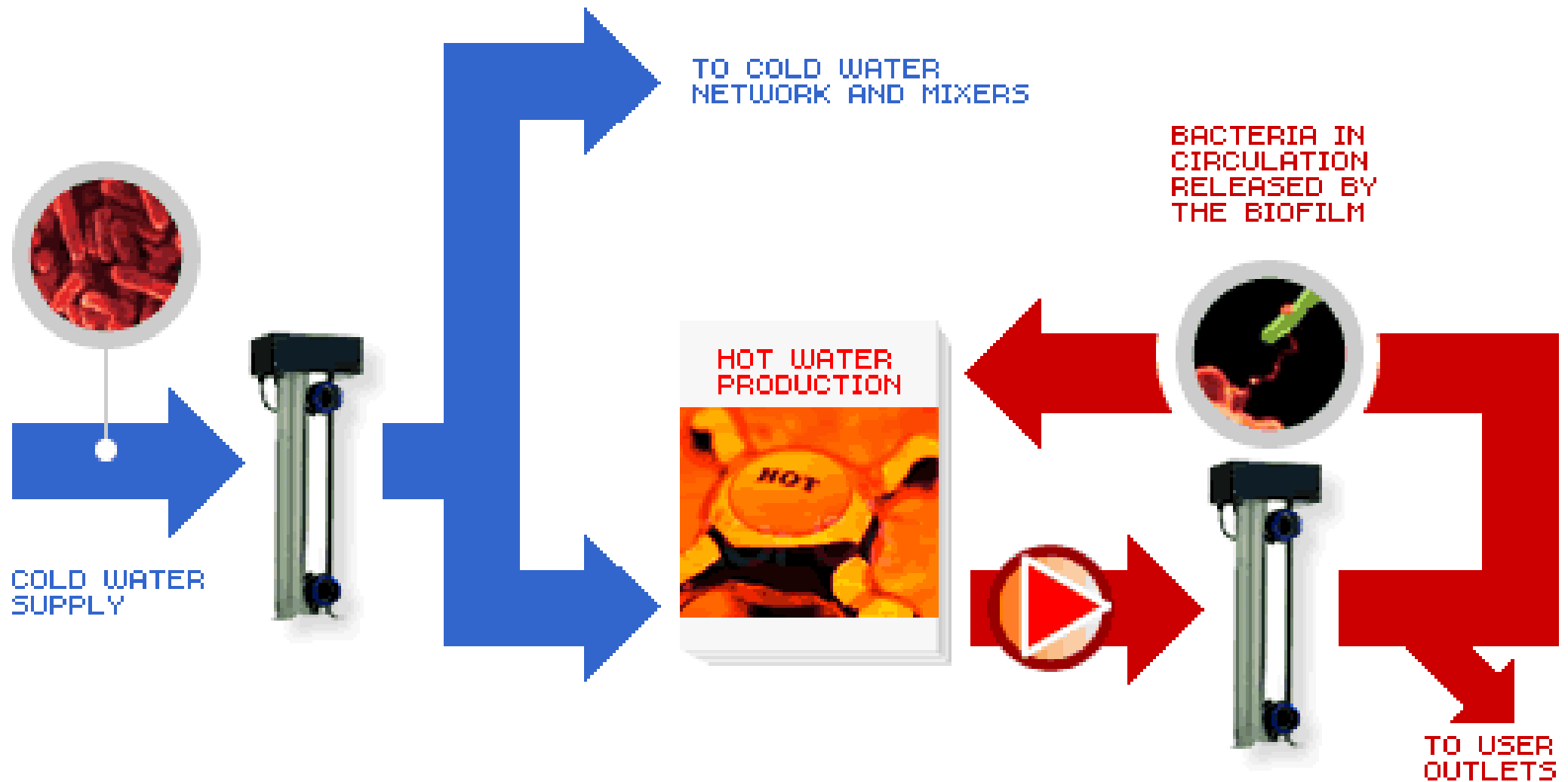
# 7b – půda BCYE na legionely



- Legionely se vyskytují ve vodovodech. Boj s nimi je hlavně stavebně technický.

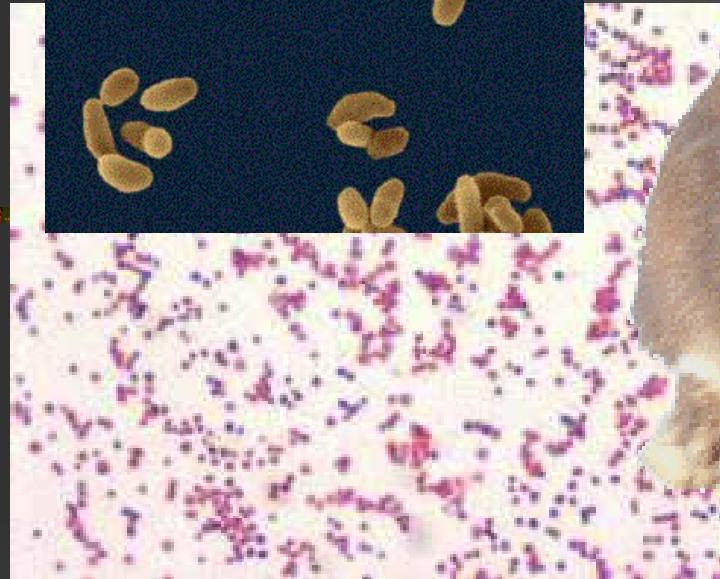


# Prevence legionelóž v nemocnicích



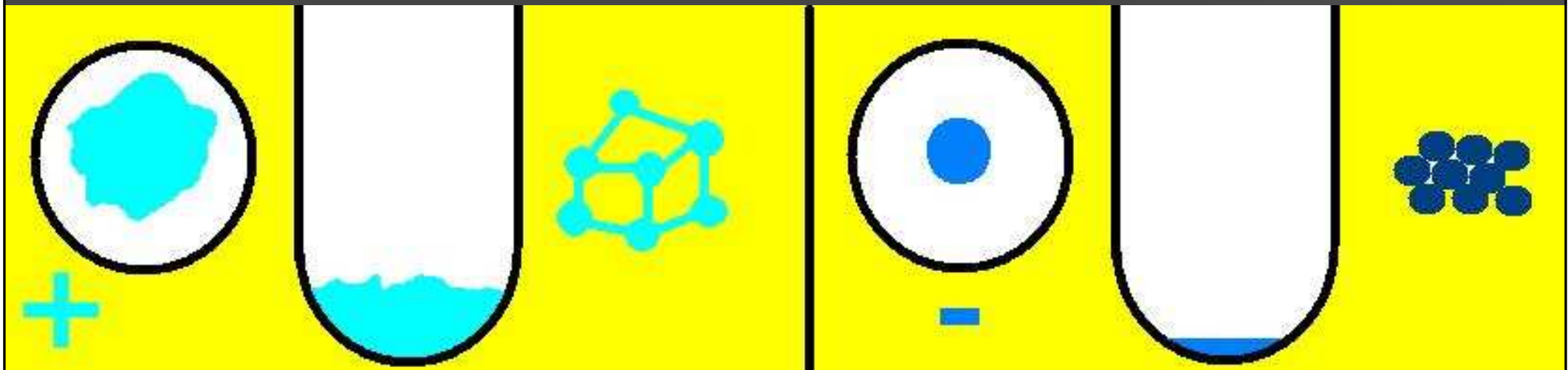
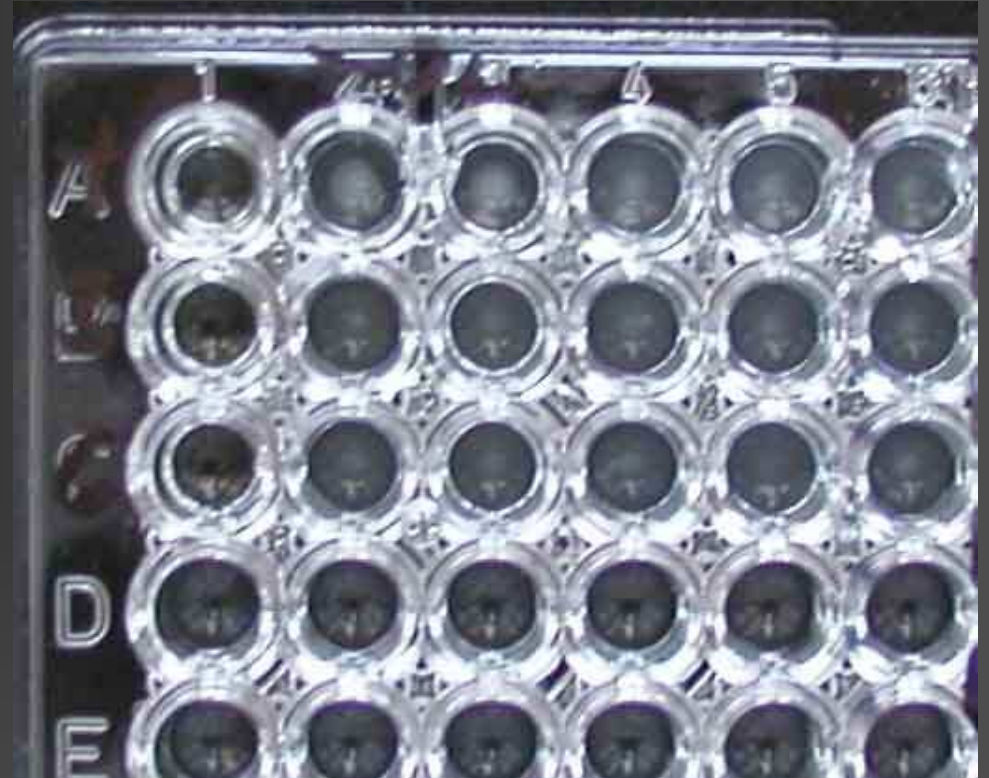
# 7c Francisella

- Původce tularémie – zaječího moru



# Odečet aglutinačního setu

- Počítá se titr – tedy nejvyšší ředění, kdy ještě nalézáme pozitivní reakci



# 7d Vzpomínka na brucelly

Conjunctivae  
by aerosols or fingers

Inhaled aerosols  
Slaughterhouse procedures  
Laboratory accidents  
Veterinary manipulations

Ingestion  
Dairy products  
Contaminated fingers

Abraded skin  
Veterinarians  
Abattoir workers



Brucella-infected  
phagocytic cell



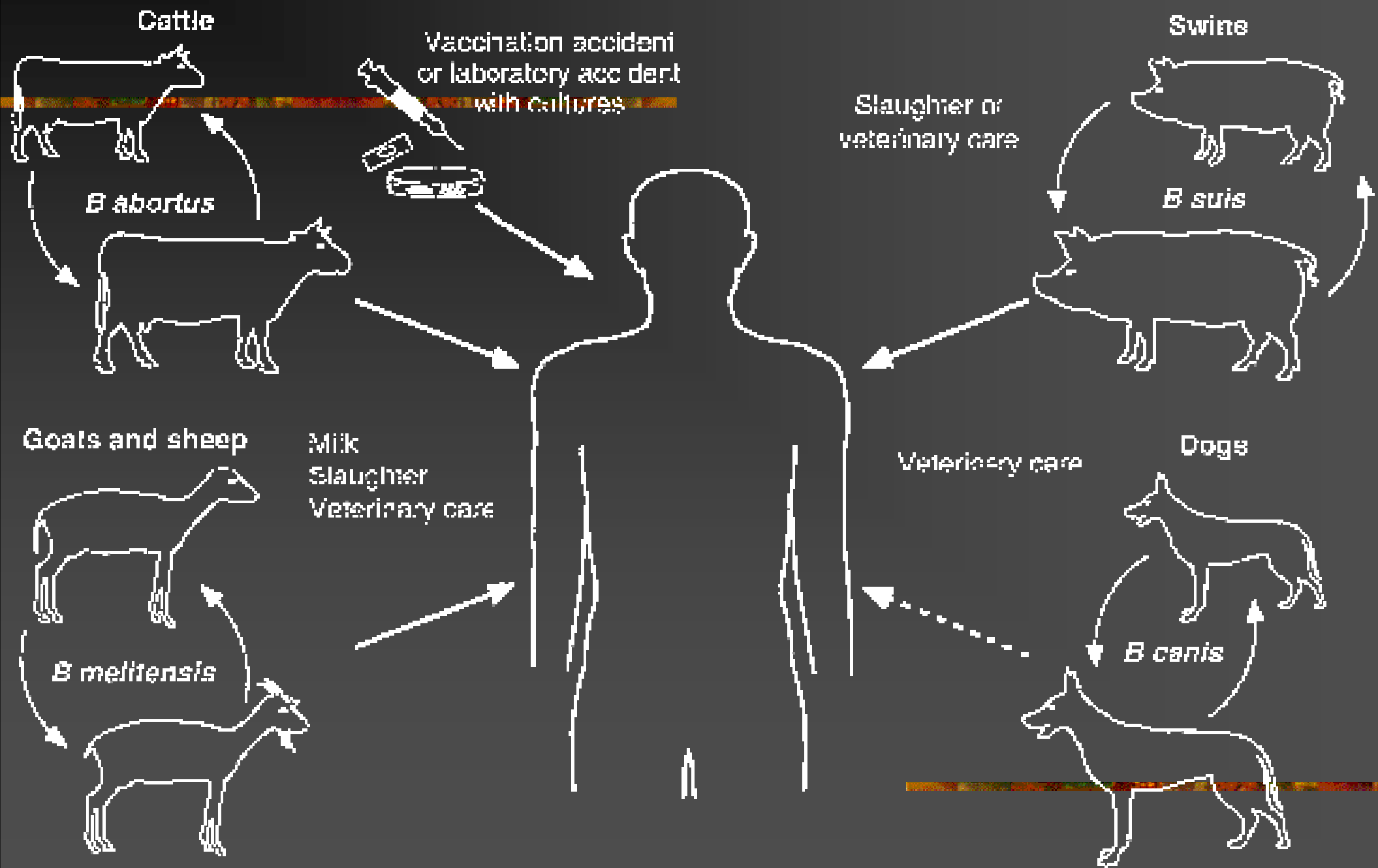
Bone marrow

Lymph nodes

Spleen

Liver





# History and Physical Exam

## Clinical

Occupation

Raw milk

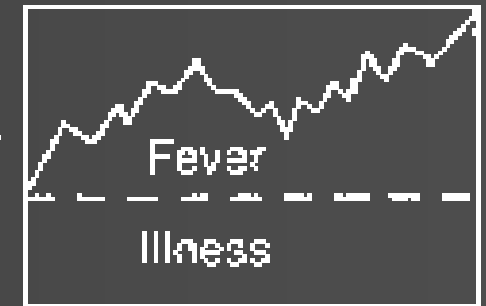
Fresh cheese

Travel

Symptoms

Signs

## Course of disease



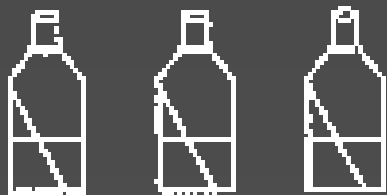
## Laboratory

Blood cultures

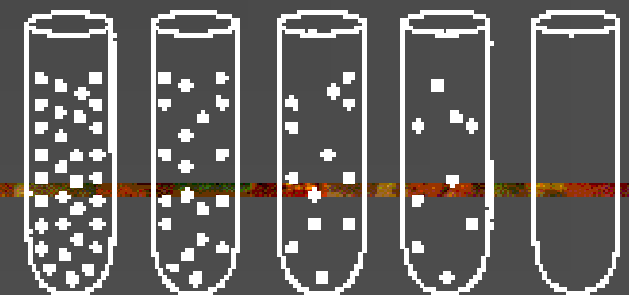
1.

2.

3.



## Quantitative serology



# Nashledanou při dalším dílu!



## Použity obrázky z adres:

- 05 - 10 <http://www.infektionsbiologie.ch/seiten/modellparasiten/seiten/neisseria/fotos/kultur.jpg>
- 11 - 12 <http://www.waterscan.co.yu/images/virusi-bakterije/Neisseria%2520meningitidis.jpg>
- 13 <http://www.geocities.com/HotSprings/Spa/5276/neisseria.jpg>
- 14 [http://medecinepharmacie.univ-fcomte.fr/bacterio\\_web/img/phototheque/divers/Neisseria\\_meningitidis\\_galerie.jpg](http://medecinepharmacie.univ-fcomte.fr/bacterio_web/img/phototheque/divers/Neisseria_meningitidis_galerie.jpg)
- 15 - 17 <http://www.ratsteachmicro.com/Assets/Neisseria/Colonies.gif>
- 18 [www.meningitis.de/erreger/meningokokken.html](http://www.meningitis.de/erreger/meningokokken.html)
- 19 [www2.bc.cc.ca.us/bio16/20\\_Nervpictures.htm](http://www2.bc.cc.ca.us/bio16/20_Nervpictures.htm)  
a Mykobakteria 01 - 02, Anaeroby 01 až 03
- 20 [http://medicine.plosjournals.org/archive/1549-1676/2/1/figure/10.1371\\_journal.pmed.0020024.g001-M.jpg](http://medicine.plosjournals.org/archive/1549-1676/2/1/figure/10.1371_journal.pmed.0020024.g001-M.jpg)
- 21 <http://www.rivm.nl/infectieziektenbulletin/bul1212/legionella.jpg>
- 22 <http://www.chemistryquestion.com/images/Question/legionella.jpg>
- 23 [mcb.berkeley.edu/labs/vance/research.html](http://mcb.berkeley.edu/labs/vance/research.html)
- 24 [http://www.environmental-expert.com/technology/sanipro/legionella\\_disinfection\\_scheme.gif](http://www.environmental-expert.com/technology/sanipro/legionella_disinfection_scheme.gif)
- 25 [http://medecinepharmacie.univ-fcomte.fr/bacterio\\_web/img/phototheque/divers/Legionella\\_pneumophila\\_isolement\\_BCYE.jpg](http://medecinepharmacie.univ-fcomte.fr/bacterio_web/img/phototheque/divers/Legionella_pneumophila_isolement_BCYE.jpg)
- 26 - 29 [gsbs.utmb.edu/microbook/ch028.htm](http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch028.htm)
- 30 <http://pathport.vbi.vt.edu/pathinfo/pathogens/Bmelitensis.html>
- 31 [www.nobivacbb.com/bordetella/symptoms/](http://www.nobivacbb.com/bordetella/symptoms/)
- 32 <http://www.dsf.health.state.pa.us/health/cwp/view.asp?a=167&q=202429>
- 33 <http://medinfo.ufl.edu/year2/mmid/bms5300/bugs/borpert.html>
- 34 [www.stedim.com/p2B\\_apps\\_flow2.php](http://www.stedim.com/p2B_apps_flow2.php)
- 35 [www.gpo.or.th/rdi/html/DTP-HB.html](http://www.gpo.or.th/rdi/html/DTP-HB.html)
- 36 - 37 [microbes.historique.net/tularensis.html](http://microbes.historique.net/tularensis.html)
- 38 - 39 [www.infektionsnetz.at/InfektionenTularaemie.phtml](http://www.infektionsnetz.at/InfektionenTularaemie.phtml)
- 40 [www.siumed.edu](http://www.siumed.edu)
- 41 [www.stdservices.on.net/std/gonorrhoea/details.htm](http://www.stdservices.on.net/std/gonorrhoea/details.htm)
- 43 <http://www.warwickshire.gov.uk/Web/corporate/pages.nsf/Pages%20by%20Department/53387646CF2D03B880256F49003A1175>