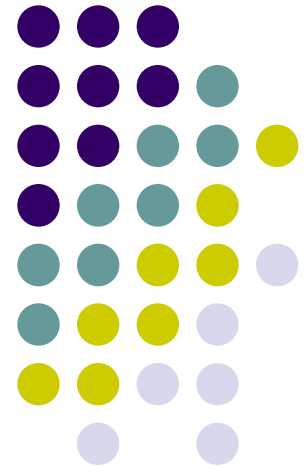


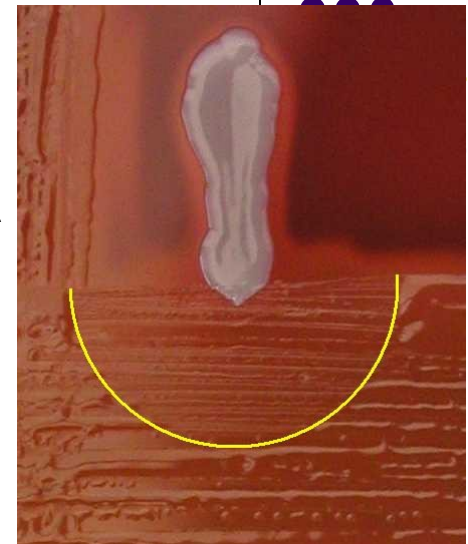
**P06**

**Další gramnegativní  
koky a tyčinky**



1) Kmen stafylokoka- pozitivní  
hyaluronidázová reakce, betahemolýza  
na KA

*S. aureus*

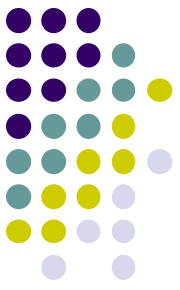


2) Který druh streptokoka se vyznačuje tvorbou  
dvojic koků?

*S. pneumoniae*

3) Co je to ASLO a k čemu se používá?

Průkaz protilátek proti antigenu *S. pyogenes*.  
Podezření na tzv. pozdní následky (revmatická  
horečka, akutní glomerulonefritida)



4) Které bakterie rostou při chladničkové teplotě?

Listerie, některé yersinie

5) Které rody klinicky významných bakterií tvoří endospóry?

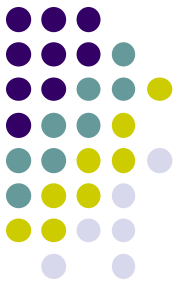
*Bacillus, Clostridium*

6) Jak od sebe odlišíme enterobakterie a vibria?

Oxidázovou reakcí

7) Co znamená zkratka EPEC?

Enteropatogenní *E. coli*. Způsobují průjmy u kojenců



8) Který je nejběžněji izolovaný serovar ze zoopatogenních salmonel?

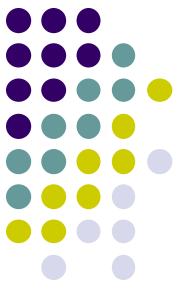
*S. Enteritidis*

9) Který druh gramnegativních nefermentujících bakterií je klinicky nejvýznamnější?

*Pseudomonas aeruginosa*

10) Co je charakteristické pro pseudomonády?

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



11) Kdy mohou růst hemofily na krevním agaru?

Když rostou kolem stafylokoka (satelitový fenomén)

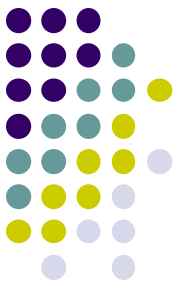
12) Které růstové faktory vyžaduje *H. influenzae*?

Vyžaduje jak faktor X (hemin), tak i faktor V (NAD)

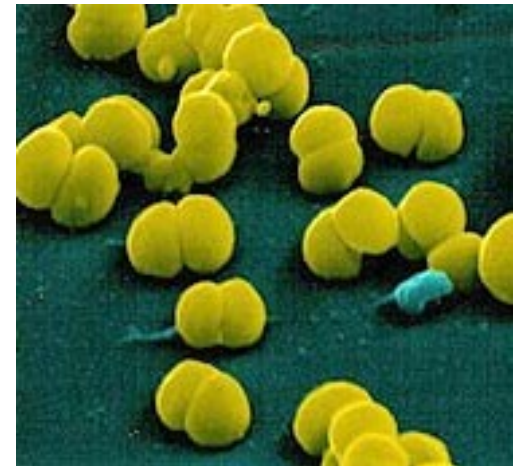
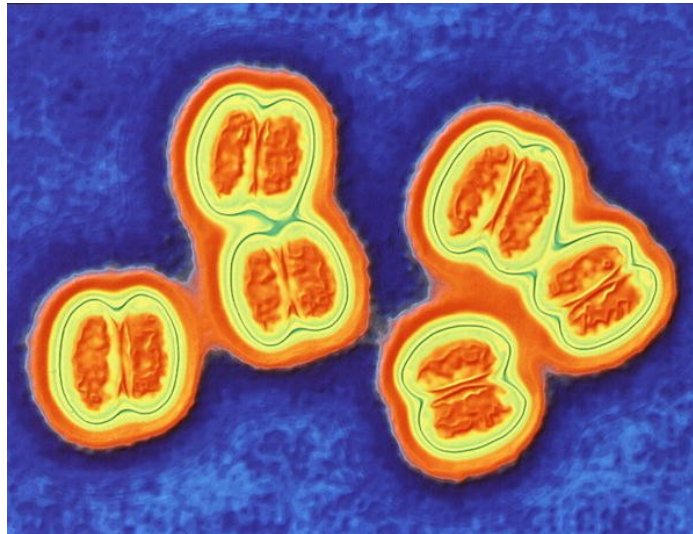
13) Proč ubylo hemofilových invazivních infekcí?

Protože děti jsou nyní proti „Hib“ očkovány

# Neisserie



- Aerobní G- koky ve dvojicích (tvar kávového zrna), intracelulární, růstově náročné
- Nevyskytují se ve volné přírodě, ale na sliznicích respiračního a genitálního traktu lidí



# *Neisseria gonorrhoeae* (gonokok)

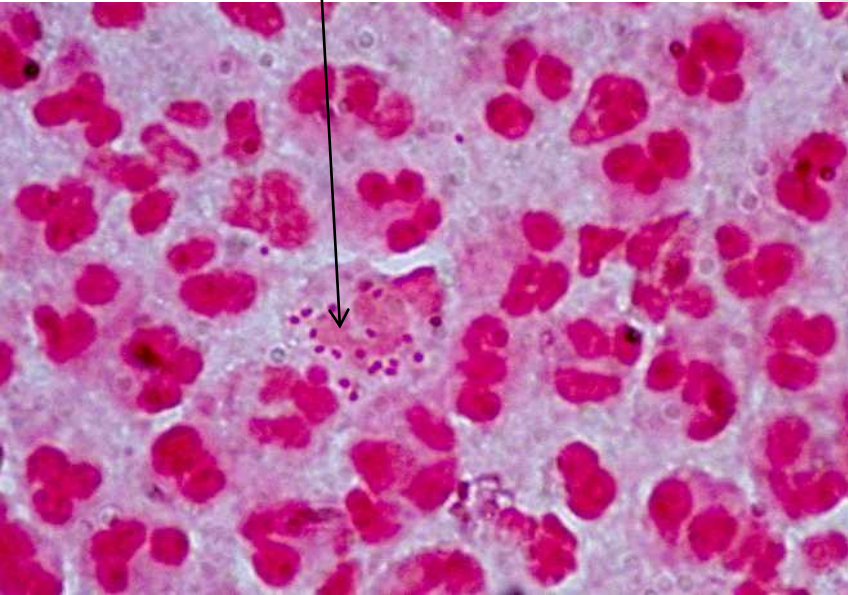


- Původce kapavky, člověk je jediným hostitelem
- Citlivý na světlo a chlad, na vyschnutí
- Přenos pouze přímým kontaktem (pohlavním stykem)
- Kapavka se projevuje jako **záněť uretry**, u žen také **cervixu**; asymptomaticky či symptomaticky se gonokoky vyskytují i **ve faryngu a v rektu**, popř. perinatální přenos (novorozenecká keratokonjunktivitida)
- Projevuje se **hnisavým výtokem**, u žen často **asymptomatická**

# Gonokoky



- rostou jen na čokoládovém agaru
- Intraleukocytární koky





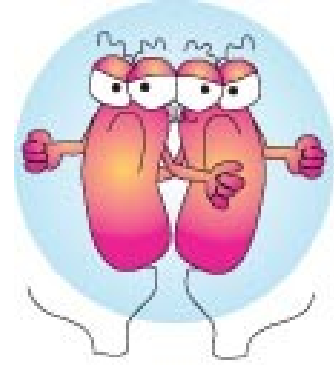
# *Neisseria meningitidis*

- ... neboli **meningokok**
- **13 séroskupin** (podle polysacharidu pouzdra), u nás nejčastěji **A,B,C**
- Přenos kapénkovou cestou- infekce faryngu, odtud se šíří hematogenně. Od nosičství až po smrtelné meningitidy a septický šok
- Týká se tzv. **klonálních kmenů**.
- Jiné kmeny jsou ale docela nevinné a udává se, že **asi deset procent populace má meningokoka v krku**.



# Invazivní meningokoková onemocnění

- 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

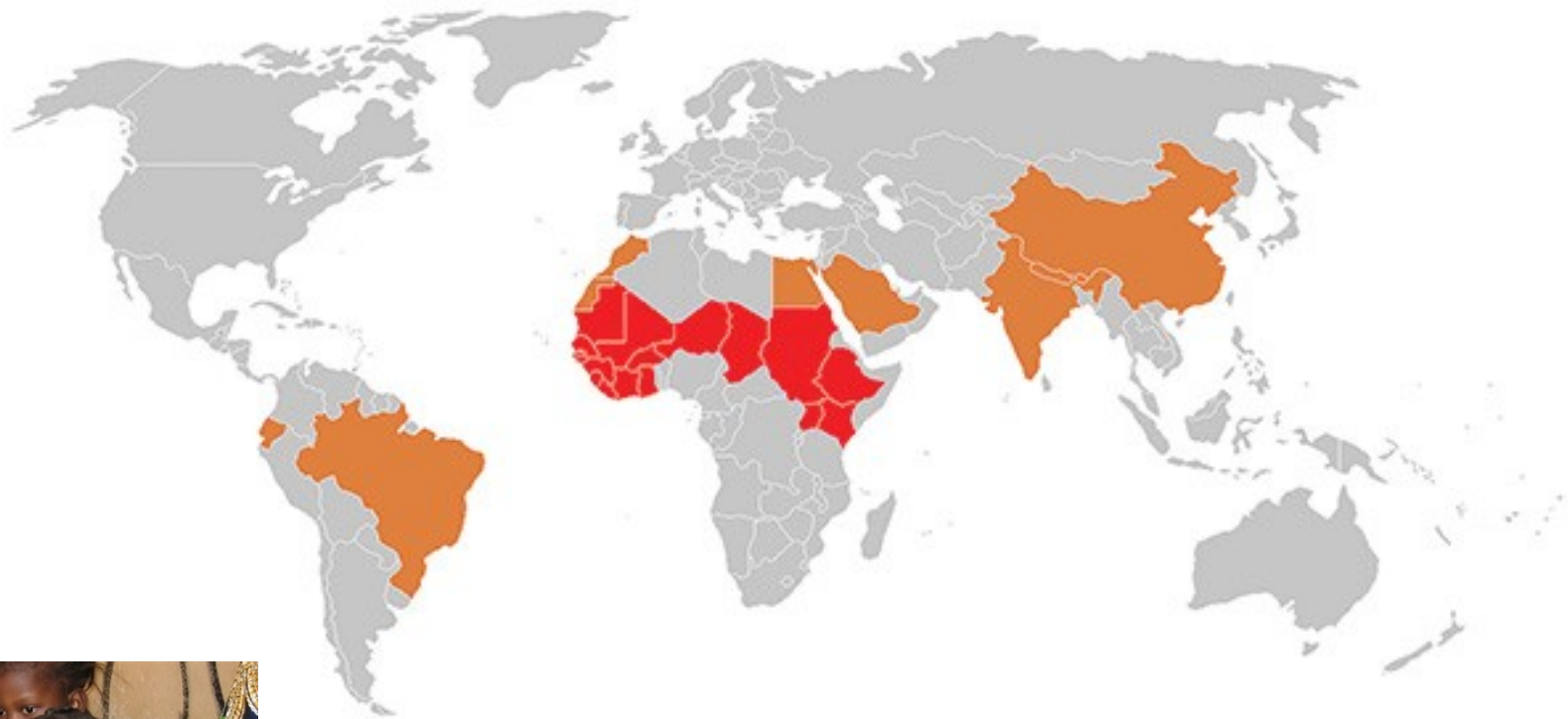


**Neisseria meningitidis**

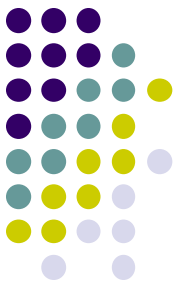


**Meningokoková meningitida, sepse**

# Meningokoková meningitida je celosvětově velmi závažnou nákazou



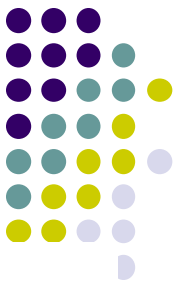
„Meningitis belt“, kde se hodně vyskytuje meningokoková meningitis (dříve A, dnes i W 135)



# Neisserie-rozdělení

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

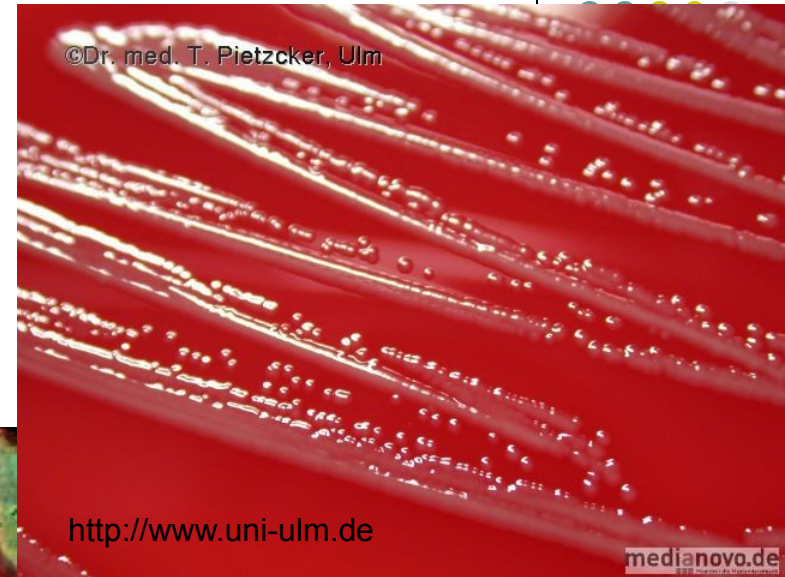
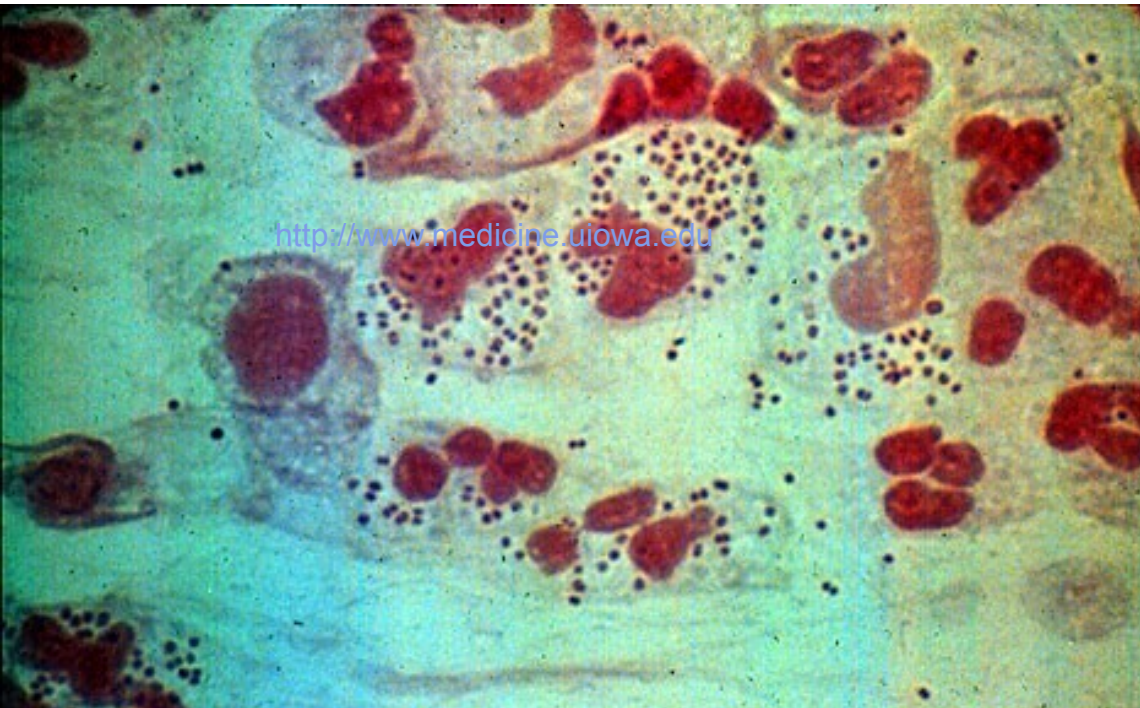
# *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*



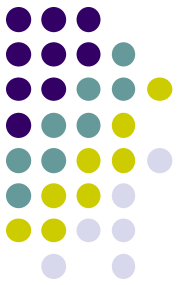
- Gramnegativní koky, dvojice
- Tento organismus bývá přítomen u zdravých osob v malém množství ve faryngu
- V čisté kultuře způsobuje **sinusitidy, otitis media, faryngitidy** a podobně.
- Její původní jméno *Branhamella* je odvozeno od Sáry Branhamové, jedné z prvních žen-badatelek.



# *Moraxella catarrhalis*



# „Další gramnegativní bakterie“



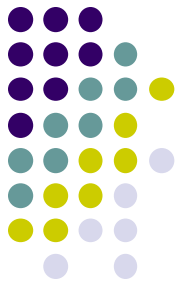
- Není to žádná skupina, natož čeleď. Jsou to ale všechno poměrně vzácnější bakterie, zpravidla nerostoucí na Endově agaru, některé z nich rostoucí na agaru krevním, a způsobující různé nemoci.
- ***Legionella, Bordetella, Brucella a Francisella***

# *Legionella pneumoniae*

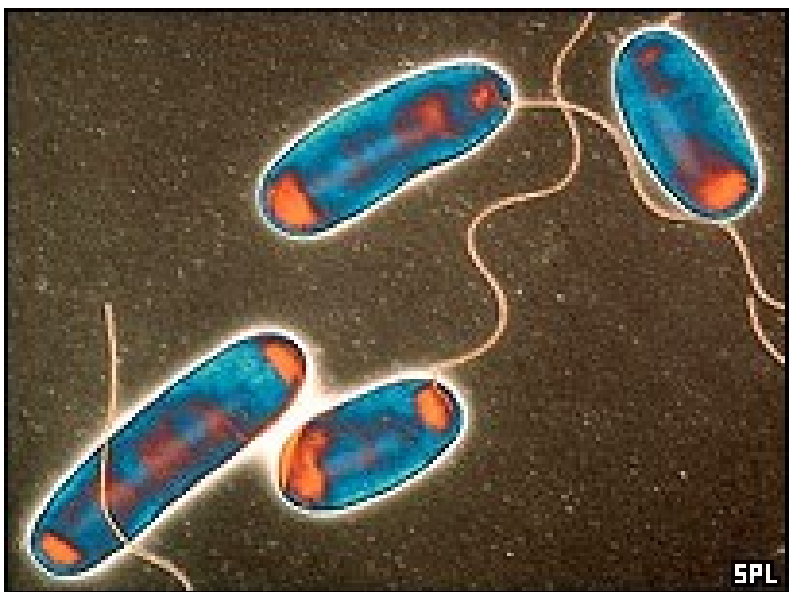


- G- štíhlé tyčinky
- V teplých vodách (parazité améb)
- Bakterie má často rezervoár ve **vodovodech, klimatizaci**, vodotisky atd.
- Inhalační cestou se dostává do těla. Nebezpečí pro pacienty se sníženou imunitou, seniory
- **Legionářská nemoc** je těžší variantou nemoci (horečka, průjem, slabost, bolesti hlavy, na hrudi, neproduktivní kašel)
- Existuje ještě mírnější varianta, **Pontiacká horečka** (bez postižení plic)
- Prevence: technické úpravy, čištění zařízení produkujících aerosol, dezinfekce vody, chlór málo účinný





# Legionella

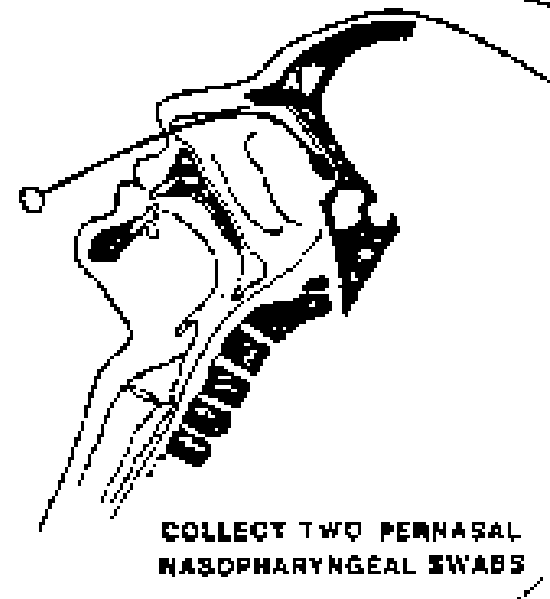


**Legionářská  
nemoc  
(anglicky:  
Legionaire's  
disease)**



# Rod *Bordetella*

- *B. pertussis* a *B. parapertussis* jsou lidské patogeny, způsobují **černý kašel**
- Černý kašel je velmi vzácný díky očkování (katarální, paroxysmální a rekonvalescenční stádium)
- *B. bronchiseptica* zřídka způsobuje různé patologické stavy u člověka a (primárně) u zvířat



# Rod *Brucella*

- Je to původce zoonóz, přenosné i na člověka
- *Brucella abortus* je kraví patogen, způsobující 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



# Brucella

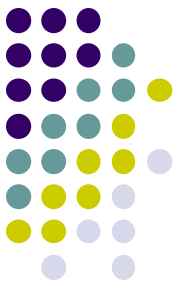


<http://pathport.vbi.vt.edu>

Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

<http://upload.wikimedia.org>

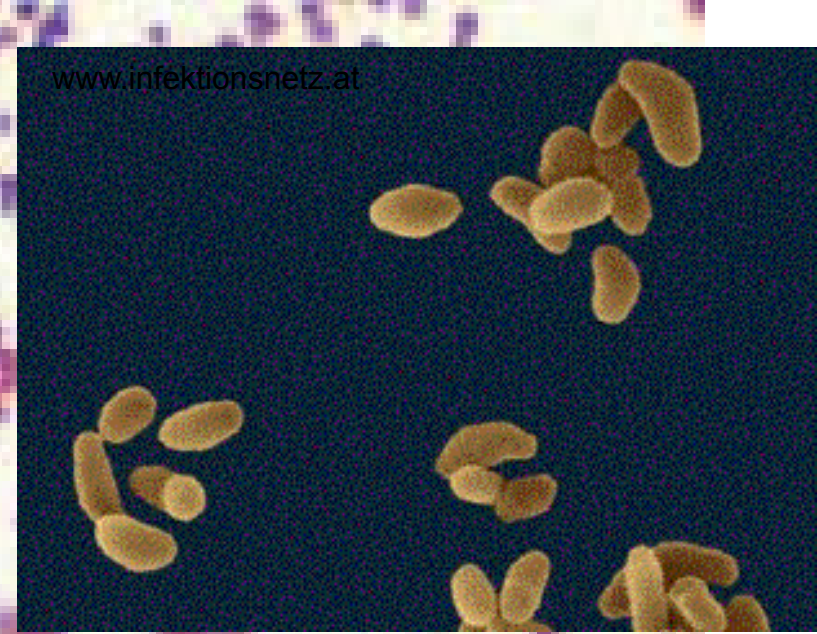
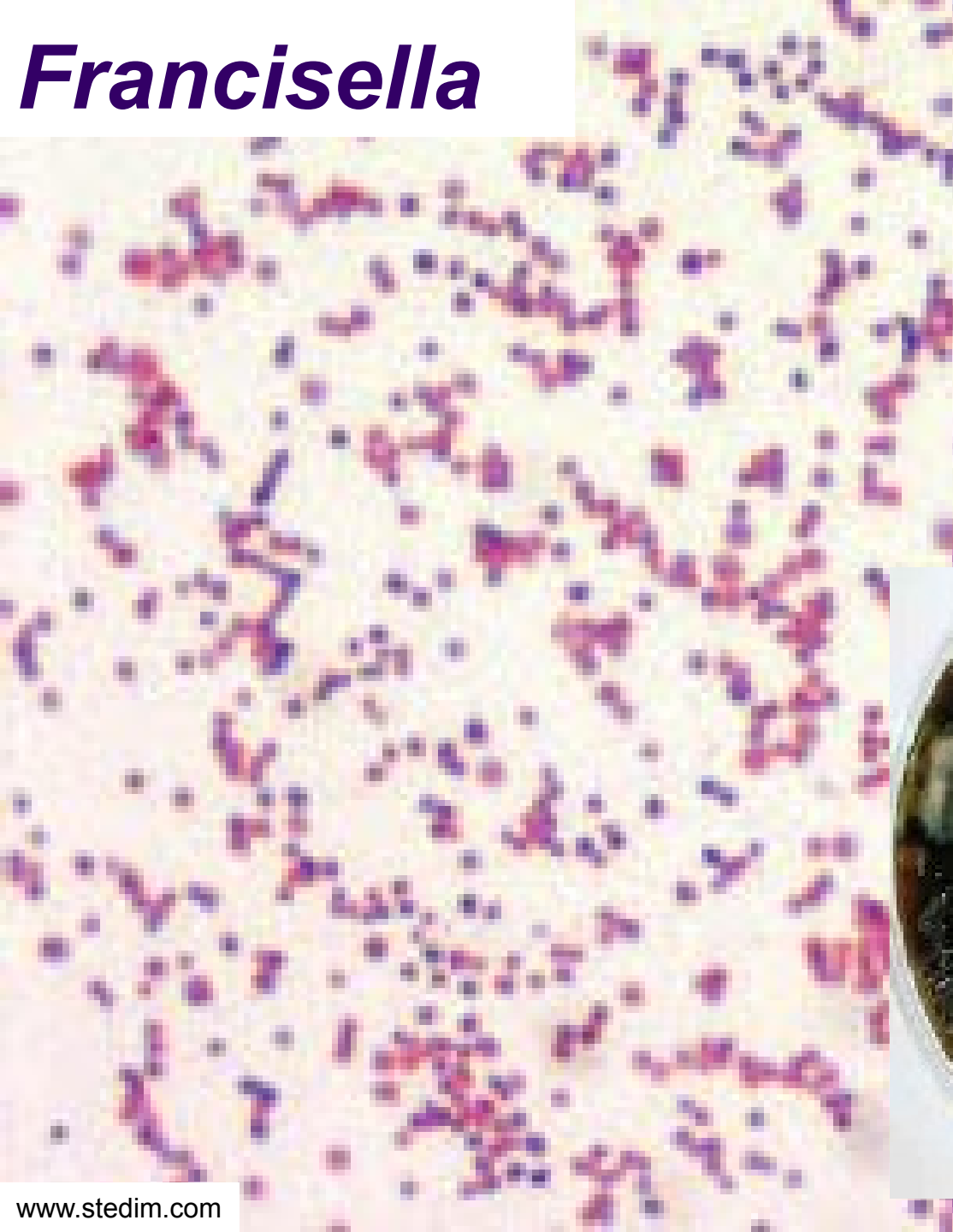
# Rod *Francisella*



- Nejdůležitějším druhem je *F. tularensis*
- Způsobuje **tularemii** – „zaječí mor“
- Cirkuluje v přírodě mezi vnímavými hlodavci, rezervoárem a přenašeči jsou klíšťata
- Různé způsoby infekce člověka (podle typu přenosu)
- Tento organismus může napadat **rány**, ale také je možné jej vdechnout, což vede k **zápalům plic, transmisivně** (klíšťaty) či **kontaminovanou vodou**

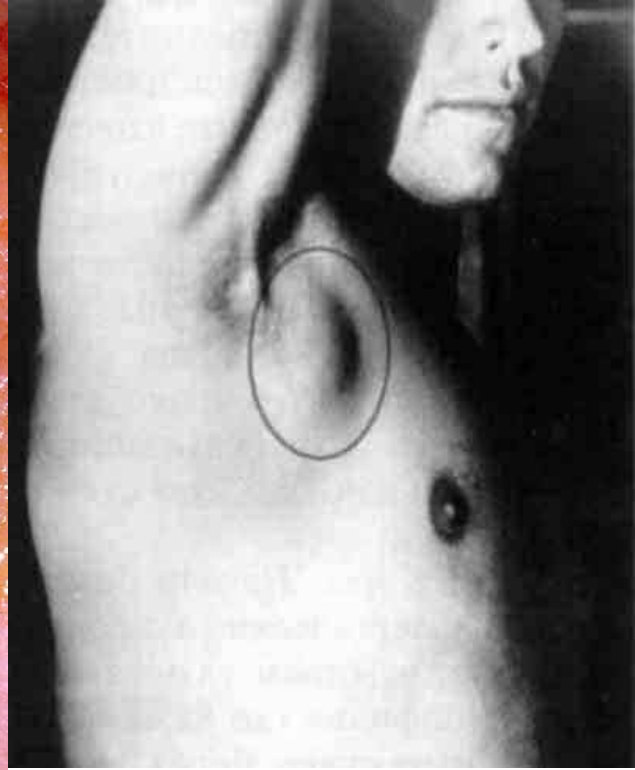
# *Francisella*

[www.infektionsnetz.at](http://www.infektionsnetz.at)



[www.wnysmart.org/tularemia](http://www.wnysmart.org/tularemia)

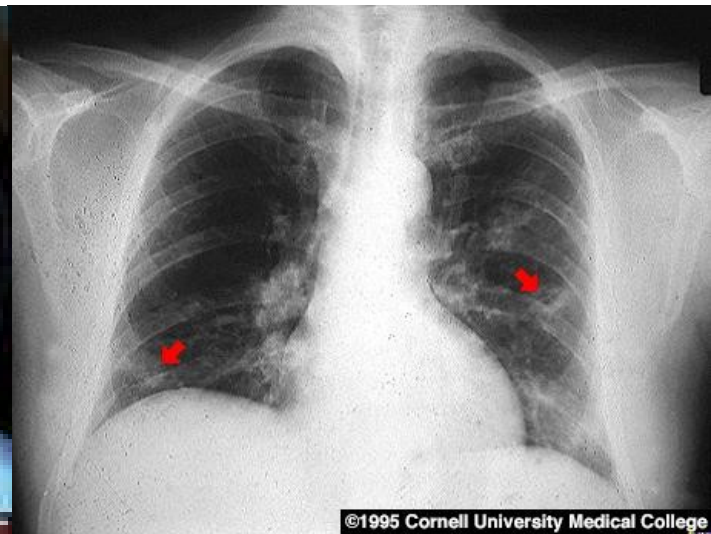
[www.stedim.com](http://www.stedim.com)



<http://www.antropozoonosi.it> (4x)



[www.infektionsnetz.at](http://www.infektionsnetz.at)



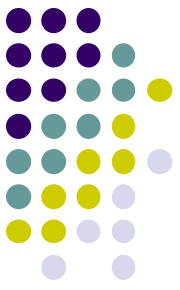


# Neisserie a moraxely – diferenciální diagnostika I.

- **Gramovo barvení:** G – (diplo)koky (intracelulární)
- **Oxidáza:** pozitivní
- **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 II.

- **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)



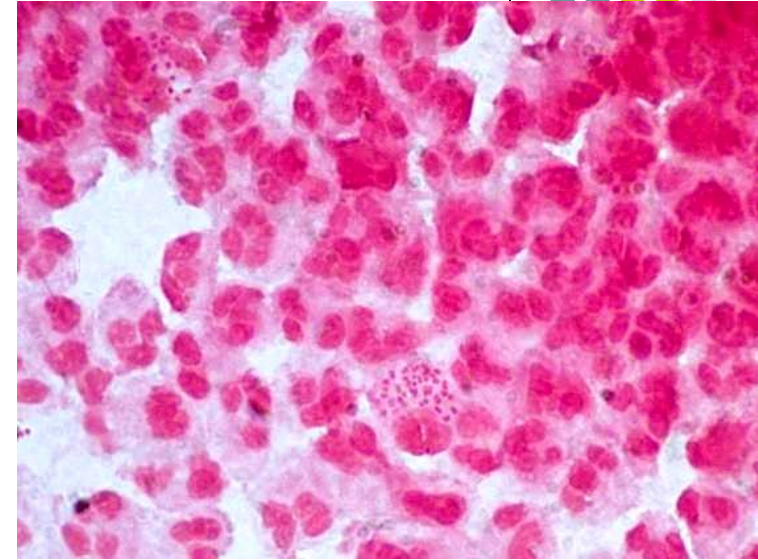
# „Další G- bakterie“ – charakteristika

- **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.

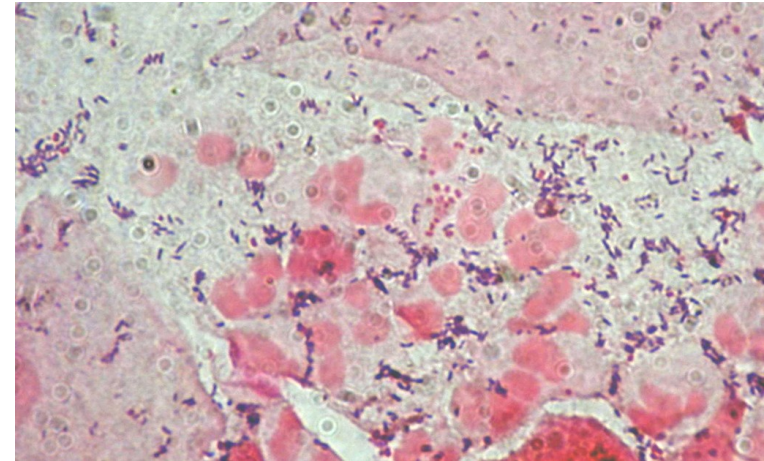
# Úkol 1a: Prohlédnutí nátěrů kapavky



Všimněte si **gramnegativních diplokoků tvaru kávového zrna, zejména intracelulárních.**

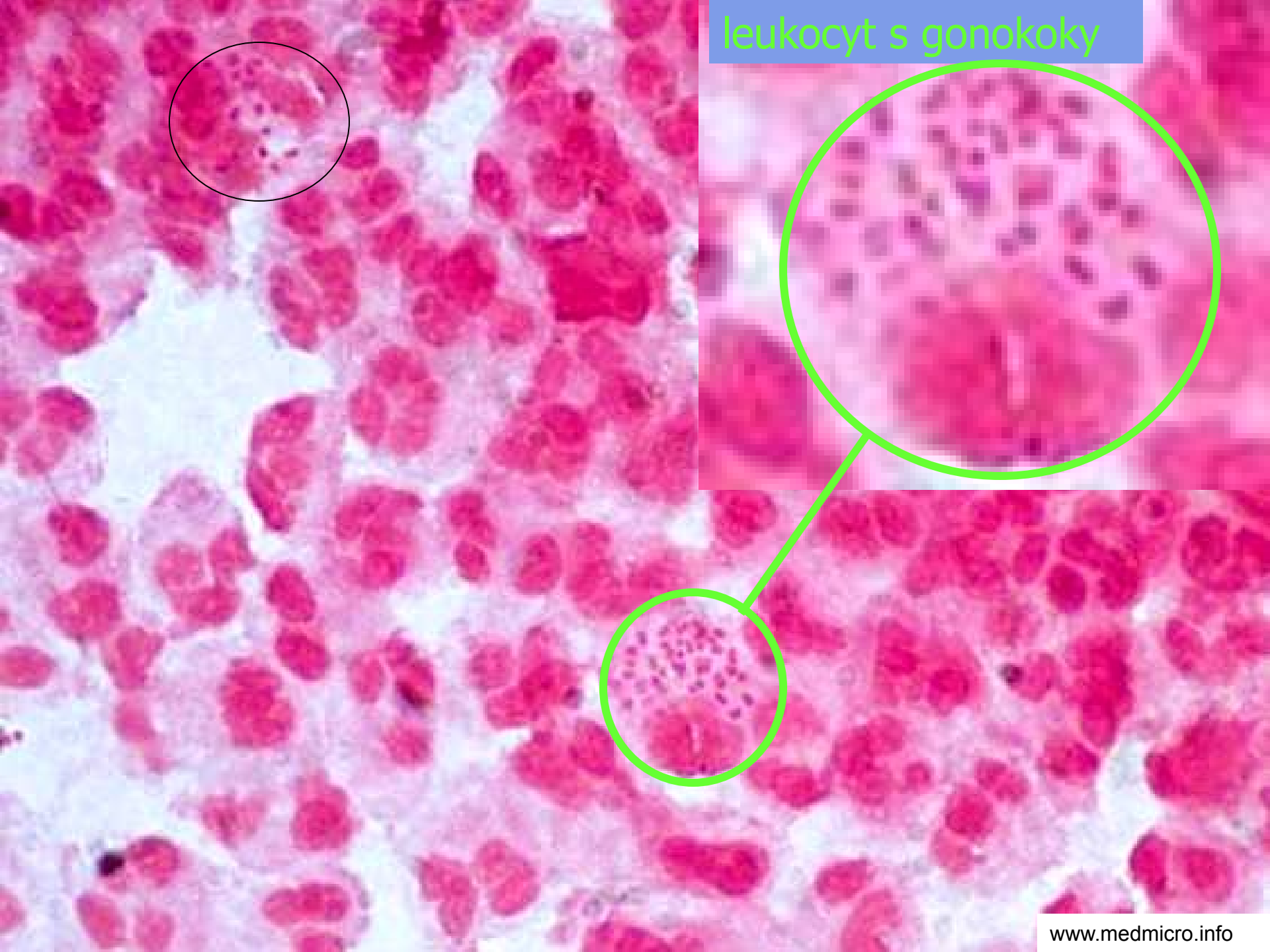


Intracelulární uložení je jejich typickou vlastností.

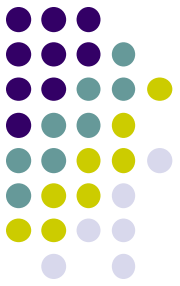


*Poněkud se liší vzhled preparátů od muže a od ženy*

leukocyt s gonokoky



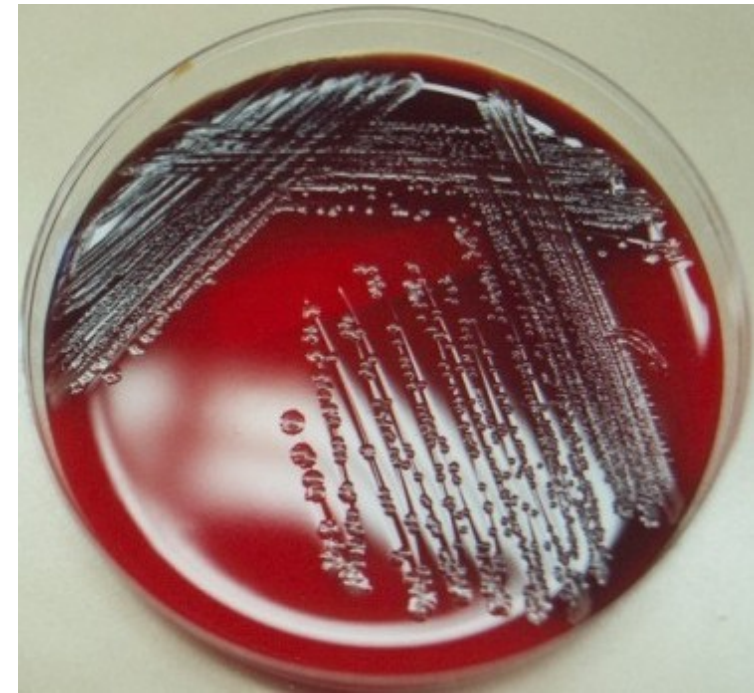
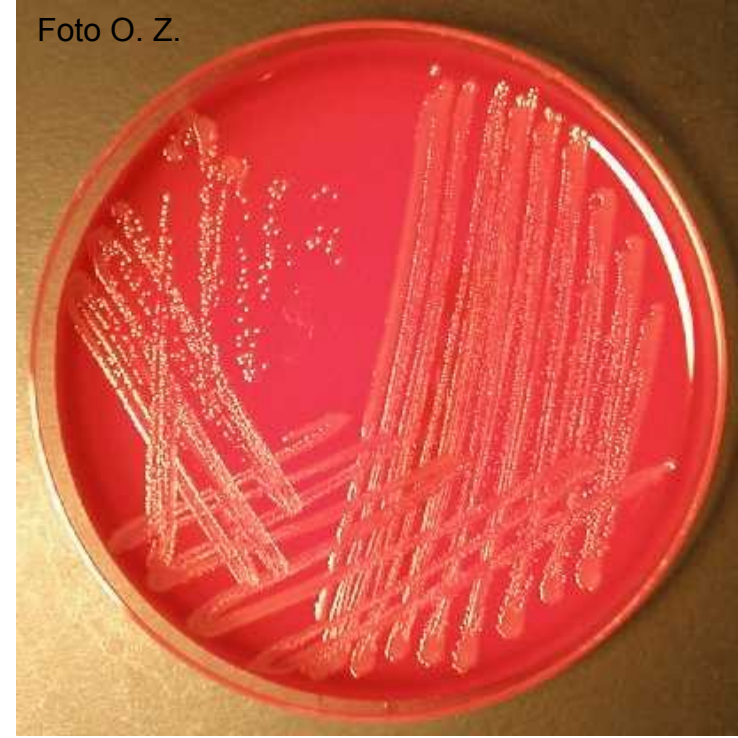
# Úkol 1b: barvení kultur podle Grama



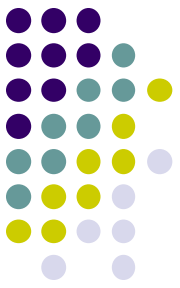
- Kmeny máte obarvené, nemusíte je barvit. Sklíčka po prohlédnutí nevyhazujte, nechte je pro další skupiny.
- Máte kmeny K, L, M, N, P. Jeden z nich není G – kok: který to je?

## Úkol 2: Kultivace

- Popište kolonie gramnegativních koků na různých půdách, a hlavně si všimněte, jestli tam vůbec rostou.
- „chudý“ KA, „bohatý“ KA a čokoládový agar



# Úkoly 3: Základní biochemické testy




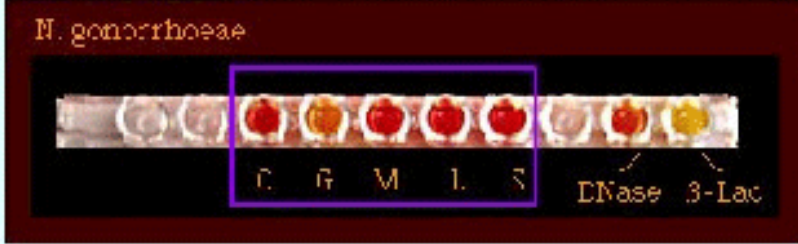
- Rychlé testy s diagnostickými proužky velmi usnadňují diagnostiku
- Neisserie jsou oxidáza pozitivní, moraxely také, ale mohou mít opožděnou reakci (3a)
- Moraxely se poznají podle pozitivního INAC testu (3b)
- U INAC testu se postupuje jako u oxidázy, ale proužek je nutno zvlhčit a je nutno pět minut počkat. Zbarvení je modrozelené.



# Úkol 4 – druhové určení neisserií



- K druhovému určení neisserií se používají biochemické testy, 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><i>N. meningitidis</i></p> <p>C G M L S DNase β Lac</p> |  <p><i>N. gonorrhoeae</i></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.<br>NEG. | GLU<br>+             | MAL<br>+               | FRU<br>-                 | SAC<br>- | ONPG<br>- | TRI<br>- | PS<br>24h |
| GGT<br>+      | NO <sub>3</sub><br>- | NO <sub>2</sub><br>(1) | NO <sub>2</sub><br>+ (2) | 1395     |           |          |           |

# Praktické poznámky k Neisseriatestu



- **První důlek (řádek H) je negativní kontrola,** takže se nepočítá do součtu!
- U tří kmenů si jen ověřujete to, co vyplynulo již z předchozích testů. Čtvrtý kmen je ústní neisserie, kterou Neisseriatestem určíte druhově.

# Úkol 5 – testy antibiotické citlivosti

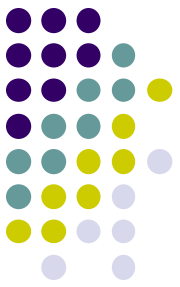


- Antibiotická citlivost se u patogenních neisserií určuje na půdách, na kterých jsou schopny růst, tj. nikoli na MH agaru
- Lékem volby u **meningokoka** je stále klasický **penicilin**. Ten se osvědčuje i u gonokoka. Nicméně rezistence nejsou vyloučeny! Další možností jsou **makrolidy**, **chinolony**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

# Tabulka zón citlivosti – MEN



| Antibiotikum                  | Zkratka | Referenční zóna |
|-------------------------------|---------|-----------------|
| Penicilin (základ. penicilin) | P       | 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           |
|                               |         |                 |



# Úkol 6 – antigenní analýza

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

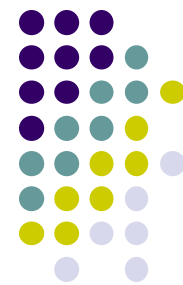
[www.baxter-ecommerce.com](http://www.baxter-ecommerce.com)



Foto O. Z.



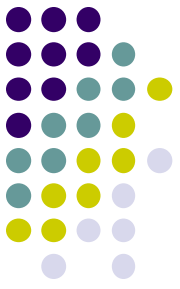
# Antigeny detekované při antigenní analýze likvoru



- *Neisseria meningitidis* A
  - *Neisseria meningitidis* B
  - *Neisseria meningitidis* C
  - *N. meningitidis* Y/W135
  - *Haemophilus influenzae* b
  - *Streptococcus pneumoniae*
  - *Streptococcus agalactiae*
- teenageři, batolata**
- batolata (dříve)**
- senioři**
- novorozenci**

**Zeleně vždy uvedena věková skupina, u které je daná infekce nejtypičtější**

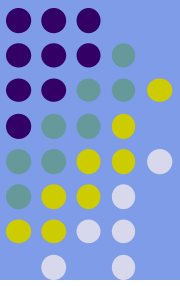
# Úkol 7: Diagnostika bordetel, brucel, legionel a francisel



- K jejich diagnostice se používají speciální půdy nebo nepřímá diagnostika (průkaz protilátek)
- Různorodé úkoly 7a až 7d jsou věnovány každý jednomu z rodů.

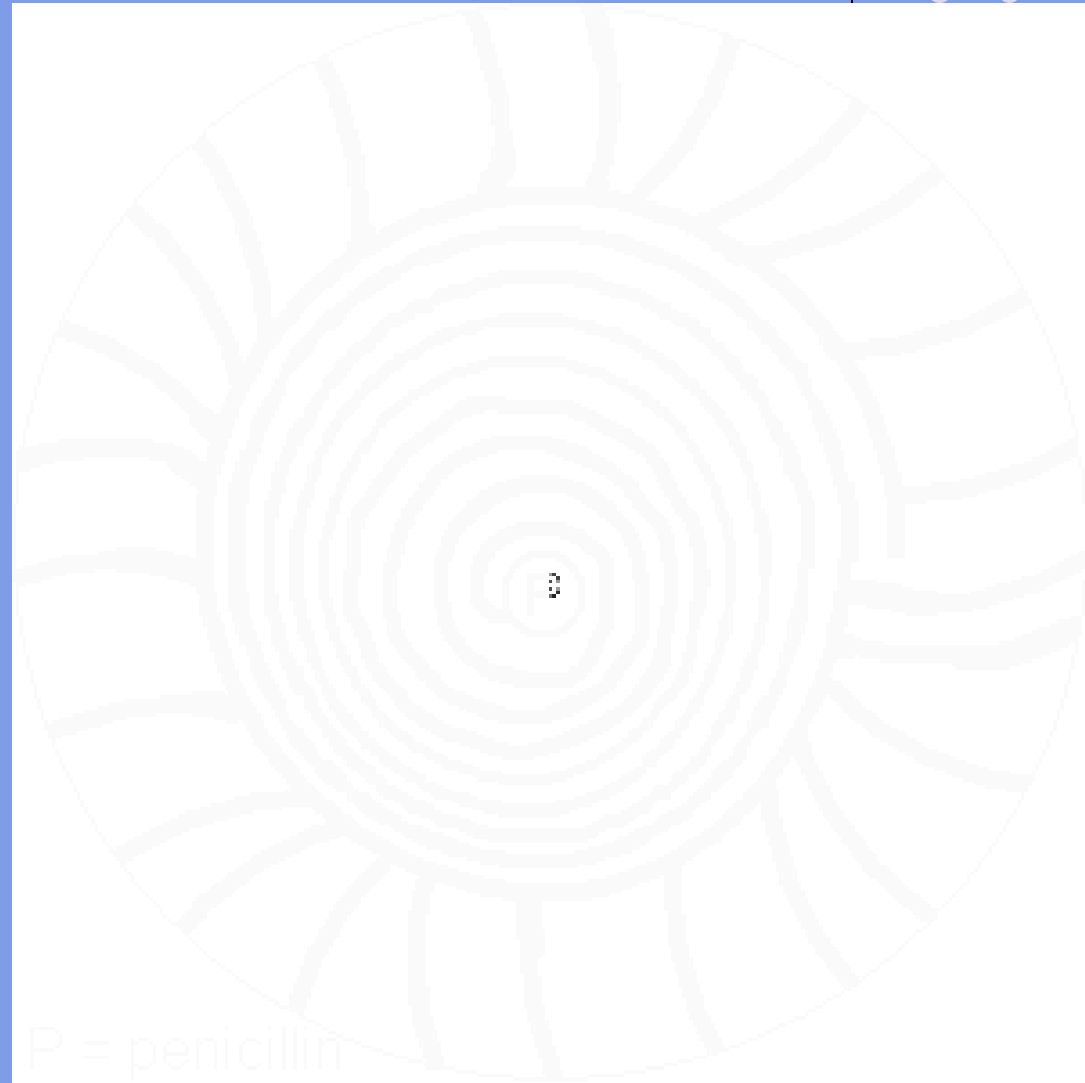


# 7a – Postup očkování na BG agar



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

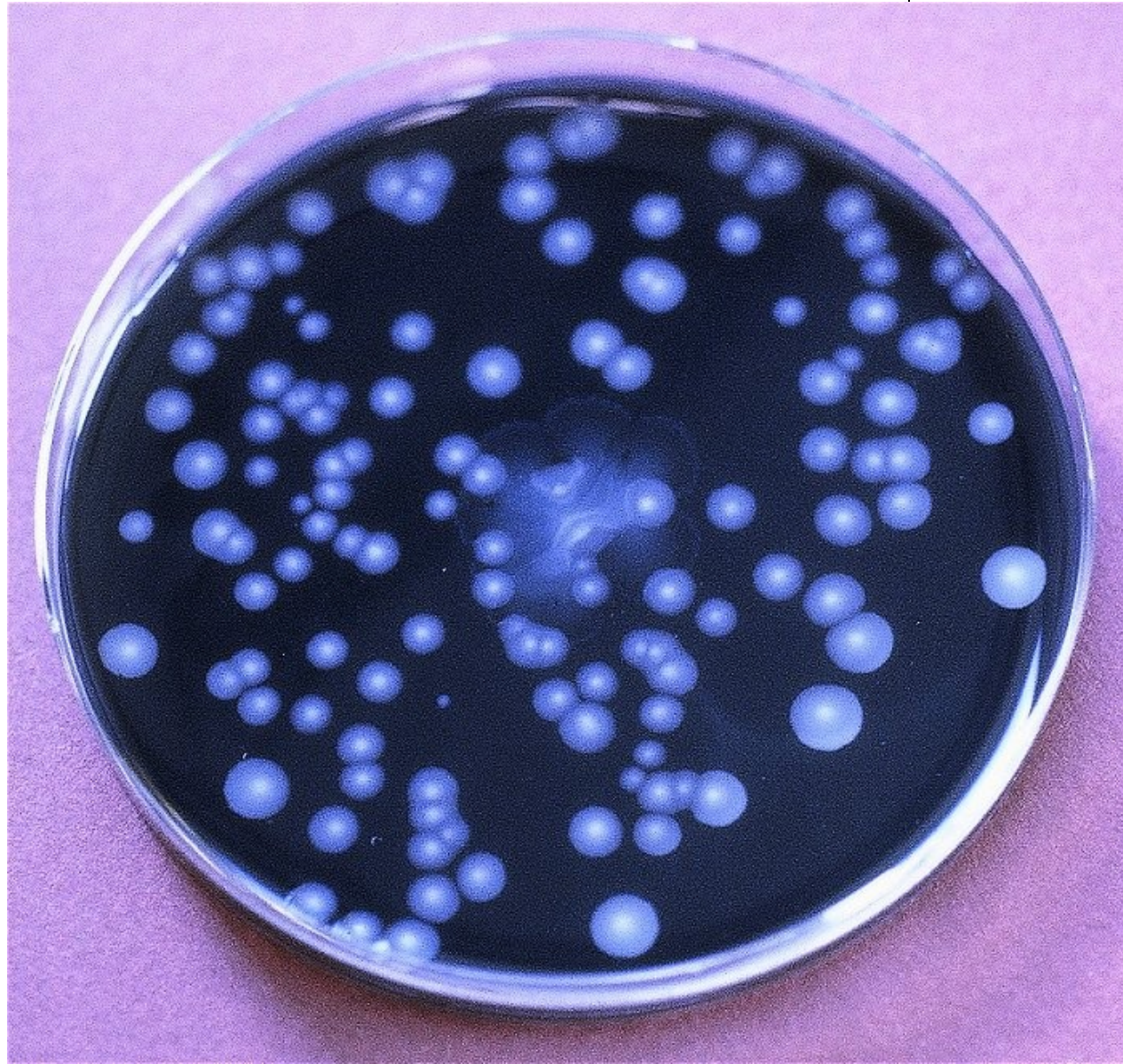
- 1) Naočkování středového pole do kapky penicilinu
- 2) Spirála směrem k okraji
- 3) Radiální paprsky





# 7b – BCYE agar pro legionelly

**Buffered  
Charcoal  
Yeast  
Extract**



# 7c Diagnostika rodu *Francisella*:

## Odečítání titru

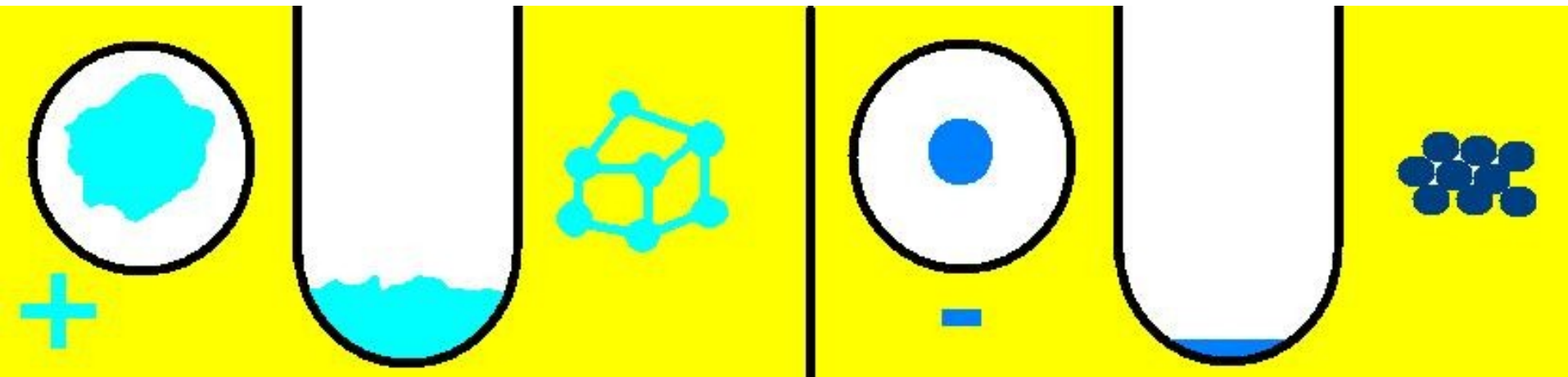
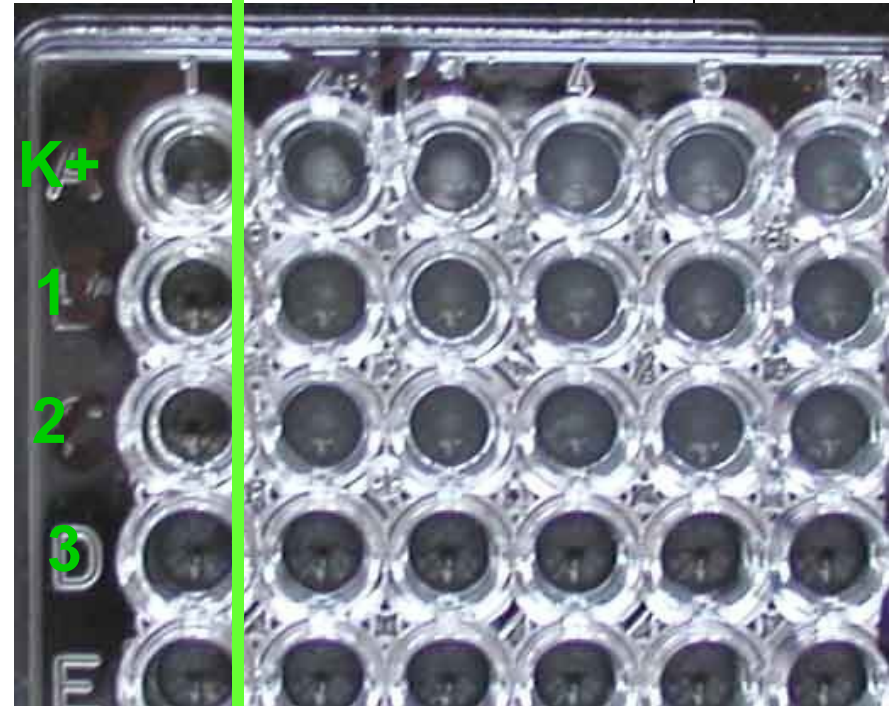


1:10 1:20 atd.

- Spočítá se titr, tedy nejvyšší ředění s pozitivní reakcí

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

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



# 7d Vzpomínka na Brucelly

