

P03

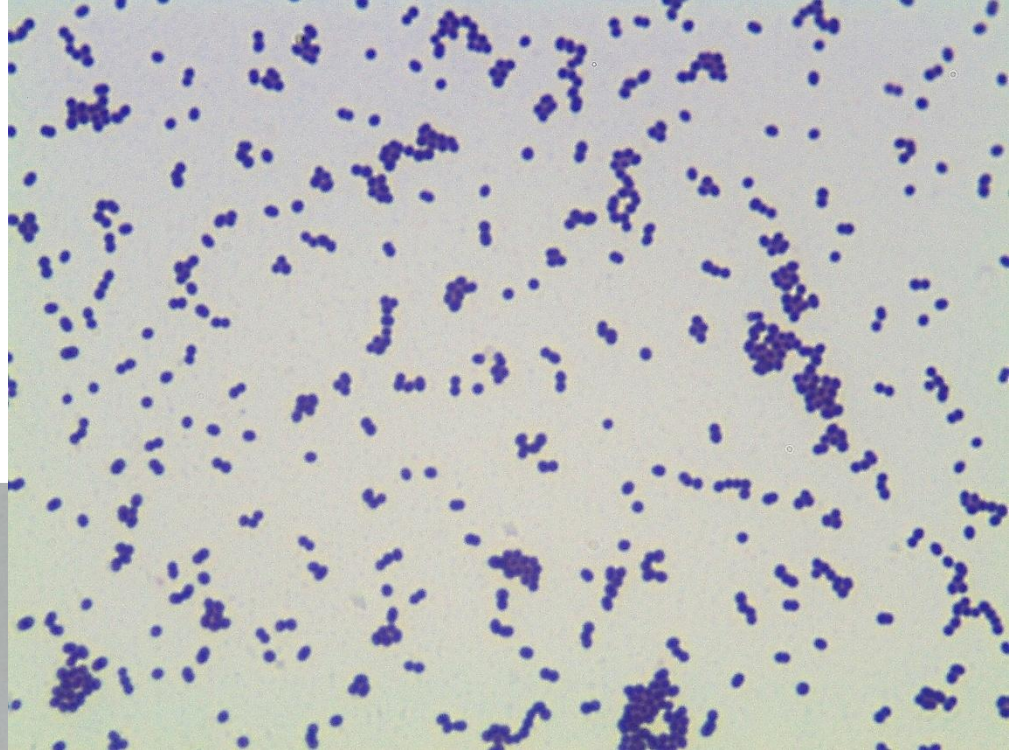
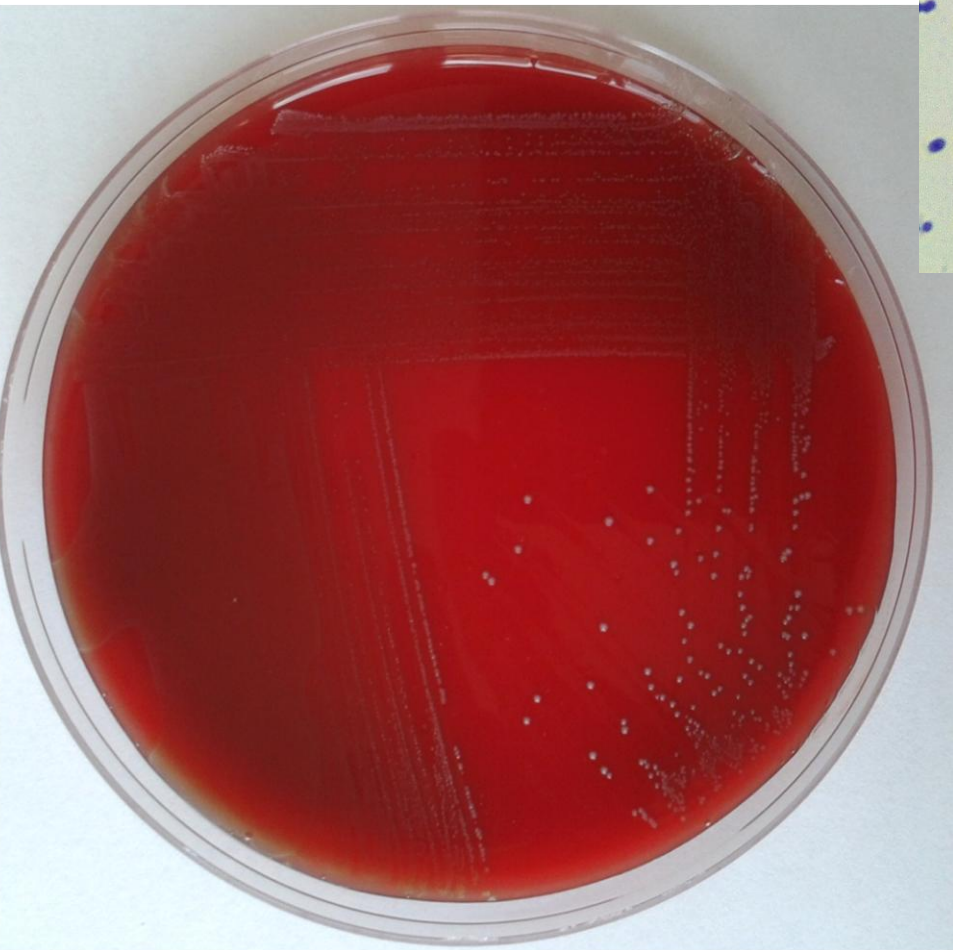


**DALŠÍ
GRAMPOZITIVNÍ
BAKTERIE**

Rod *Enterococcus*

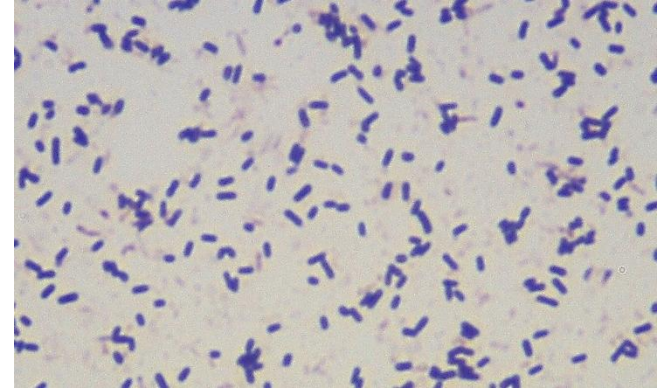


- G+ koky v drobných shlucích či krátkých řetízcích
- Vysoká odolnost – 6,5 % NaCl, žluč, azid sodný, pH 4,8 - 11
- Jak napovídá rodové jméno – součástí **normální mikroflóry střeva**.
- Jsou jedním z nejběžnějších původců močových infekcí
- Nozokomiální infekce (rány, sepse, endokarditidy, implantáty aj.)
- Primární rezistence k cefalosporinům
- Nejčastěji *E. faecalis* (90%),
E. faecium a další



Rod *Listeria*

- G+ krátké tyčinky
- vyskytují se v prostředí a potravinách (mléko, sýry, zelenina, maso, půda, listí...),
- Vyznačují schopností růst při **nízkých teplotách** (4 °C) (pohyb) a vysokých koncentracích NaCl či žluči
- Kataláza +
- *L. monocytogenes*, *L. ivanovi*,
L. innocua aj.



Listerióza (*L. monocytogenes*)

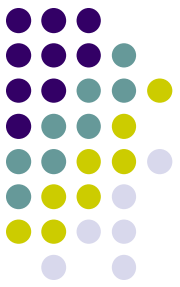
- zřídka vyvolává viditelné infekce dospělých (gastroenteritida, horečnaté onemocnění)
- je však nebezpečná pro těhotné a novorozence (bakteriémie, meningitida, pneumonie),
a pro oslabené osoby (infekce ran, sepse, meningitidy)



Listeria

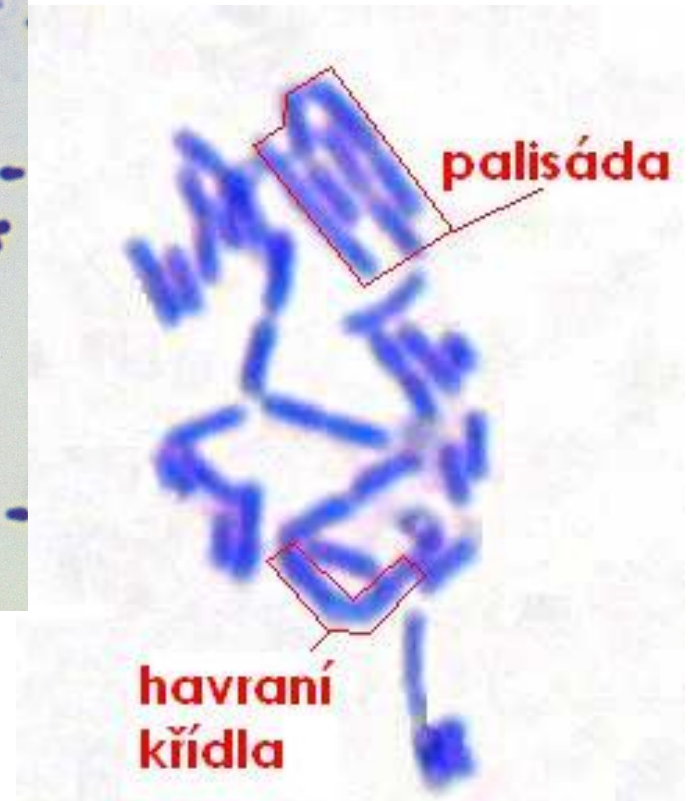
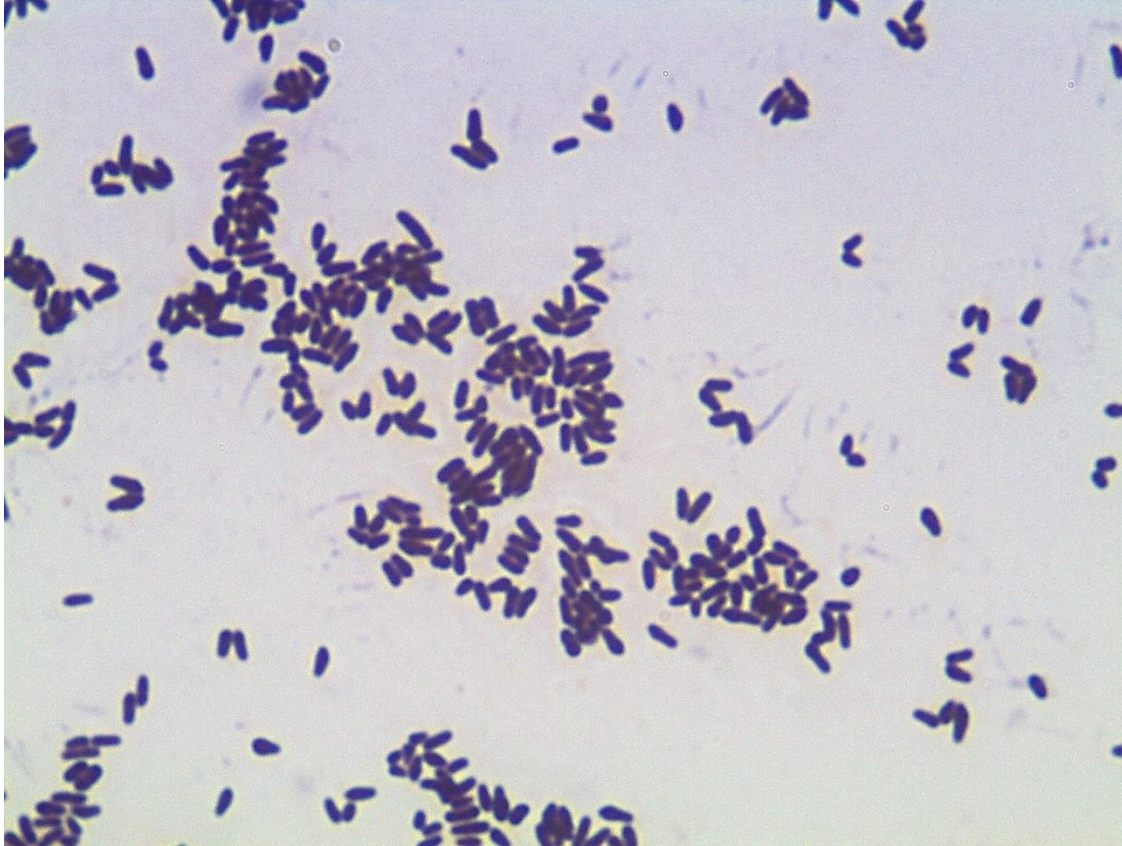
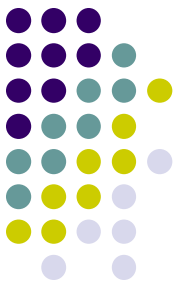


Korynebacteria



- Korynebakteria jsou G+ tyčinky kyjovitého tvaru (koryné = kyj), některá jsou pleomorfní (různotvará), popřípadě i nekonstantně probarvená (gramlabilní)
- Odolné k vyschnutí a NaCl, nerostou však na MH bez krve
- Kataláza +
- Patří sem ***C. diphtheriae*** -původce záškrtu, dnes díky očkování u nás vzácný
- Skupina tzv. **nedifterických** (= nezáškrťových) – jsou normální součástí běžné flóry na kůži, spolu se stafylokoky a kvasinkami

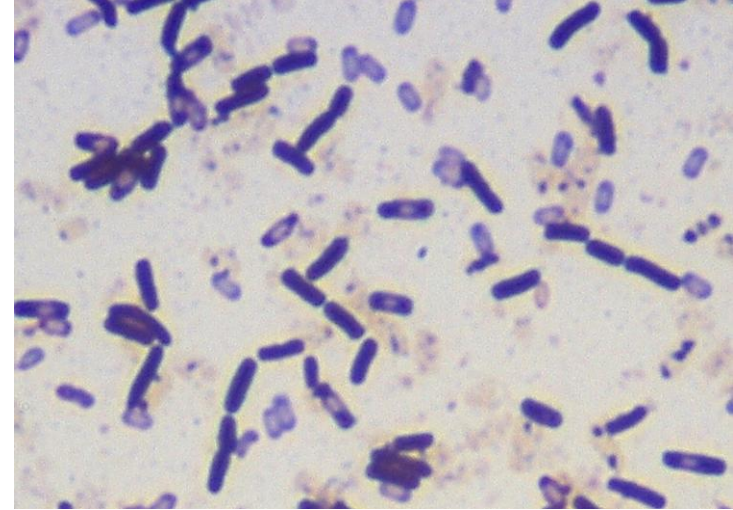
Korynebakteria- tvary



Rod *Bacillus*

- G+ mohutné tyčinky s rovnými konci
- Tvoří jednu endosporu, pohyblivé
- Kataláza +

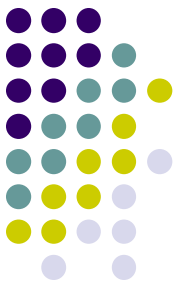
- Většina příslušníků rodu *Bacillus* jsou neškodné mikroby, jejich spóry se vyskytují ve vnějším prostředí. Pokud se vyskytnou v kultivaci klinického vzorku, jde pravděpodobně o kontaminaci





- *Bacillus anthracis* se stal populárním při teroristických hrozbách. Obligátní patogen, původce veterinárního onemocnění – **antraxu** – byl jednou z prvních nákaz, proti nimž byla zkoušena (Pasteurem) vakcinace.
- *Bacillus cereus* je původcem enterotoxikóz a infekcí oka. U imunokompromitovaných osob- infekce ran, endokarditidy, sepse.
- *Bacillus stearothermophilus* a *Bacillus subtilis* se vzhledem ke své schopnosti přežívat při velmi vysokých teplotách používají jako indikátory účinnosti sterilizátorů.





Léčba infekcí způsobených enterokoky a G+ tyčinkami

- Na **enterokoky** ani na **listerie** neplatí cefalosporiny. U *E. faecalis* je výhodný **ampicilin**, u *E. faecium* je primární rezistence.
- Dále se používá **ko-trimoxazol**, **doxycyklin**, jako rezerva **vankomycin**.
- V poslední době se zejména u hematologických pacientů objevují epidemiologicky závažné **vankomycin rezistentní kmeny – VRE**. Zde zabírá pouze nové antibiotikum – **linezolid**.

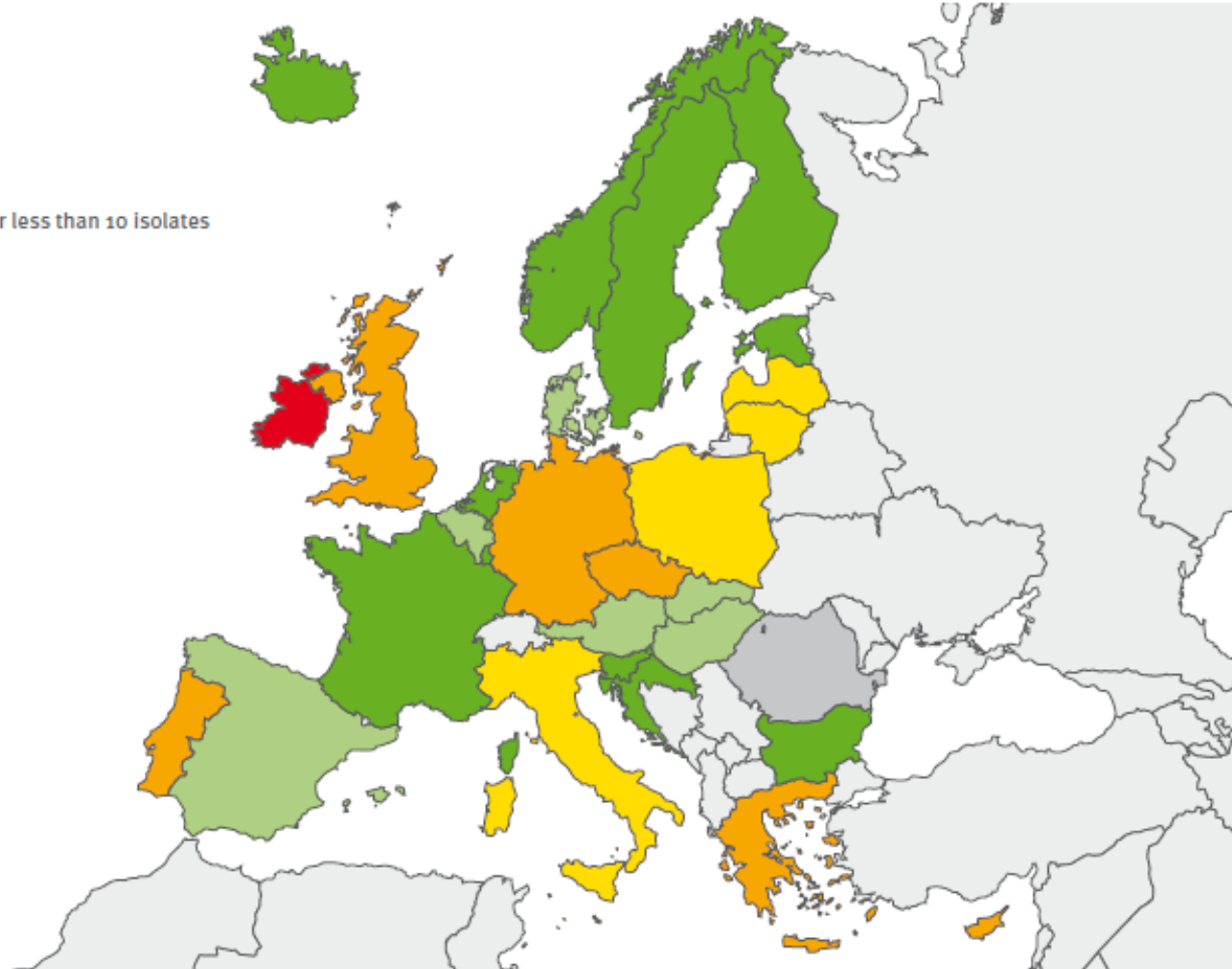
VRE 2012



Figure 3.46. *Enterococcus faecium*. Percentage (%) of invasive isolates resistant to vancomycin, by country, EU/EEA countries, 2012

- < 1%
- 1% to < 5%
- 5% to < 10%
- 10% to < 25%
- 25% to < 50%
- ≥ 50%
- No data reported or less than 10 isolates
- Not included

- Non-visible countries
- Liechtenstein
 - Luxembourg
 - Malta

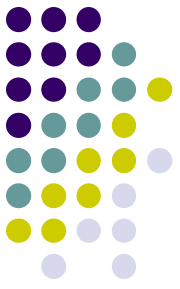


Diagnostika



	Enterokok	Listerie	Koryneform.	Bacillus
Mikroskopie	G+ koky v. krátkých řetězcích	G+ tyčinky řetězcí se jako špekáčky	G+ tyčinky skládající se vedle sebe (palisády)	G+ robustní tyčinky, sporulující (nemusí být viditelné)
Kultivace	šedavé, velké asi jako <i>Str. agalactiae</i> , většinou bez hemolýzy, ale i s virid. či h.	podobné enterokokům, hemolýza je či není	velmi drobné kolonie podobné mouce	plst'ovité kolonie, někdy i výrazná hemolýza

Diagnostika- enterokoky



- **Biochemické testy:** kataláza negativní, možné je biochemické rozlišení, důležité štěpení arabinosy (*E. faecalis* neštěpí, půda je zelená, *E. faecium* štěpí, žlutne)
- **Citlivost** lze testovat na běžném MH agaru. Existují i půdy na screening VRE

Diagnostika-G+ tyčinky

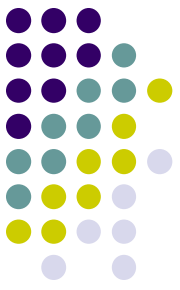


- Biochemické testy: kataláza u všech tří pozitivní. Biochemicky lze rozlišovat koryneformní tyčinky navzájem (API Coryne, Remel)
- Růst při nízkých teplotách a vysokých koncentracích NaCl se používají v diagnostice listerií
- Průkaz antigenu – například průkaz difterického toxinu Elekovým testem

Úkol 1: Barvení kultur podle Grama



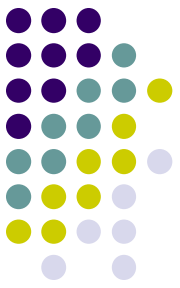
- Obarvěte podle Grama osm podezřelých kmenů (pro zopakování: natřít, nechat uschnout, fixovat plamenem, poté barvit: Gram 30 s, Lugol 30 s, alkohol 15 s, voda, safranin 60 s, voda, osušit, imerzní obj.)
- Rozlišíte bakterie podle tvaru a typu buněčné stěny. Pro vzájemné rozlišení G+ koků a vzájemné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



Úkol 2: Kultivace na krevním agaru

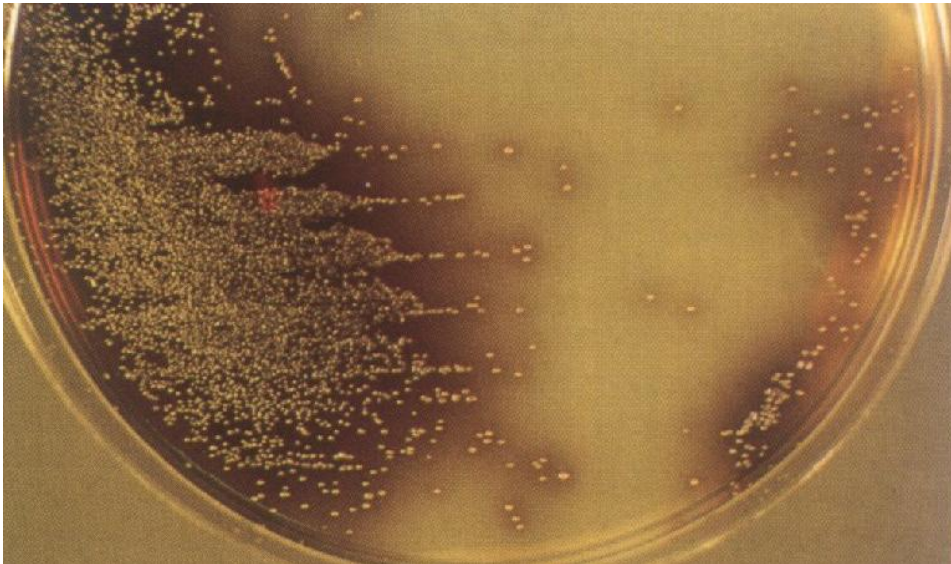
- **Popište všechny kmeny, které se v úkolu č. 1 barvily jako grampozitivní.** Popište velikost, barvu, tvar, profil a hemolytické vlastnosti. Podle možnosti popište i další (povrch, okraje, konzistence, průhlednost, zápach).
- Pokuste se odhadnout, který z G⁺ koků by mohl být stafylokok (bílý, máslovité kolonie)
- Pokuste se odhadnout, která z G⁺ tyčinek je *Listeria*, *Bacillus* a *Corynebacterium*

Úkol 3: Kataláza, Slanetz Bartley a žluč-eskulin

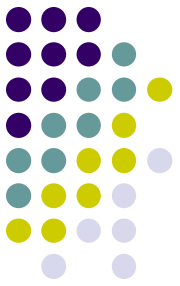
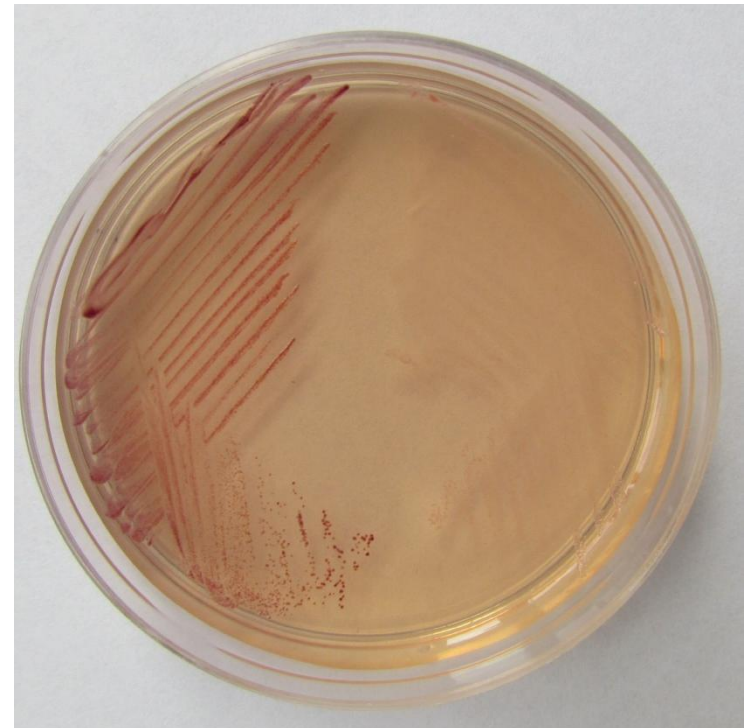


- **3a:** Proved'te u všech grampozitivních kmenů katalázový test
- **3b:** Zjistěte, které kmeny rostou na Slanetz-Bartelyho půdě s azidem sodným. To by měly být enterokoky.
- **3c:** Na žluč-eskulinovém agaru roste ještě jeden kmen navíc. Ten, který zde roste, a přitom neroste na půdě s azidem sodným, by měl být *Listeria*

Žluč-eskulinový agar



Slanetz-Bartley



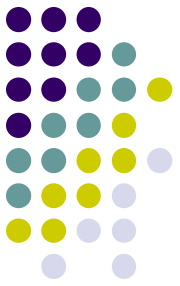


Úkoly 4: rozlišení enterokoků

- **V úkolu 4a** sledujte výsledek arabinózového testu (kolonie se smísily s arabinózou a indikátorem, a nechaly inkubovat)

Zelená	-	<i>E. faecalis</i>
Žlutá	+	<i>E. faecium</i>





- **V úkolu 4b** odečtete výsledek EnCoccus testu.
- Má jen osm reakcí.
- Určete výsledek pomocí návodů na svých stolech.
- **% pravděpodobnosti a index typičnosti nevyplňujte, protože nemáte jak je zjistit.**

Úkol 5: Další testy k listeriím

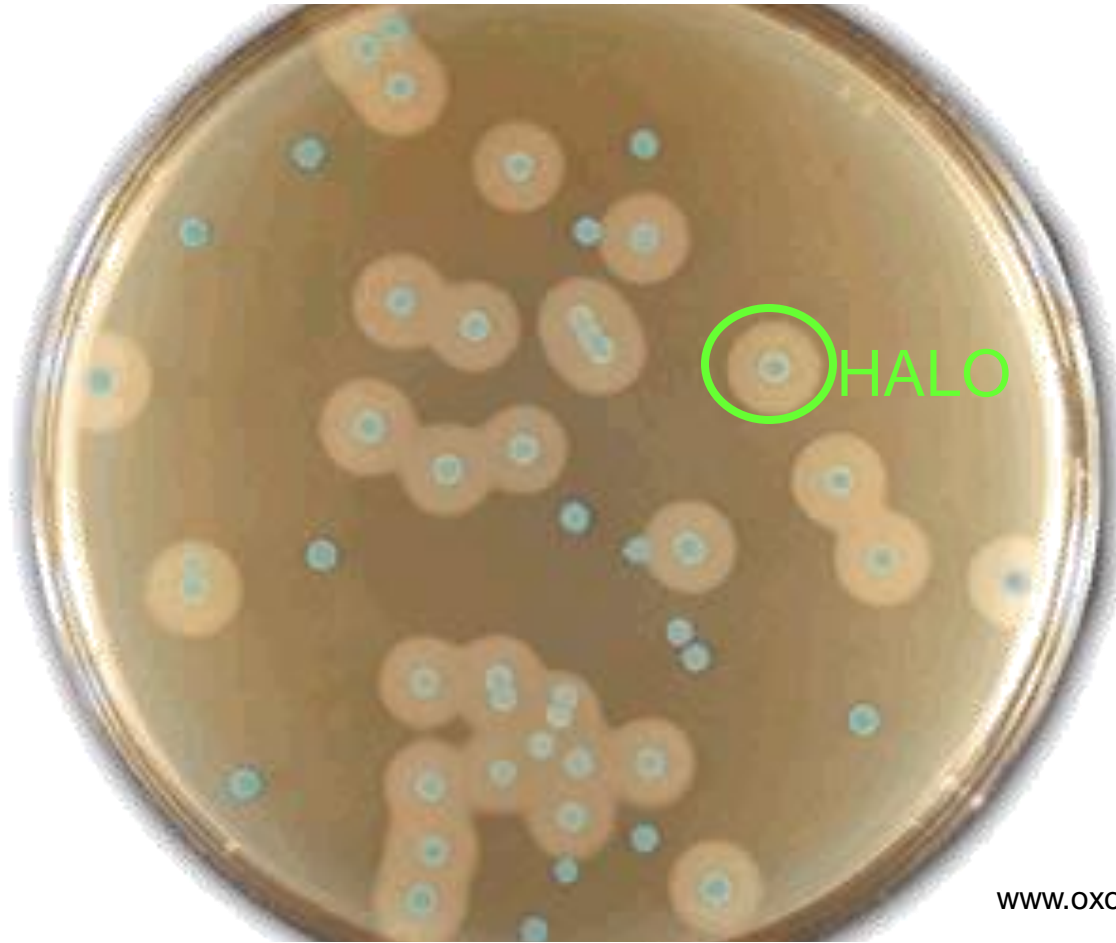


- 5a – Růst při 4 °C – Ze všech námi studovaných G+ tyčinek jen *Listeria* je schopna růst při nízkých teplotách. To jí umožňuje šíření v sýrárnách. Z jiných bakterií (ne G+ tyčinek), roste při chladničkových teplotách několik dalších druhů (*Yersinia*, některé druhy pseudomonád apod.)

5b Chromogenní půda na listerie



ALOA



www.oxid.com

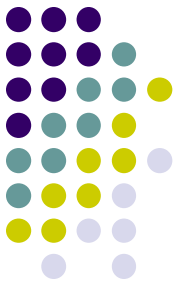
Existují různé chromogenní půdy k diagnostice listerií. Ta, která je na obrázku, se vyznačuje modrým zbarvením všech listerií; patogenní druhy navíc mají kolem sebe halo (odlišně zbarvené okolí kolonie).

Úkol 6a: Odečtěte podle této tabulky



- Všimněte si, které bakterie testujeme na MH a které na MH s krvinkami.

Antibiotikum	Zkratka	Referenč. zóna
Ampicilin (aminopenicilin)	AMP	10 mm
Nitrofurantoin	F	15 mm
Vankomycin	VA	12 mm
Tetracyklin	TE	19 mm
Q+D	QD	22 mm
Gentamicin	CN	8 mm



- Úkol 6b: Demontrace testu citlivosti u kmene *Enterococcus faecium*

- Úkol 6c: Demontrace kmene VRE

Úkol 7: Elekův test



Jde o detekci toxinu. Používáme papírek se specifickým antitoxinem, který je položen na povrch agaru, poté se očkují testované kmeny. Pozitivní výsledek = precipitační linie.

