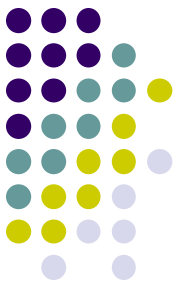


# Enterobakterie

P04





# Rod *Enterobacteriaceae*

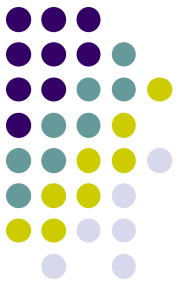
- Gramnegativní tyčinky, většinou pohyblivé (až na *Shigella*, *Klebsiella* a *Y. pestis*)
- Oxidáza negativní, (kataláza +)
- Biochemicky značně aktivní (záleží na patogenitě)
- Komenzálové, saprofyté či patogeny střevní i mimostřevní (obligátní i oportunní patogeny)
- Klinicky nejdůležitější čeleď gramnegativních tyčinek

# Primární patogeny z řad enterobakterií



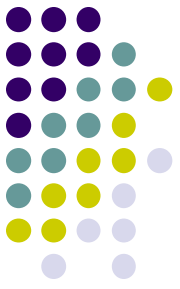
- Patogeny způsobující celkové infekce:
  - *Yersinia pestis* (mor)
  - antropopatogenní serovary salmonel (serovary Typhi, Paratyphi A, B a C – břišní tyfus)
- Závažné jsou ale i obligátní patogeny působící zpravidla střevní infekce. I u nich je však riziko sepse, hlavně u oslabených osob
- Týká se to rodů *Salmonella* (zoopatogenní), *Shigella* a *Yersinia*

# Podmíněně patogenní enterobakterie



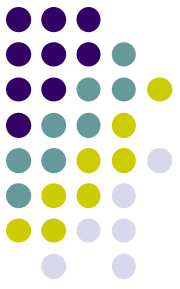
- *Escherichia*
- *Klebsiella*
- *Proteus*
- *Serratia*
- *Enterobacter*
- Atd.

# *Yersinia pestis*



- Původce moru
- Přenašečem je blecha morová (*Xenopsylla cheopsis*), zdrojem jsou krysy, potkani, popřípadě jiní hlodavci
- Tři formy onemocnění:
  - Dýmějový (bubonický) m.
  - Plicní forma
  - Septická forma

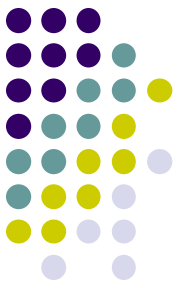
Další druhy – *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*  
- onemocnění zažívacího traktu



# Mor (*Yersinia pestis*)



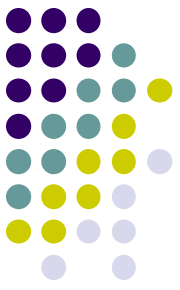
# Antropopatogenní serovary salmonel



- Sérovary Typhi a Paratyphi
- Septická onemocnění- původci **břišního tyfu** (popř. paratyfů)
- Vstupní branou infekce je trávicí trakt, zdrojem nákazy je jen člověk
- Příznaky- vysoká horečka a bolest hlavy (hlavnička)



# Zoopatogení salmonely

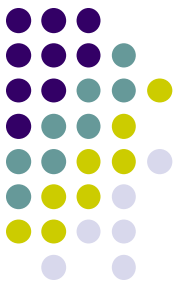


- Patří mezi původce bakteriálních střevních nákaz (tzv. salmonelózy)
- Sérovary **Enteritidis**, Typhimurium, Infantis atd.
- Fekálně- orální infekce— kontaminované potraviny
- Rezervoárem infekce— různí obratlovci





# Salmonely a shigely



- **Salmonely** potřebují vysokou infekční dávku. Musí se tedy pomnožit v nějaké potravíně. Infekce jsou téměř výhradně z potravin.
- **Shigelám (původci tzv. bacilárních úplavic= nemoc špinavých rukou)** naproti tomu stačí malá infekční dávka (asi 100 bakterií), takže se snadno přenesou špinavýma rukama, klikou od záchodu nebo kontaminovanou vodou.



Endo



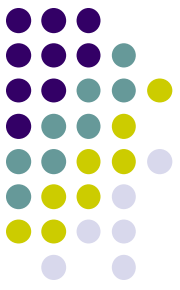
XLD



KA

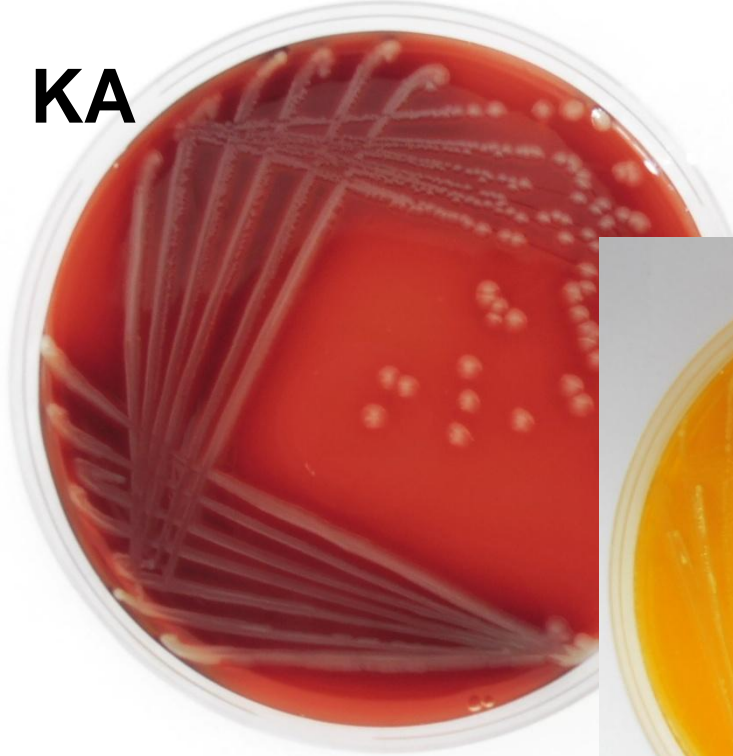
MM

# *Escherichia coli*

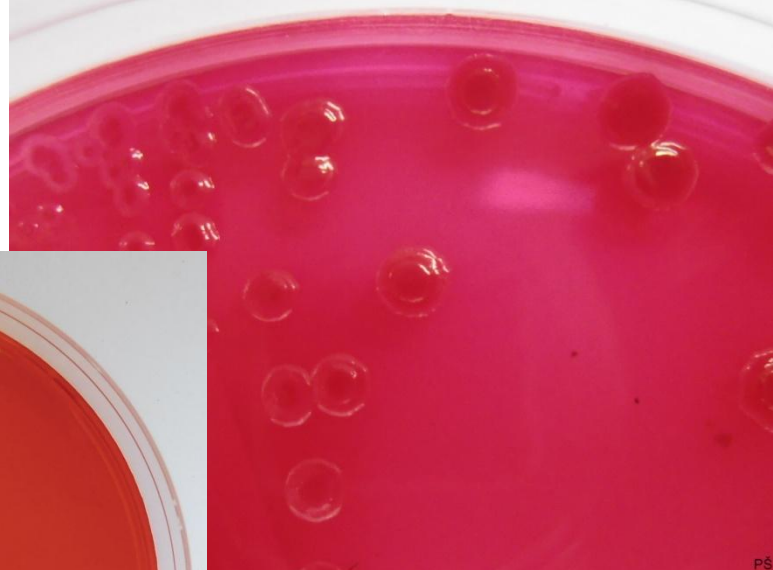
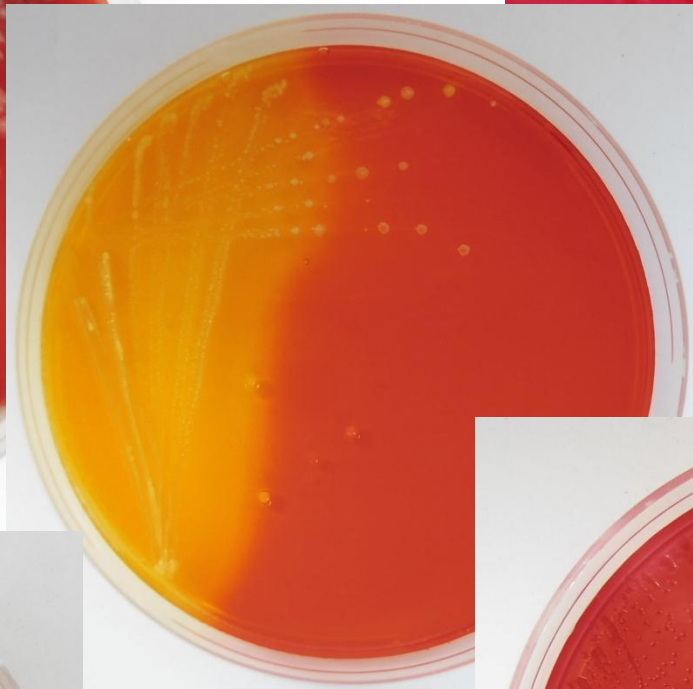


- Je jednou z nejdůležitějších součástí střevní mikroflóry, kde je zdraví prospěšná
- Uvnitř střeva
  - EPEC (enteropatogenní EC)
  - ETEC (enterotoxické EC)
  - EIEC (enteroinvazivní EC)
  - STEC (shiga-toxigenní EC), tato skupina také zahrnuje EHEC – enterohemorhagické *E. coli*)
  - EAggEC (enteroaggregativní *E. coli*)
- Mimo střevo
  - UPEC (uropathogenní *E. coli*)
  - Kmeny způsobující respirační infekce
  - Kmeny způsobující sepse, infekce ran atd.

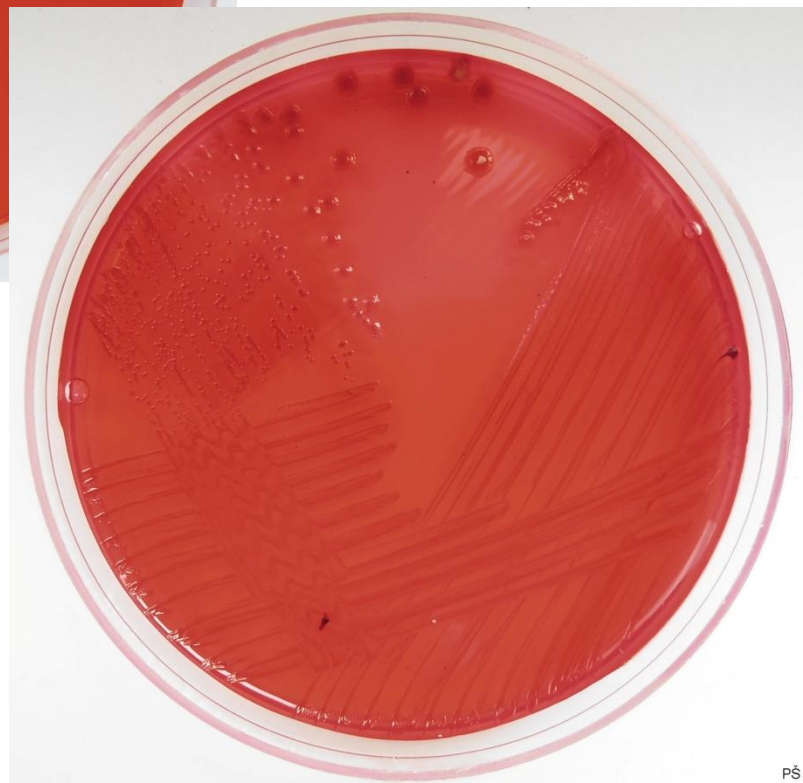
**KA**



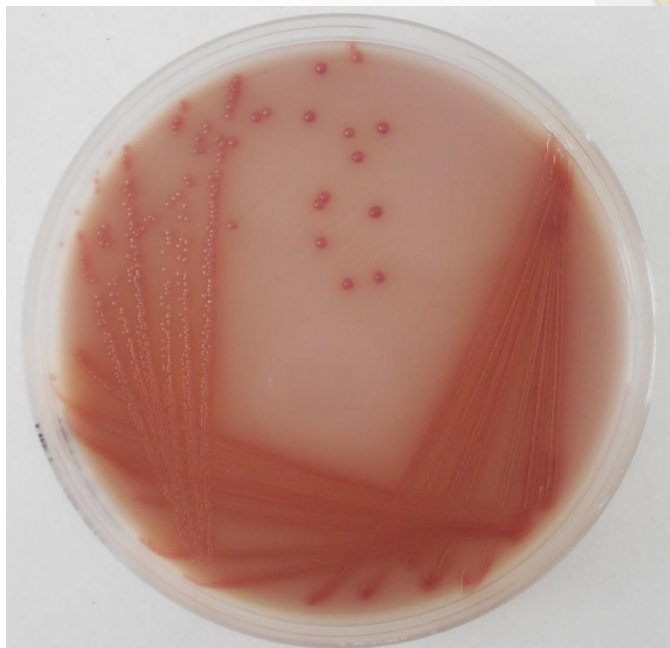
**MAL**



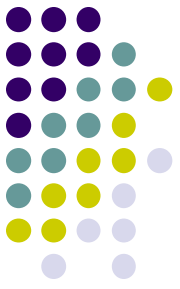
**ENDO**



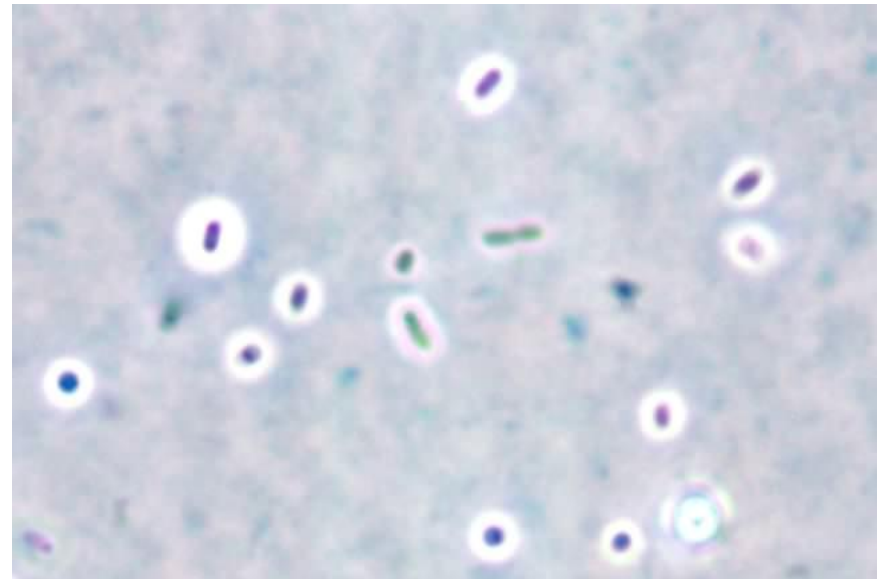
**URI**



# Rod *Klebsiella*



- Opouzdřené bakterie
- Nejvýznamnějším druhem je *K. pneumoniae*
- Významné nozokomiální patogeny
  - infekce močových cest
  - bronchopneumonie

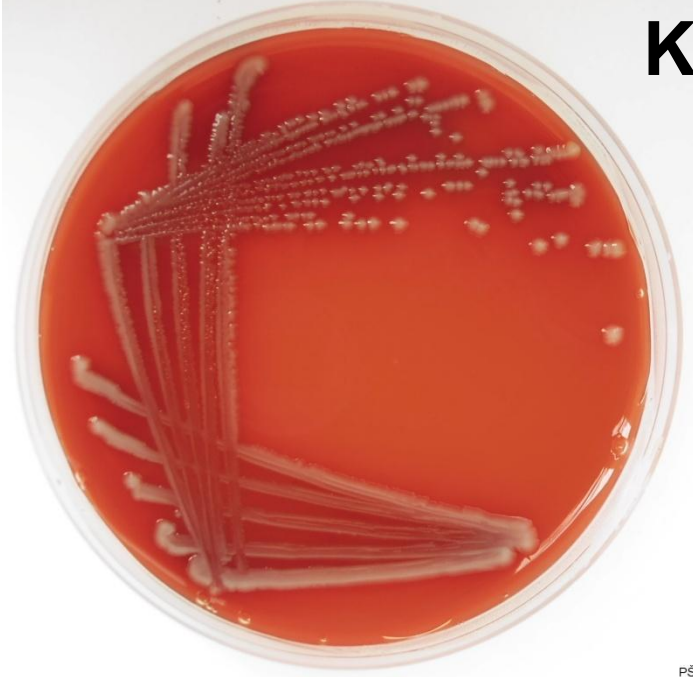


**ENDO**

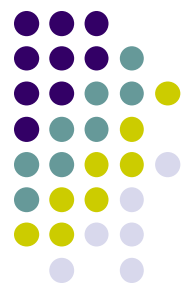


P5

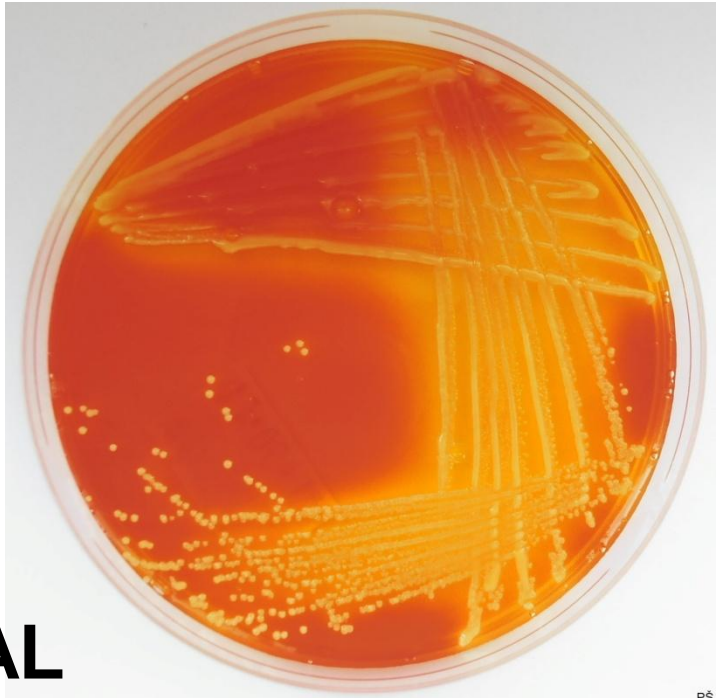
**KA**



P5

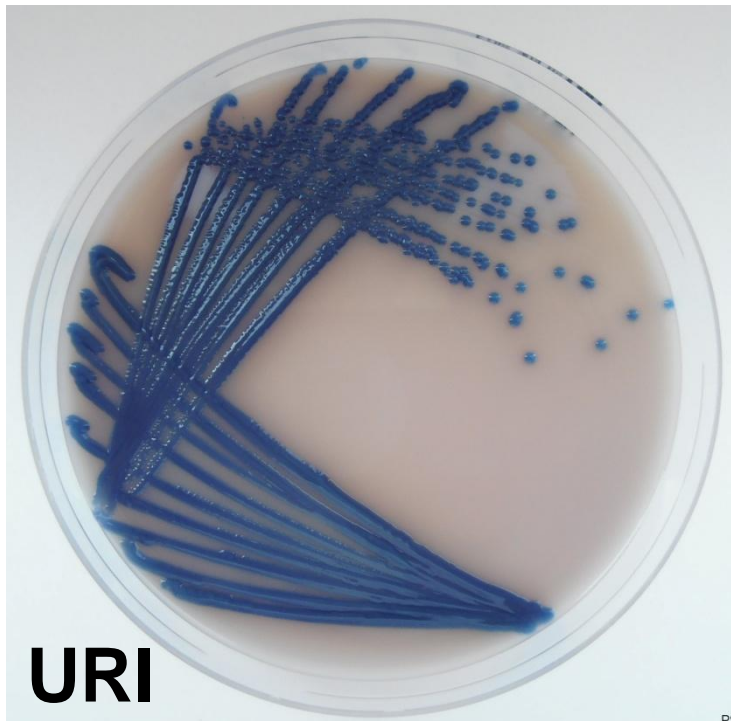


**MAL**



P5

**URI**



P5

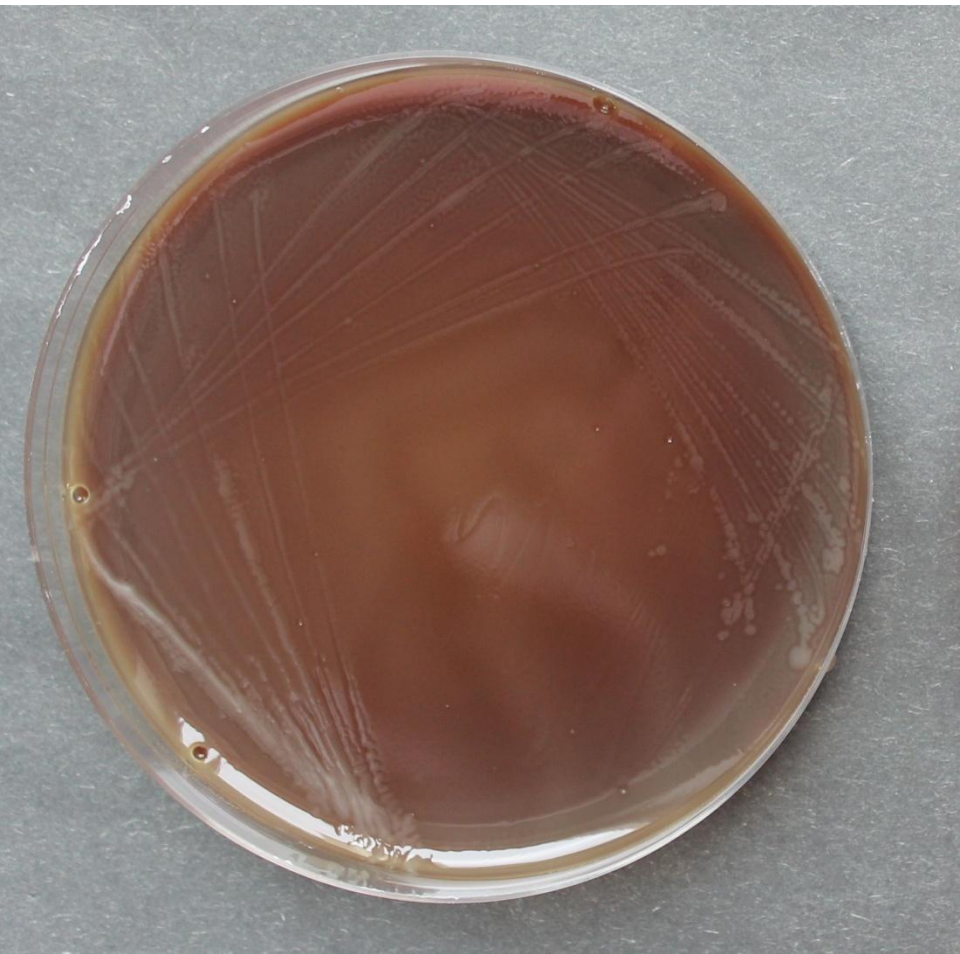
# Proteus

(*P. mirabilis*, *P. vulgaris*)

- Původci močových infekcí
- Pro protey je typické, že nerostou jen v místě inokulace, ale šíří se po povrchu agarů do stran (plazivý růst, Raussův fenomén, také fenomén příbojové vlny)



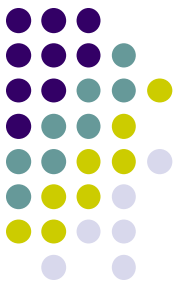
**ENDO**



**KA**



# Multirezistentní enterobakterie



- Problémem moderní doby je přítomnost kmenů enterobakterií, které jsou rezistentní na mnoho antibiotik.
- Mohou to být kmeny různých druhů. Jde zejména o produkci **širokospektrých betalaktamáz typu ESBL**, případně **ampC**.

**Figure 4.1: *Escherichia coli*: percentage (%) of Invasive Isolates with resistance to third-generation cephalosporins by country, EU/EEA countries, 2011**

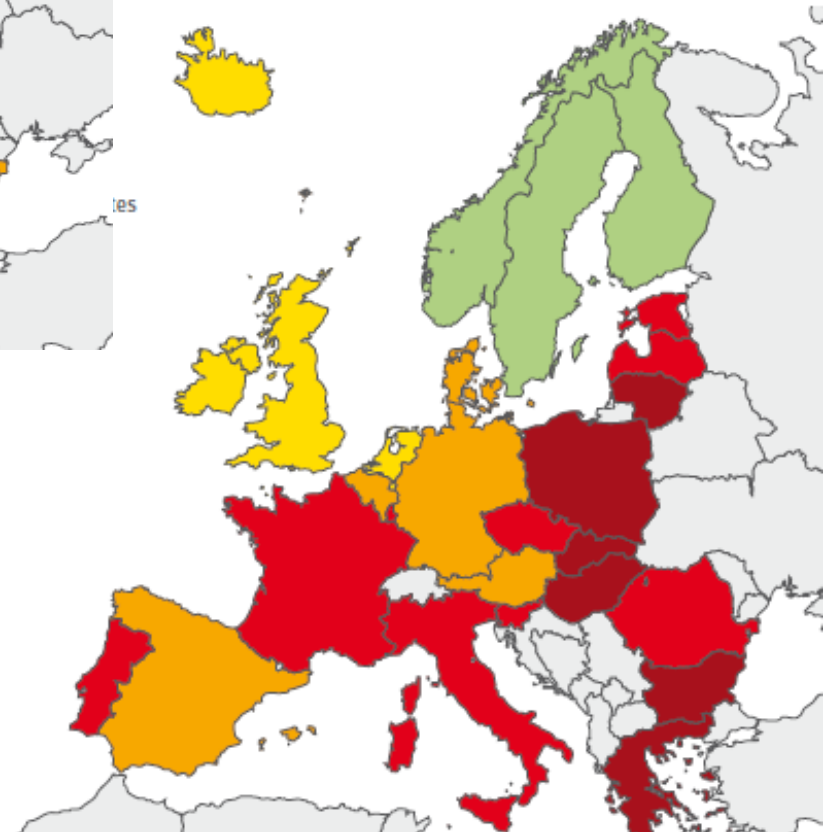


Non-visible countries  
■ Liechtenstein

# *E. coli*

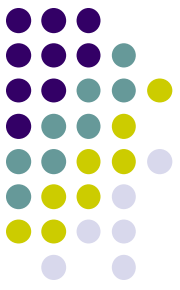


**Figure 4.2: *Klebsiella pneumoniae*: percentage (%) of Invasive Isolates with resistance to third-generation cephalosporins by country, EU/EEA countries, 2011**

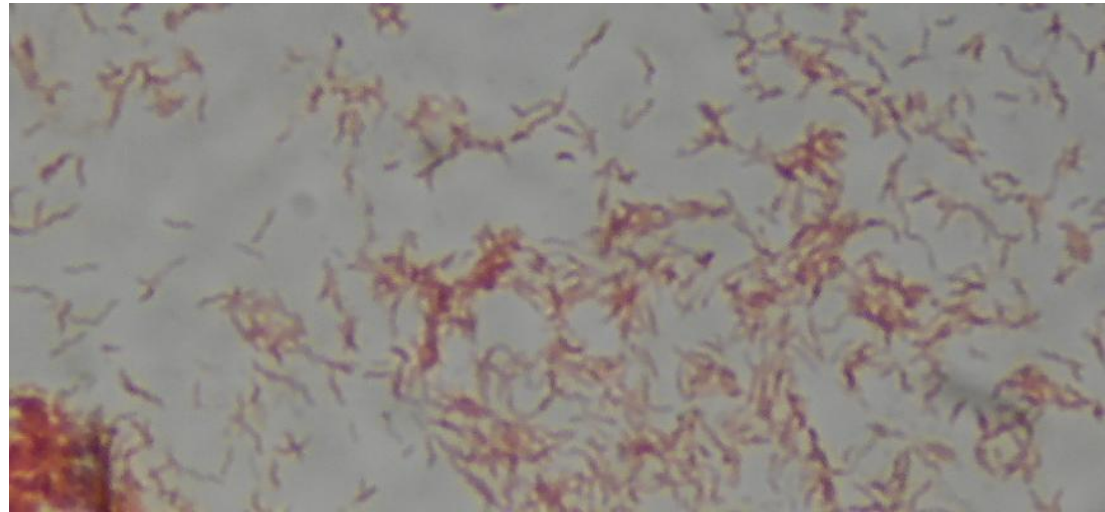


# *Klebsiella pneumoniae*

# *Campylobacter jejuni*



- Gramnegativní zahnutá tyčinka
- Vyžaduje speciální kultivaci
- Nepatří mezi enterobakterie, ale kamylobakterióza je svým průběhem a závažností srovnatelná se salmonelózou



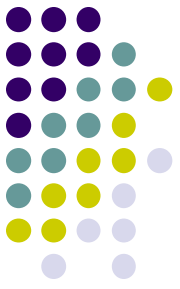
# *Helicobacter pylori*



- Peptické (tedy gastrické či duodenální) vředy jsou onemocněním, které vzniká souhrou více příčin.
- Upravuje si své mikroprostředí – alkalizuje si ho tím, štěpí močovinu (silná ureázová aktivita)
- Močovina se rozštěpí na kyselý oxid uhličitý, který vyprchá, a zásaditý amoniak, který zůstane a alkalizuje prostředí

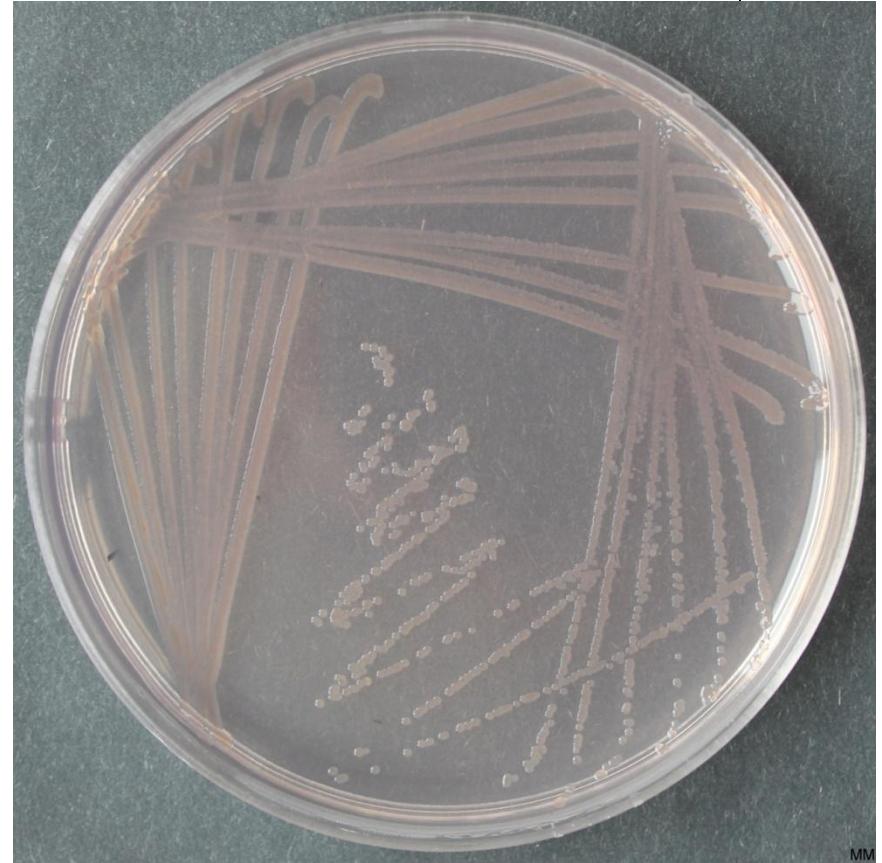
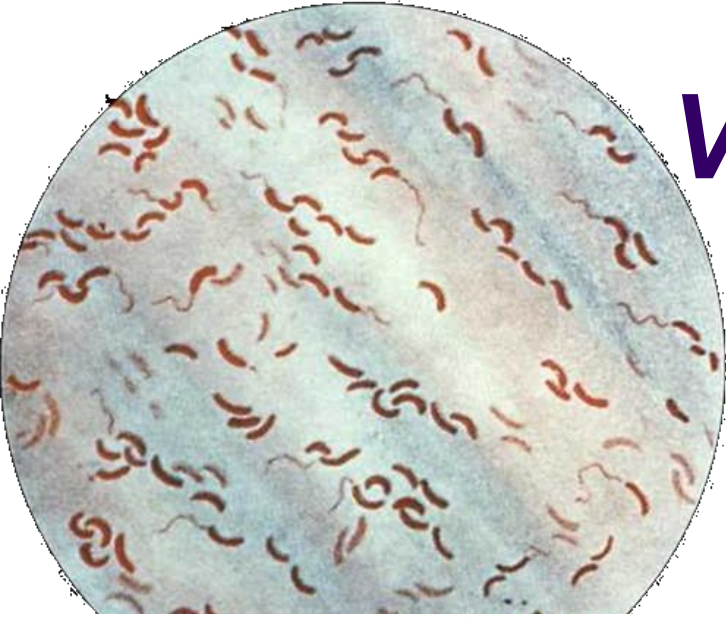
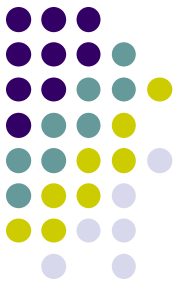


# *Vibrionaceae*

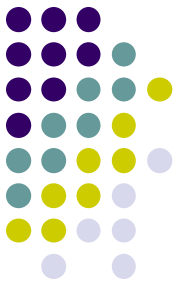


- G- krátké většinou zakřivené tyčinky, pohyblivé, oxidáza pozitivní
- Vyskytují se ve vodním prostředí teplých oblastí
- ***Vibrio cholerae*** způsobuje **cholera**, těžké průjemové onemocnění v tropech a subtropích
- **Jiní členové rodu *Vibrio*** mohou způsobovat také průjmy, ale i infekce ran. Tato tzv. „halofilní vibria“, preferují zvýšené koncentrace NaCl

# *Vibrio cholerae*



# Diferenciální diagnostika



- Gramovo barvení odliší gramnegativní tyčinky od ostatních bakterií
- Endova půda: rostou na ní z klinicky významných jen enterobakterie, příslušníci čeledi *Vibrionaceae* a gramnegativní nefermentující tyčinky
- Nefermentující odliší to, že nefermentují glukózu (např. Hajnova půda zůstává po kultivaci celá červená, nezmění vůbec barvu) *Vibrionaceae* odliší pozitivní oxidáza

# Rozlišení enterobakterií navzájem



- **Endova půda:** orientační rozlišení obligátních patogenů (většinou L-) a potenciálních patogenů (zpravidla L+)
- **Spousta dalších půd:** XLD, MAL a další na salmonely, CIN na yersinie aj.
- **Biochemické testy:** Hajnova půda, test MIU, Švejcárova plotna, ENTEROtesty aj.
- **Antigenní analýza** zpravidla sklíčkovou aglutinací



# Úkol 1: Barvení kultur podle Grama



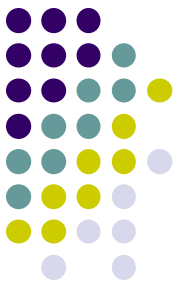
- Obarvěte podle Grama osm kmenů
- Jeden z kmenů nebude G– tyčinka.

# Úkol 2: Kultivace

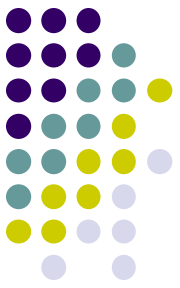
- Popište kolonie všech kmenů na **KA** a **Endově půdě**. Zvláště si všimněte toho, že některé z nich jsou laktóza negativní a jiné laktóza pozitivní



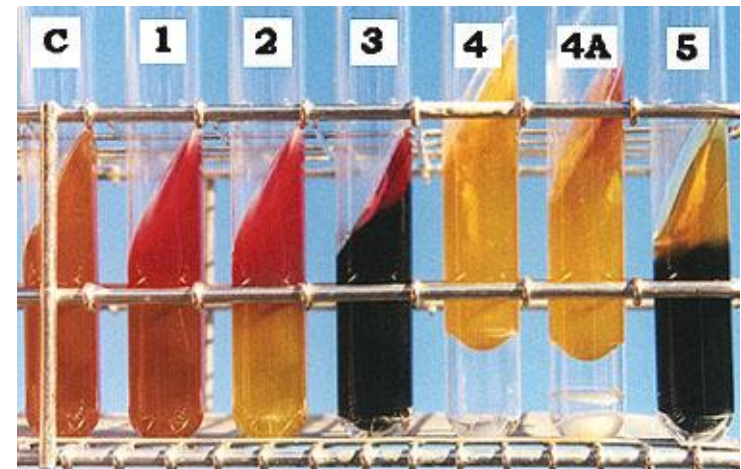
Foto O. Z.

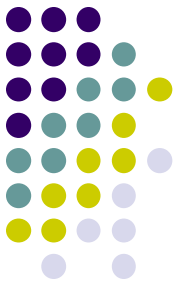


# Úkol 3a- Hajnova půda



- Barva spodní části půdy beze změny: bakterie nefermentuje glukózu (rozdíl tzv. G- nefermentující tyčky × enterobakterie)
- Spodní část **zčerná** – tvorba  $H_2S$
- Půda potrhaná, s bublinkami – tvorba plynu z glukózy
- Dolní část **žlutá**, horní **červená** – bakterie fermentuje glukózu, ale ne laktózu
- Půda celá **žlutá** – fermentuje i laktózu





**Nefermentující**

***E. coli***

***P. mirabilis***

***K. pneumoniae***

***Salmonella sp.***

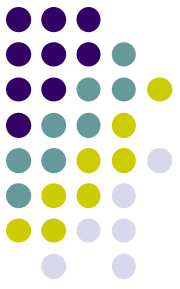


# Úkol 3b- oxidázový test

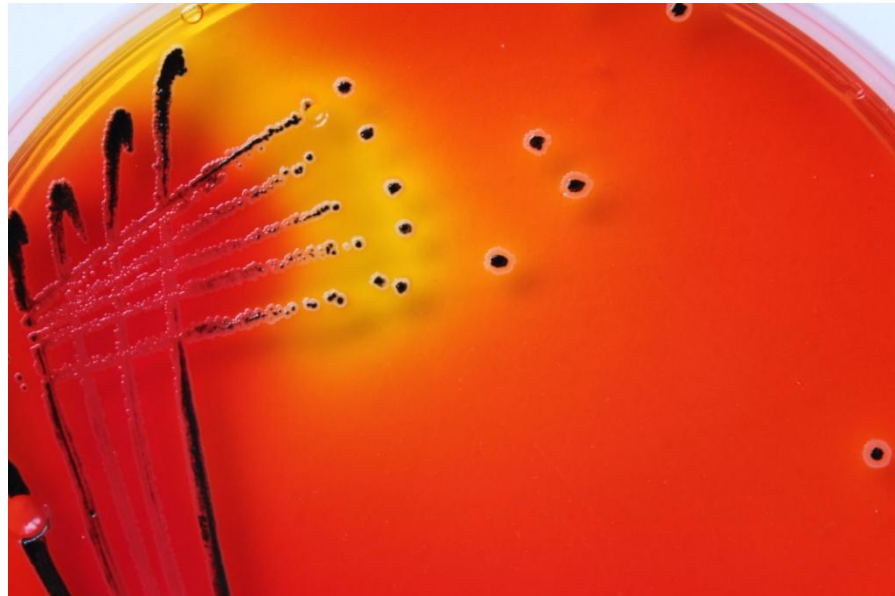


- Enterobakterie – oxidázový test negativní
- Nefermentující G- bakterie- různé

# Úkol 4a – kultivační diagnostika enterobakterií



- Na půdě XLD
  - salmonely mají bledé kolonie s černým středem jiné bakterie buď nerostou vůbec, nebo rostou málo a v koloniích jiné morfologie

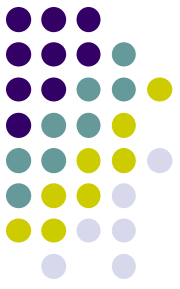


# Úkol 4b – biochemické testování enterobakterií



- Pro biochemické testování enterobakterií používáme různé testy.
- Enterotest 16
- První reakce je ONPG test (zkumavka s činidlem na stripu, jako VPT ve StaphyTestu a StreptoTestu). První řada panelu odpovídá 2. až 9. reakci, druhá řada je 10. až 17. reakce.

# Úkol 5 – antigenní analýza



- Uvědomte si, že antigenní analýza se nepoužívá zdaleka vždycky
- Použití je v zásadě dvojí:
  - U obligátních patogenů (salmonely, shigely, yersinie) pro potvrzení diagnózy a pro epidemiologické účely
  - U střevních izolátů *E. coli* v případě, že je podezření na EPEC\* nebo STEC (ostatní skupiny se zpravidla takto neurčují)

*\*zpravidla je to u dětí do dvou let*



# 5a - Aglutinace *E. coli*



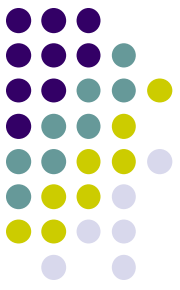
- V současnosti detekujeme 12 serovarů EPEC
- **Je-li pozitivní nonavalentní sérum (I, II, III)**
  - pokračujeme trivalentními séry (I, II a III)
  - je-li jedno z nich pozitivní, pokračujeme příslušnými monovalentními séry
- **Je-li pozitivní trivalentní sérum IV**, pokračujeme s monovalentními séry patřícími do skupiny IV.

# 5b - Aglutinace salmonel



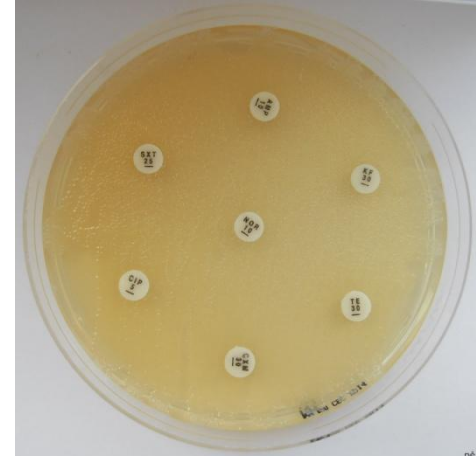
- Každá salmonela má svou specifickou antigenní strukturu. Například salmonela serovaru Enteritidis disponuje tělovými antigeny (O) **9, 12** a bičíkovým H **m**.
- Je-li tedy naše salmonela *Salmonella* Enteritidis, musí být pozitivní (aglutinace přítomna) jak při aglutinaci tělových, tak i bičíkových antigenů.

# Úkol 6 – testy antibiotické citlivosti



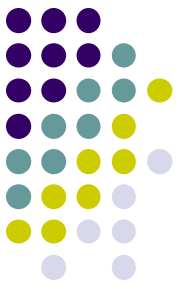
- Antibiotická citlivost se zásadně neurčuje u kmenů ze stolice. (*U bakteriálních průjmů většinou podání antibiotik paradoxně prodlužuje dobu vylučování patogena ze střeva; spíše než antibiotika se tedy užívá dieta a v rekonvalescenci probiotika.*)
- Určuje se tedy zpravidla u kmenů z moče, proto i antibiotika zahrnují léky používané k léčbě močových infekcí (např. furantoin)
- V našem případě testujme tři kmeny, které jsme určili jako *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. a *Proteus mirabilis*. Kmen salmonely netestujeme, přestože je patogenem.

# Tabulka zón citlivosti – test G1 (základní)



Antibiotikum	Zkratka	Referenční zóna
Ampicilin	AMP	14 mm
Cefalotin	KF	18 mm
Ko-trimoxazol	SXT	16 mm
Nitrofurantoin	F	11 mm
Cefuroxim	CXM	18 mm
Tetracyklin	TE	15 mm
Norfloxacin	NOR	22 mm

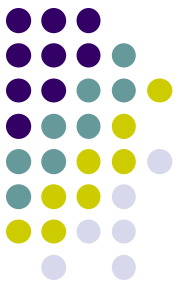
# Úkol 7: Diagnostika kamylobaktera



- **Kamylobaktera** si s předchozími bakteriemi nespletete. Neroste na běžných půdách, navíc jde o zahnutou tyčinku
- **Prohlédněte si kultivační výsledky** kultivace a zapište popis do protokolu
- **Prohlédněte si také oxidázový test**

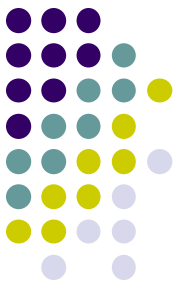


# Několik poznámek k diagnostice kampylobakterů



- Kampylobaktery vyžadují v zásadě čtyři věci:
  - Svoji černou půdu –říkáme jí běžně „půda pro kampylobaktery“
  - Zvýšenou teplotu na cca 42 °C. Jsou to totiž primárně ptačí patogeny a ptáci mají vyšší tělesnou teplotu
  - Zvýšenou tenzi CO<sub>2</sub>
  - Prodlouženou dobu kultivace – nikoli 24, ale 48 hodin

# Úkol 8: Ureázový test v diagnostice helikobaktera



- *Helicobacter* také neroste na běžných půdách. Potřebuje asi pět dní na své speciální půdě, než je viditelný růst.
- Velice typické je štěpení močoviny. Na rozdíl od jiných biochemických testů v mikrobiologii zde můžeme pracovat přímo se vzorkem (žaludeční tkáně) a nikoli s kmenem. V úkolu 8 uvidíte rozdíl mezi pozitivním a negativním výsledkem.

# Úkol 9: diagnostika *Vibrionaceae*



- V **mikroskopii**, *Vibrio* je zahnutá tyčinka (podívejte se na obrázek na další obrazovce a zakreslete)
- Pro **kultivaci** používáme pevnou půdu TCŽS (thiosíran-citrát-žluč-sacharóza) a alkalickou peptonovou vodu (tekutá půda)
- Pro **biochemickou identifikaci** používáme týž Enterotest 16 jako pro enterobakterie, ale musíme použít jinou matici (v kódové knize či v počítači)
- **Antigenní analýzou** odhalíme dva hlavní serovary *Vibrio cholerae*: O1 a O139.
- **Detailnější diagnostika uvnitř serovaru O1** (na biotypy Classic a El Tor) vyžaduje další biochemické testování



*Vibrio* sp.

