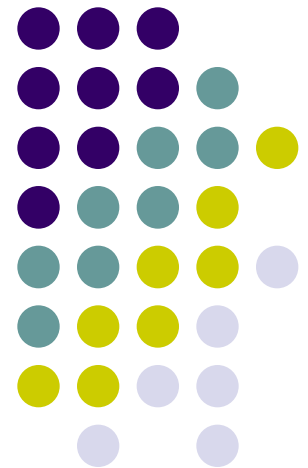


P06

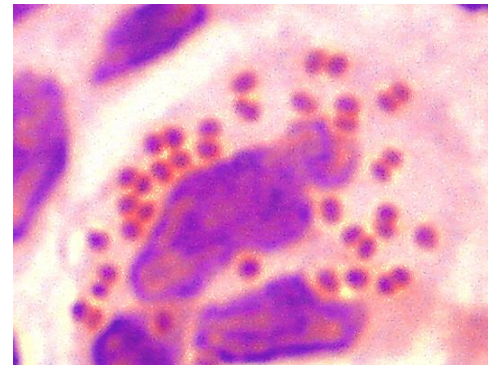
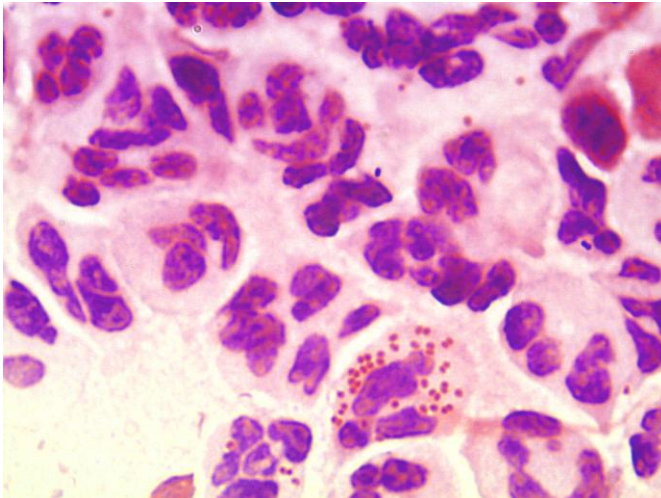
**Další gramnegativní
koky a tyčinky**



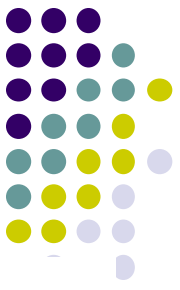
Neisserie



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



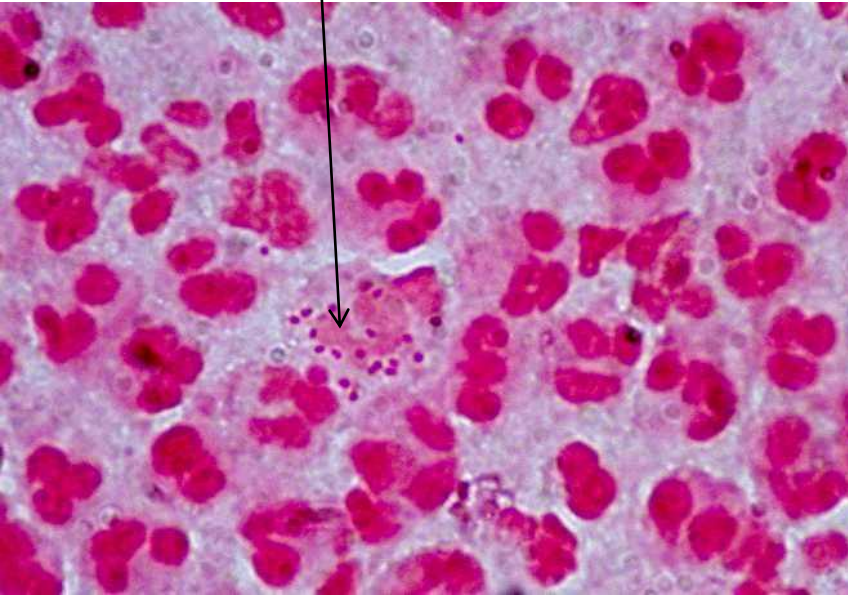
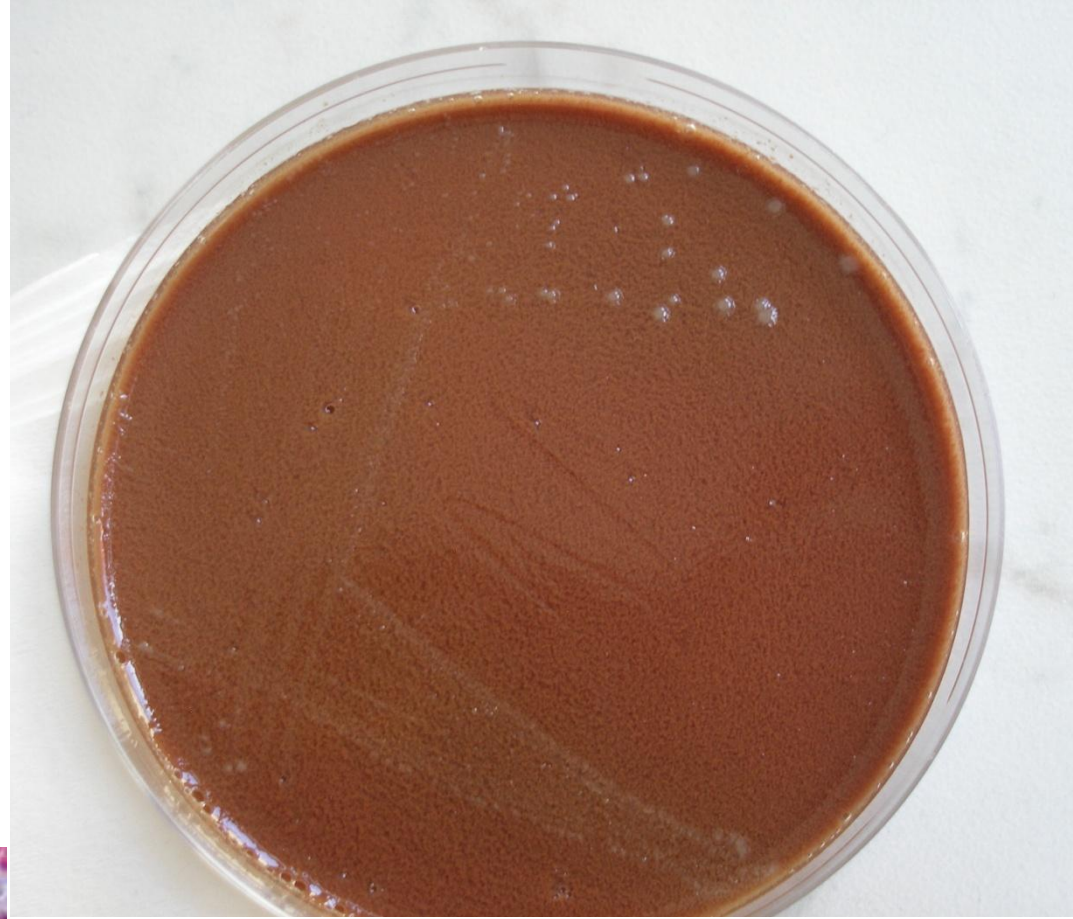
Neisseria gonorrhoeae (gonokok)



- Původce kapavky, člověk je jediným hostitelem
- Citlivý na světlo a chlad, na vyschnutí
- Přenos pouze přímým kontaktem (pohlavním stykem)
- Kapavka se projevuje jako zánět uretry, u žen také cervixu;
popř. perinatální přenos (novorozenecká keratokonjunktivitida)
- Projevuje se hnisavým výtokem, u žen často asymptomatická

Gonokoky

- rostou jen na čokoládovém agaru
- Intraleukocytární koky



Neisseria meningitidis

- 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.**



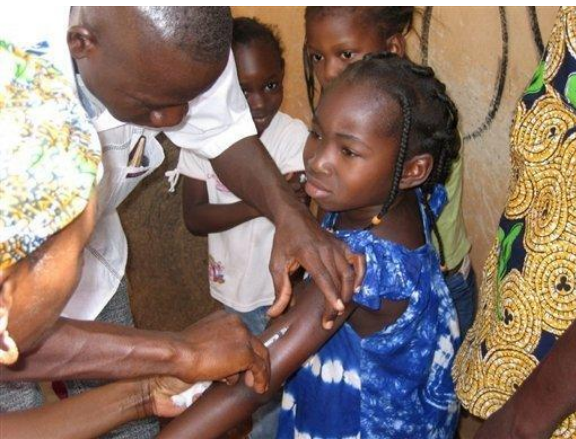
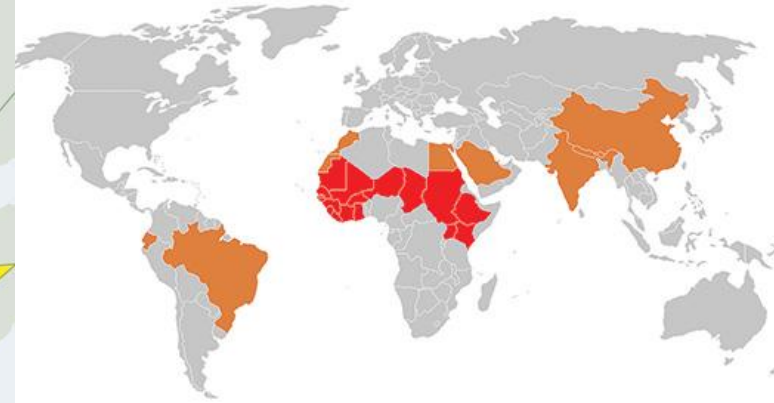
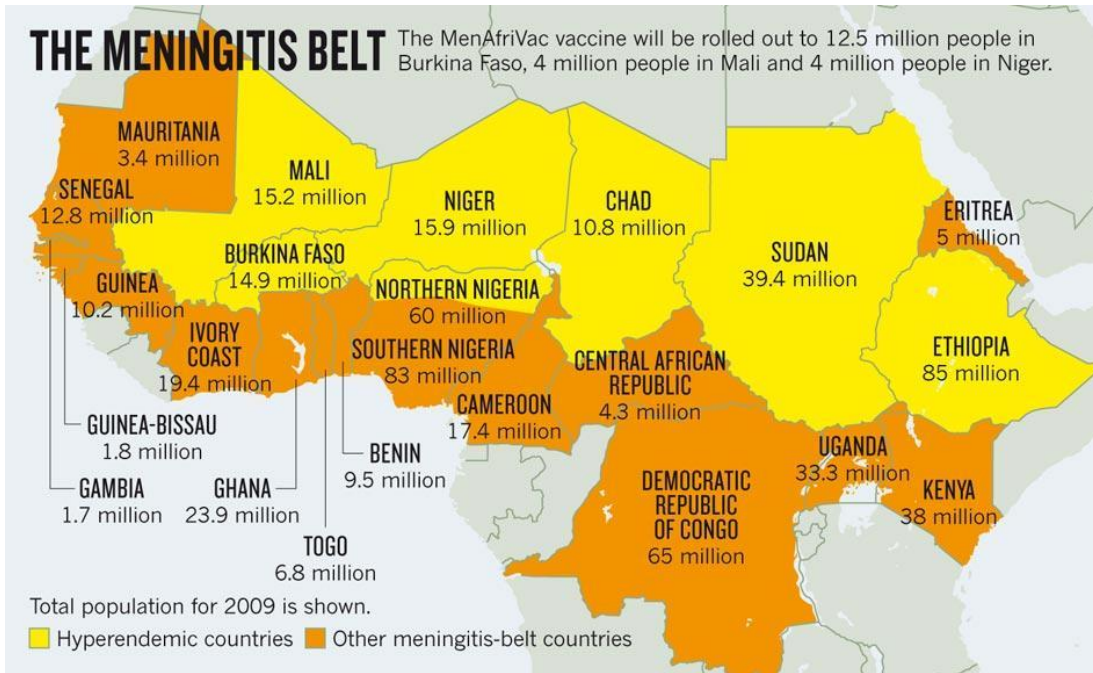
Invazivní meningokoková onemocnění (Meningokoková meningitida, sepse)



- 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



Meningokoková meningitida je celosvětově velmi závažnou nákazou



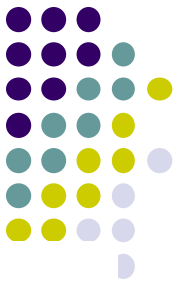
„Meningitis belt“, kde se hodně vyskytuje meningokoková meningitis

Neisserie-rozdělení



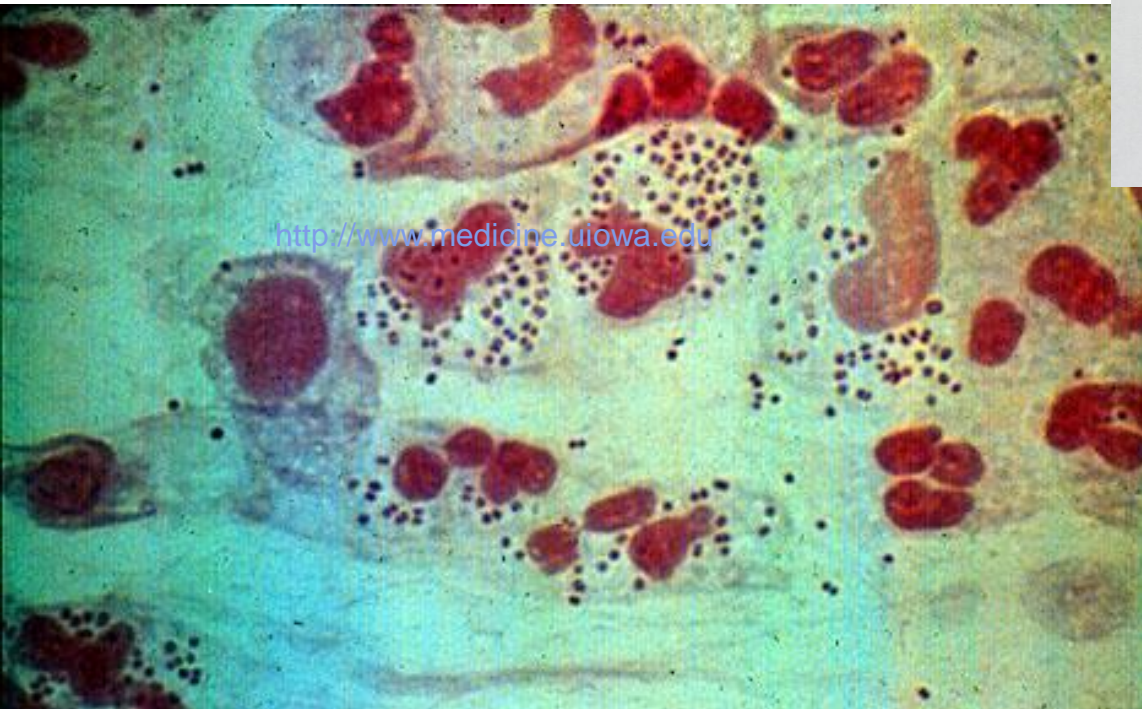
	In vivo	In vitro
Gonokok	Nejchoulostivější, přenos jen sexuální	Nejchoulostivější, roste jen na čokoládovém agaru
Meningokok	Méně choulostivý, přenos na krátké vzdálenosti i kapénkami	Méně choulostivý, je-li krevní agar obohacen, může na něm růst
Tzv. „ústní“ neisserie	Nejméně choulostivé	Roste i na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

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

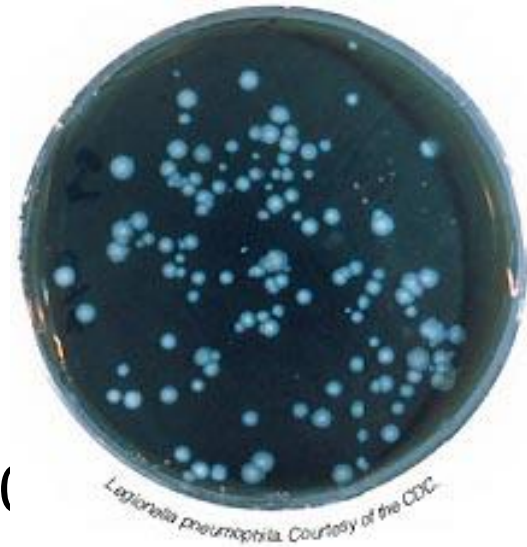


„Další gramnegativní bakterie“



- 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***

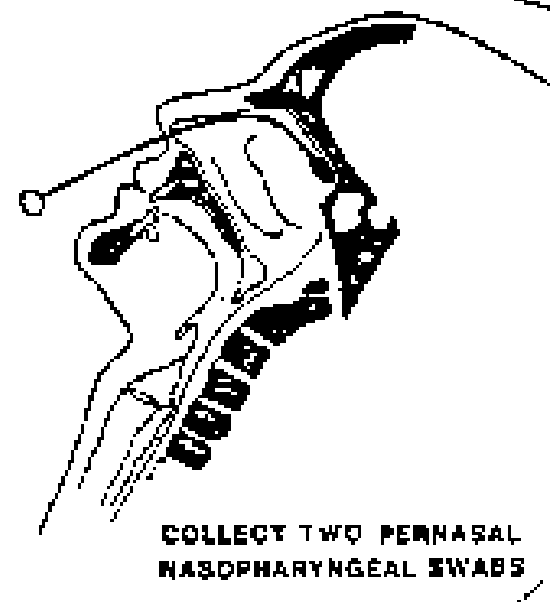
Legionella pneumophila



- G- štíhlé tyčinky
- V teplých vodách (parazité améb)- 30 – 40°C
- Bakterie má často rezervoár ve **vodovodech, klimatizaci**, vodotrysky 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)

Rod *Bordetella*

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



Rod *Brucella*

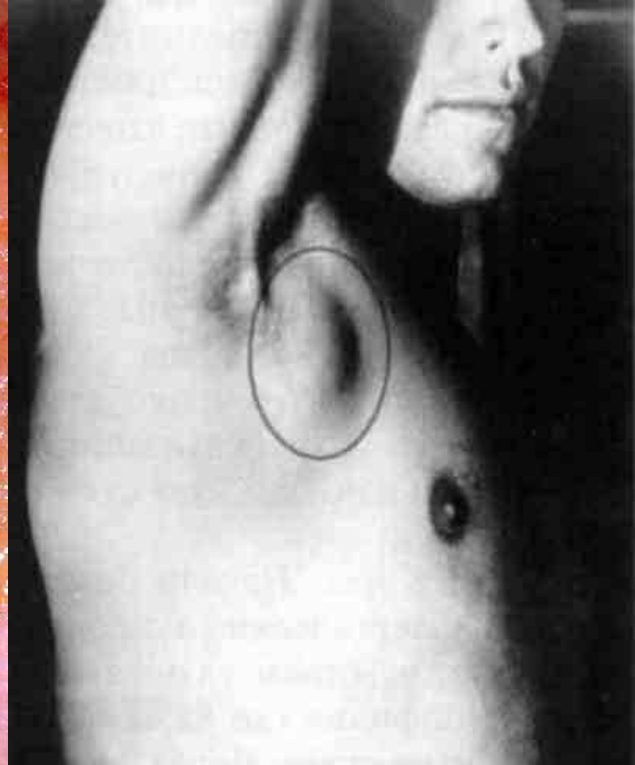
- Je to původce zoonóz, přenosné i na člověka
- *Brucella abortus* je kraví patogen, způsobující potraty skotu. U lidí způsobuje **Bangovu nemoc** (horečka, orgánová postižení atd.)
- Dalšími brucelami jsou *Brucella suis* z prasat, *Brucella mellitensis* z ovcí a koz a *Brucella canis* ze psů



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**

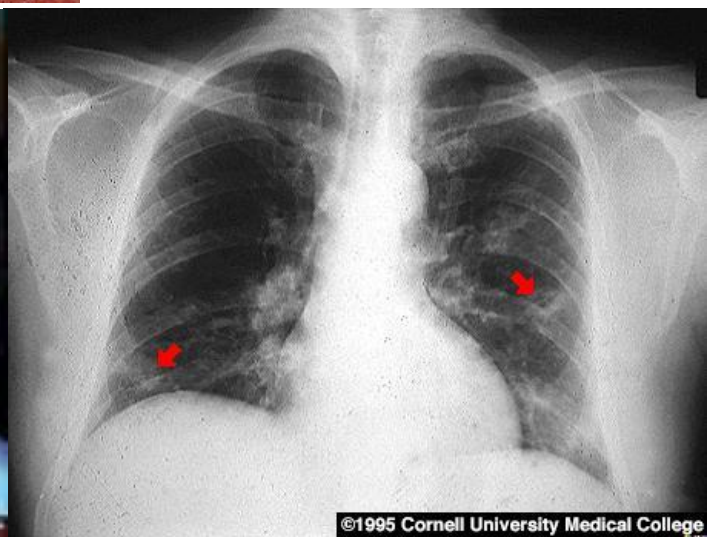




<http://www.antropozoonosi.it> (4x)



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)



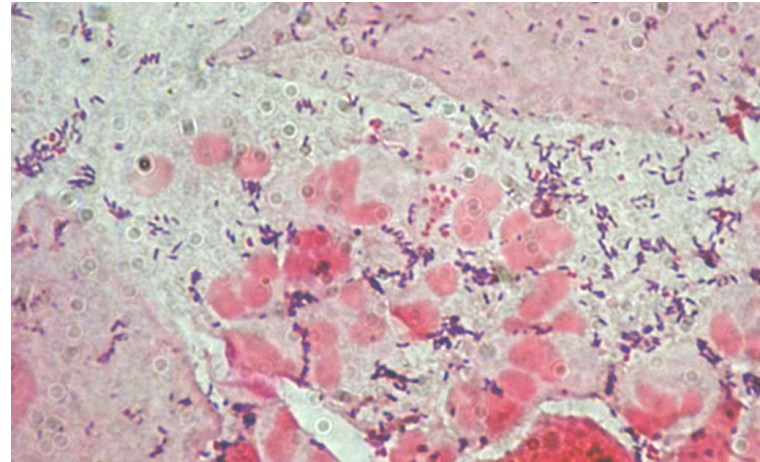
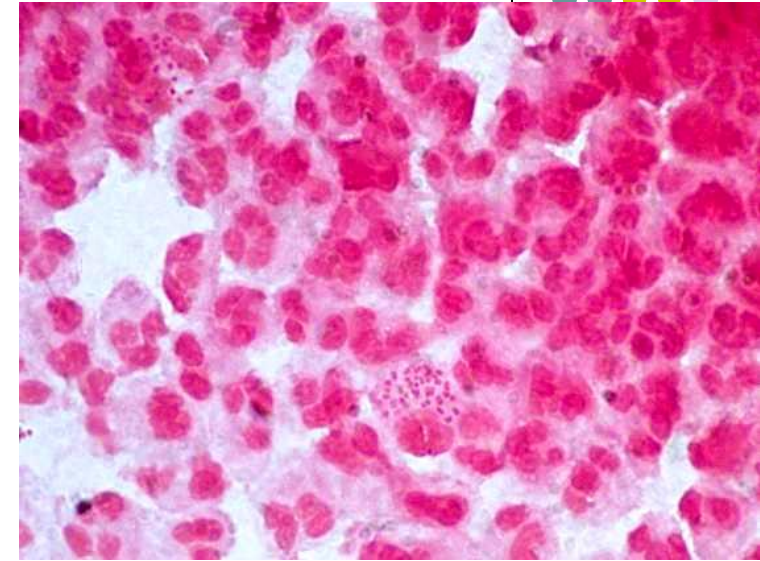
„Další G- bakterie“ – charakteristika

- **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

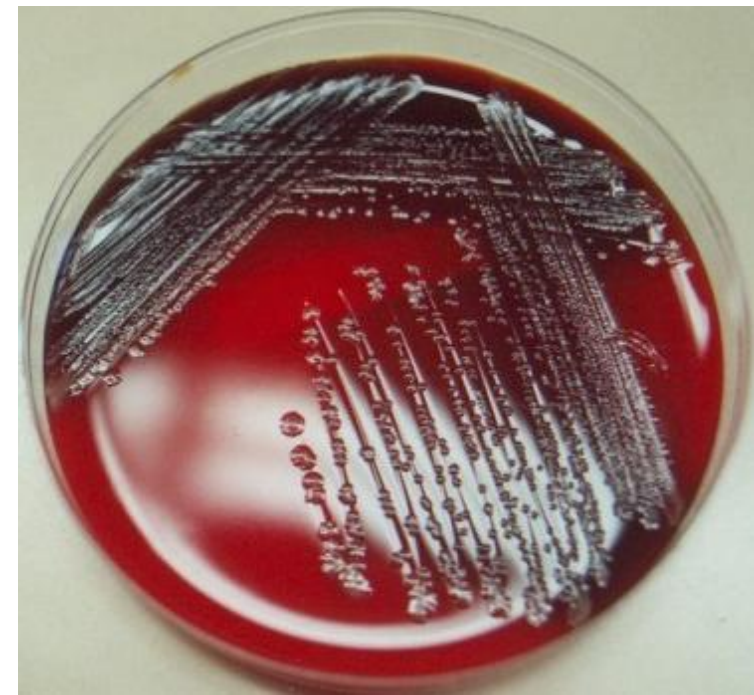
Úkol 1b: barvení kultur podle Grama



- 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

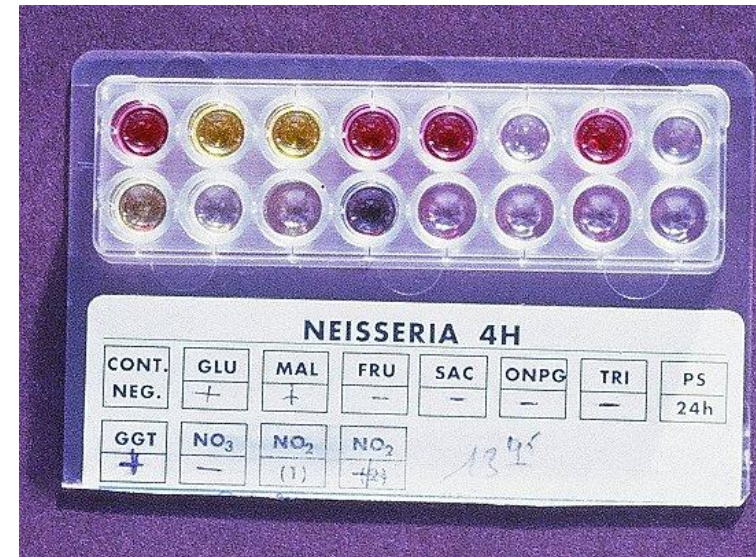


- Rychlé testy s diagnostickými proužky velmi usnadňují diagnostiku
- Neisserie jsou oxidáza pozitivní, moraxely také, ale mohou mít opožděnou reakci
- Moraxely se poznají podle pozitivního INAC testu U INAC testu se postupuje jako u oxidázy, ale proužek je nutno zvlhčit a je nutno pět minut počkat.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

Úkol 4 – druhové určení neisserií



- K druhovému určení neisserií se používají biochemické testy, 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.



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**.



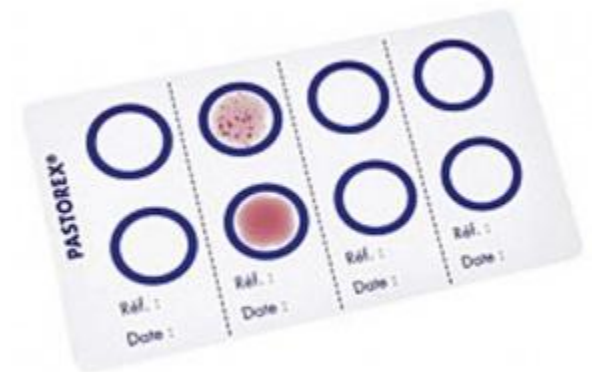
Tabulka zón citlivosti – MEN

Antibiotikum	Zkratka	Referenční zóna
Penicilin	P	$S \geq 47$ $R < 26$
Cefuroxim	CXM	$S \geq 31$ $R < 25$
Azithromycin	AZM	$S \geq 25$ $R < 25$
Tetracyklin	TE	$S \geq 38$ $R < 30$
Cefotaxim	CTX	$S \geq 31$ $R < 31$
Ciprofloxacin	CIP	$S \geq 41$ $R < 28$

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.



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**

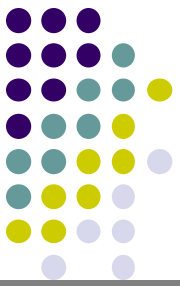
Zeleně vždy uvedena věková skupina, u které je daná infekce nejtypičtější

Úkol 7: Diagnostika bordetel, brucel, legionel a francisel



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

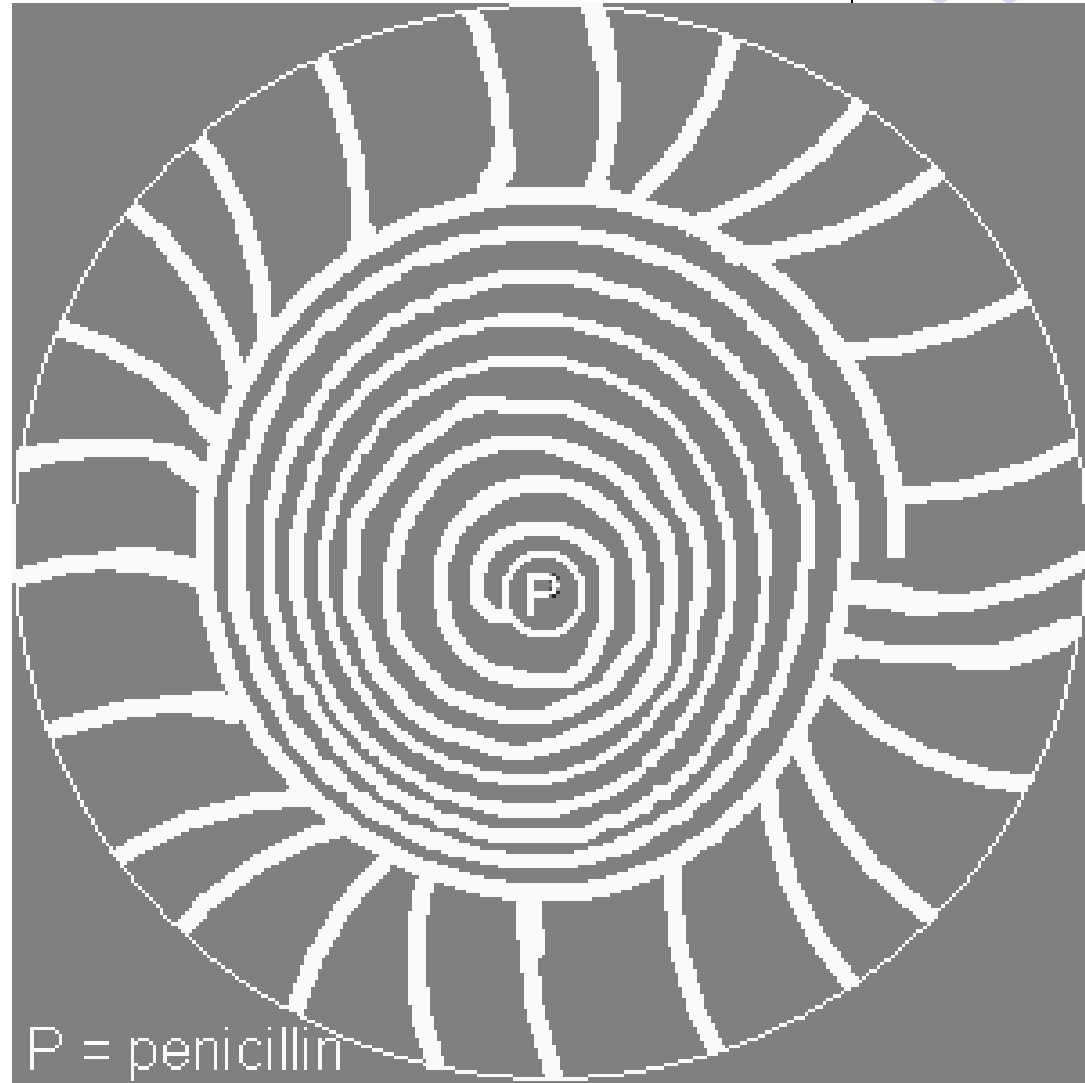
7a – Postup očkování na BG agar



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



Legionella pneumophila sur milieu BCYE

7c Diagnostika rodu *Francisella*: Odečítání titru

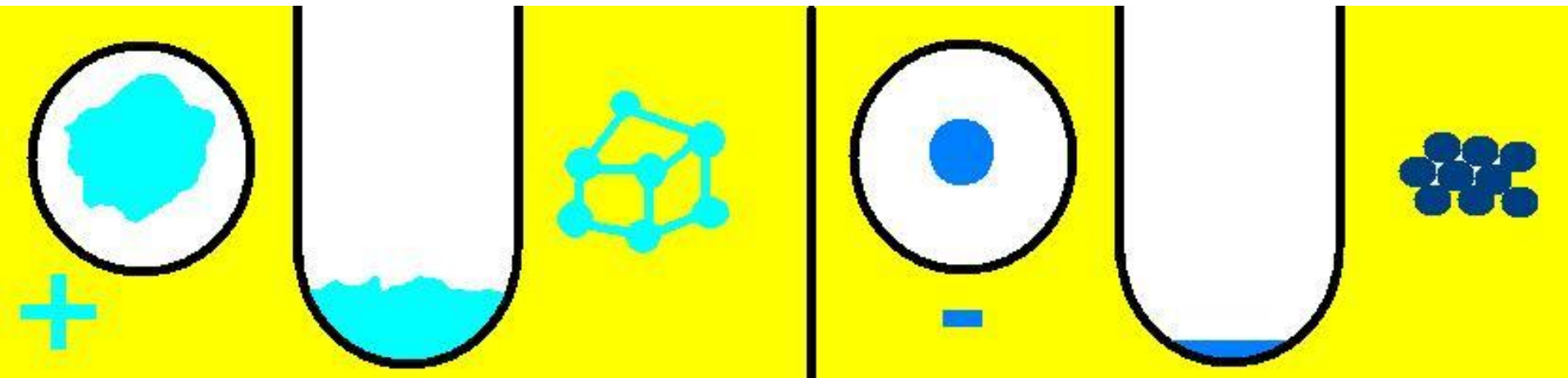
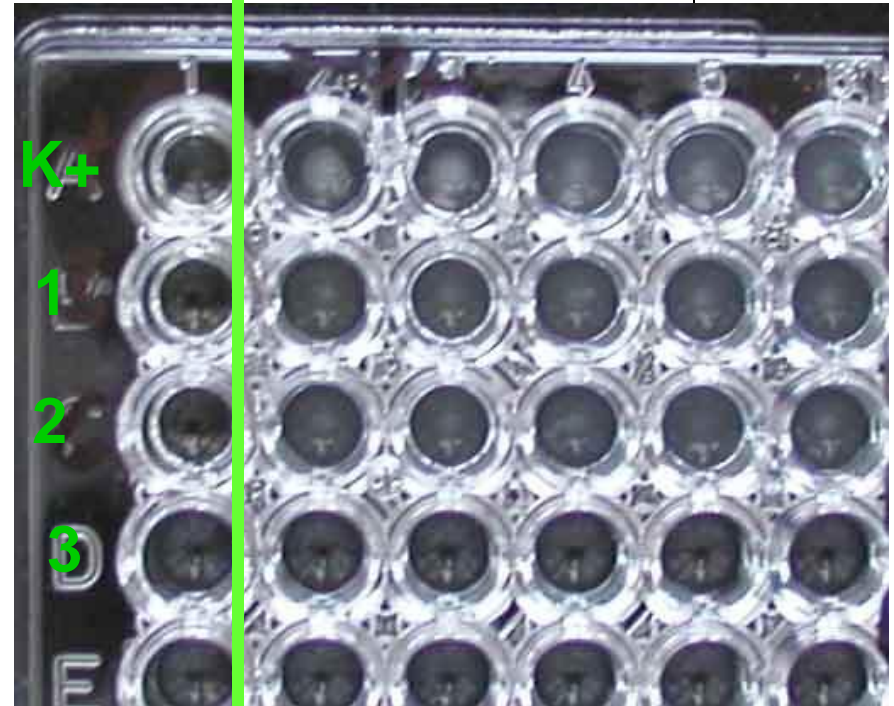


1:10 1:20 atd.

- Spočítá se titr, tedy nejvyšší ředění s pozitivní reakcí

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

www.medmicro.info



7d Diagnostika protilátek proti brucelóze



- Diagnostika Bangovy choroby byla provedena nepřímým průkazem
- ELISA ve třídách IgG i IgM
- Zapište výsledky do tabulky a vymyslete u každého pacienta konečný závěr