

NA STOPĚ PACHATELE

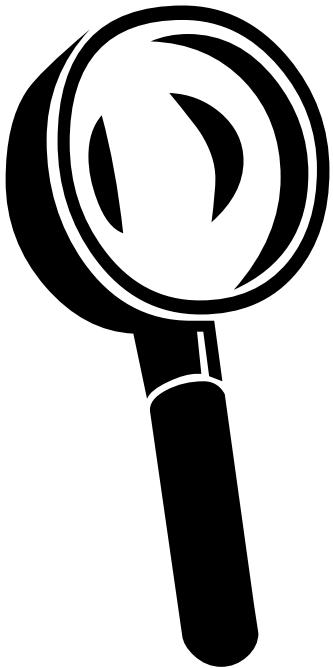
Díl šestý:

- 1) Gramnegativní bakterie II*
- 2) Gramnegativní bakterie III**

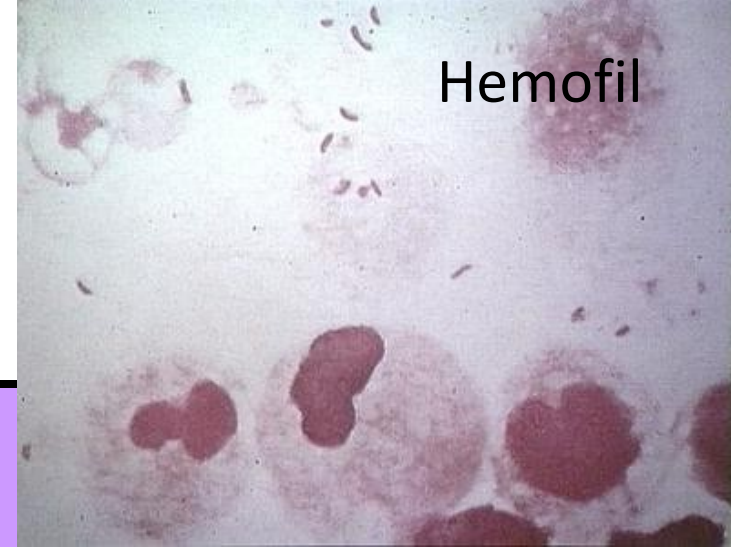
*G– nefermentující tyčinky, čeleď
Pasteurellaceae

** G– koky a ostatní G– tyčinky

Autor prezentace: Ondřej Zahradníček (kontakt:
zahradnicek@fnusa.cz). K praktickému cvičení pro Bi7170c



Přehled lékařsky významných G - tyčinek



Hemofil

Příběh	Endo	Skupina
P04	roste	Enterobacteriaceae (GLC +, OXI -)
P04	roste	Vibrionaceae (GLC +, OXI +)
P04	ne	<i>Campylobacter a Helicobacter</i>
3. + 4.	roste	G- nefermentující bakterie (GLC -)
1. + 2.	ne	<i>Pasteurellaceae</i>
5. až 8.	ne	Další G- tyčinky

Hlavní obsah

Pasteurellaceae a Gram– nefermentující bakterie

G– koky a ostatní G– tyčinky

G-BAK-

TERIE II

Čeľed' Pasteurellaceae a Gram– nefermentující bakterie

Klinická charakteristika – *Pasteurellaceae*

Klinická charakteristika – Gram– nefermentující bakterie

Diagnostika hemofilů a pasteurel

Diagnostika gramnegativních nefermentujících bakterií

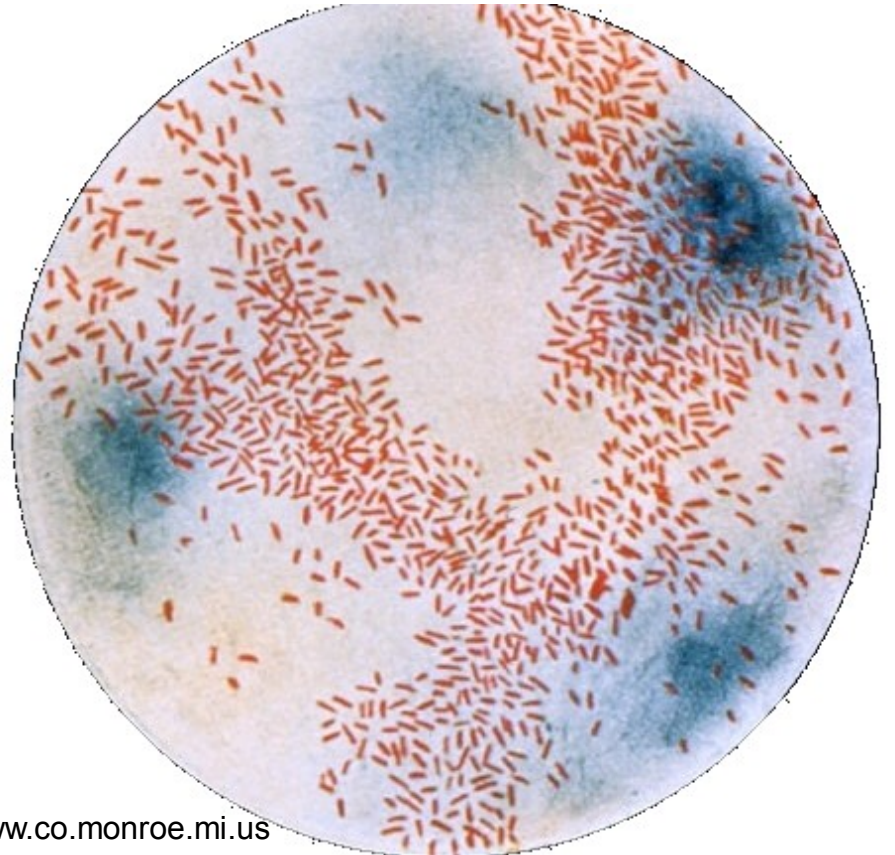
Klinická
charakteristika –
Pasteurellaceae

Příběh první

- Čtyřletý Kubík je hodný kluk, ale jeho rodiče jsou členy jakési sekty a nechtějí Kubíka nechat očkovat. Nejraději by ho měli pořád doma, ale nakonec ho kvůli práci přece dali do školky...
- Po měsíci ve školce začal být Kubík nachlazený, a nakonec se začal dusit a sípavě dýchat. Volali RZP, záchranáři už uvažovali o koniopunkci, nakonec ale nebyla nutná. Ukázalo se, že Kubík má zánět příklopy hrtanové – nemoc, která se dnes už moc často nevidí...

Kdo to Kubíkovi udělal?


- Viník: *Haemophilus influenzae* ser. b (Hib)
- Hemofily jsou **krátké gramnegativní tyčinky**. Hemofily patří do čeledi *Pasteurellaceae* společně s rodem *Pasteurella* (viz



Klasifikace hemofilů

- ***Haemophilus influenzae***
 - **pouzderný typ b (Hib) – proti tomu se očkuje**
 - pouzderné typy a, c, d, e, f
 - neopouzdržené kmeny
- ***Haemophilus parainfluenzae*** (mnohem běžnější a mnohem méně patogenní)
- ***Haemophilus aphrophilus*** a mnoho dalších druhů
- ***Haemophilus ducreyi***, původce pohlavně přenášené choroby **ulcus molle**

Patogenita hemofilů

- Nejzávažnější hemofilové choroby jsou **epiglottitis, meningitis a sepse**. Způsobuje je hlavně *Haemophilus influenzae*, serotyp b.
- Další časté choroby jsou **otitis media a sinusitis** (zde po *Streptococcus pneumoniae* a společně s *Moraxella catarrhalis*) 
- Velmi běžná je **přítomnost hemofilů v krku**, přičemž patogenní role je velmi pochybná. Zvláště v případě *Haemophilus parainfluenzae* nepředpokládáme, že by byl patogenem.

Hemofilové onemocnění

<http://www.immune.org.nz>



Ulcus molle

- Je to pohlavní choroba, vyskytující se především v subtropických a tropických oblastech



Ulcus molle – měkký vřed (šankroid) –
způsoben *Haemophilus ducreyi*

Ulcus durum – tvrdý vřed (šankr) – jeden
z příznaků syfilis, způsobené *Treponema pallidum*

Příběh druhý

- Jana se zase jednou toulala v zahradách. Bohužel, jeden plot byl příliš rezivý a pes za ním příliš silný. Pes utekl ven a narazil právě na Janu. **A tak skončila Jana s pokousanou nohou.**
- Majitelé prokázali, že pes je očkován proti vzteklině. Avšak **v ráně se brzy objevil hnis.** Ten pak byl poslán do laboratoře. A zločincem byla...

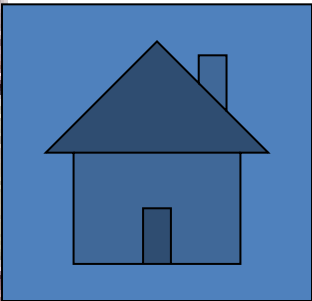
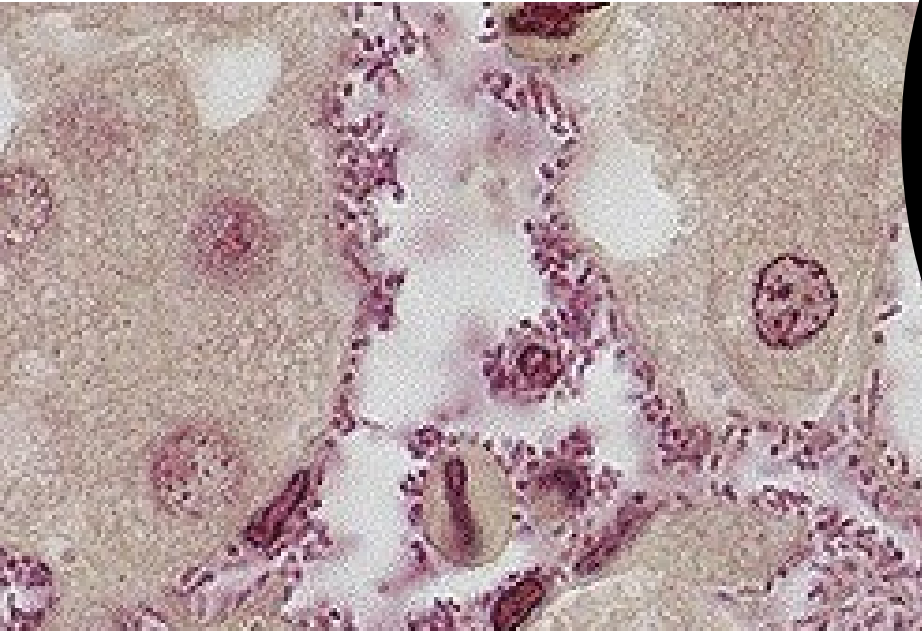
Pasteurella multocida

- Je běžnou flórou v psích tlamách.
- U člověka způsobuje zejména zhnisání ran po pokousání psem či jiným zvířetem.
- Má charakteristický pach, podobný hemofilovému (někteří ho spíše přirovnávají k pachu starého hadru), ale na rozdíl od něj roste na krevním agaru (nikoli však na Endově půdě)
- Kolonie na krevním agaru vypadají jako něco mezi streptokokem a enterokokem, ale je rezistentní na vankomycin, což obvykle mikrobiologa „trkne“, zejména při současné citlivosti na penicilin

Pasteurella multocida

<http://library.thinkquest.org>

<http://www.biologico.sp.gov.br>



Klinická
charakteristika –
gramnegativní
nefermentující
bakterie

Příběh třetí

- **Pan Zápalka** je pyroman. Nedávno na svou vášeň doplatil a nehezky se popálil. Nyní se mu **popálenina zanítla**. Leží na popáleninovém centru a je na tom velice špatně. Lékaři naštěstí pochopili, že běžná antibiotika jsou mu platná jako mrtvému zimník a **provedli stěr**. Díky tomu se podařilo najít **cílenou terapii** a pana Zápalku vyléčit – do doby, než zase něco zapálí a způsobí si další popáleniny.

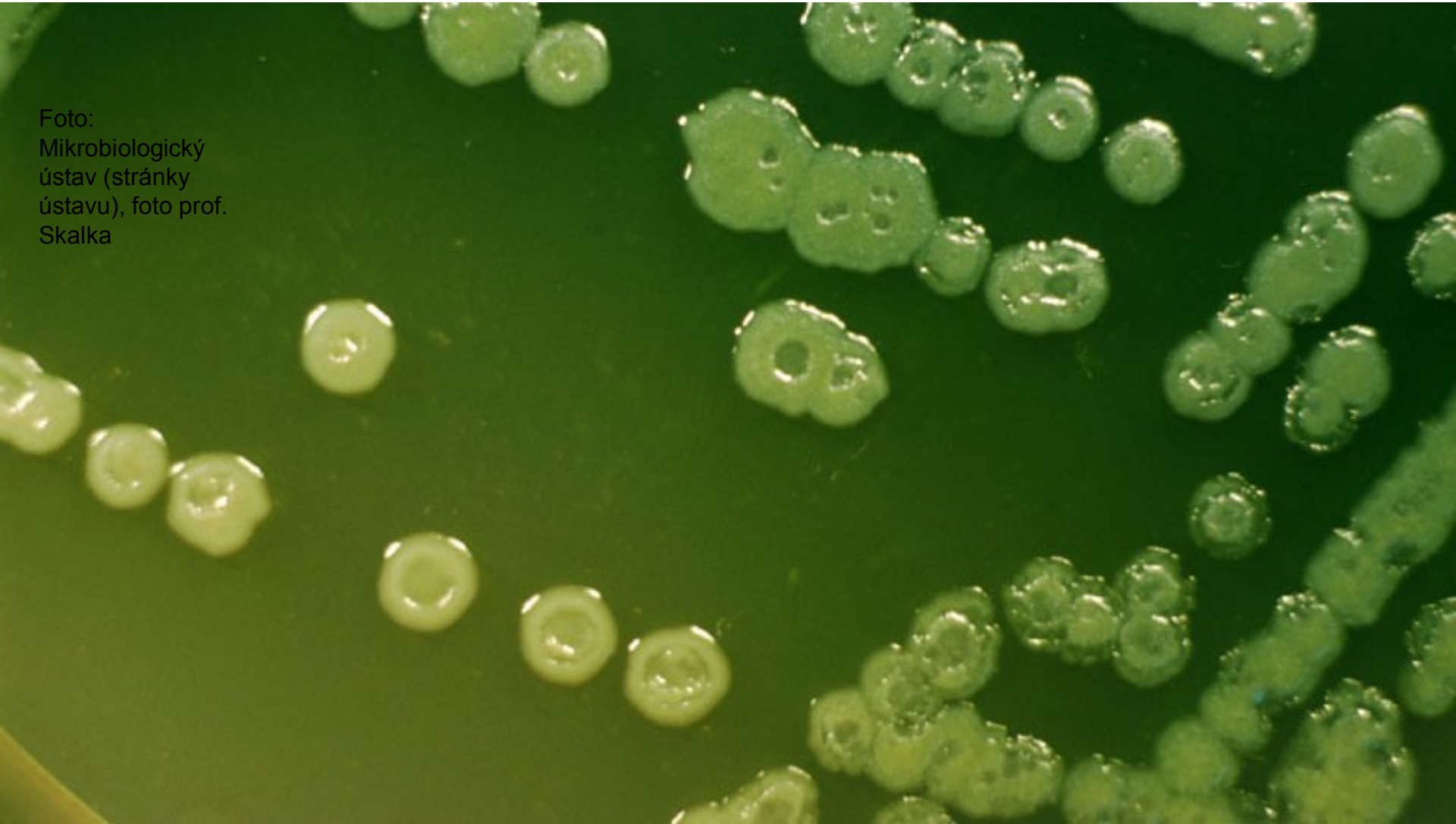
Kdo za to tentokrát může?

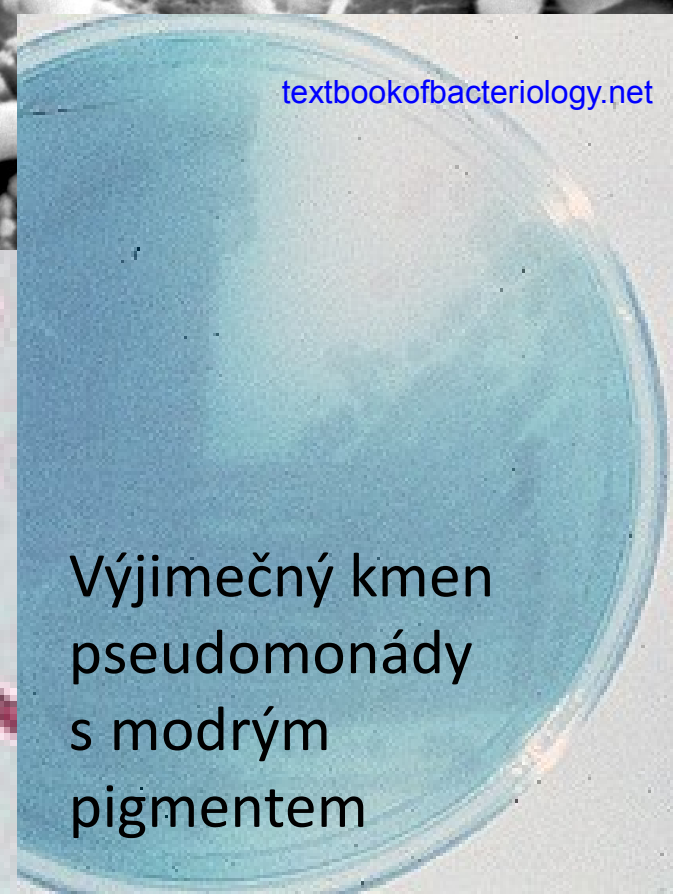
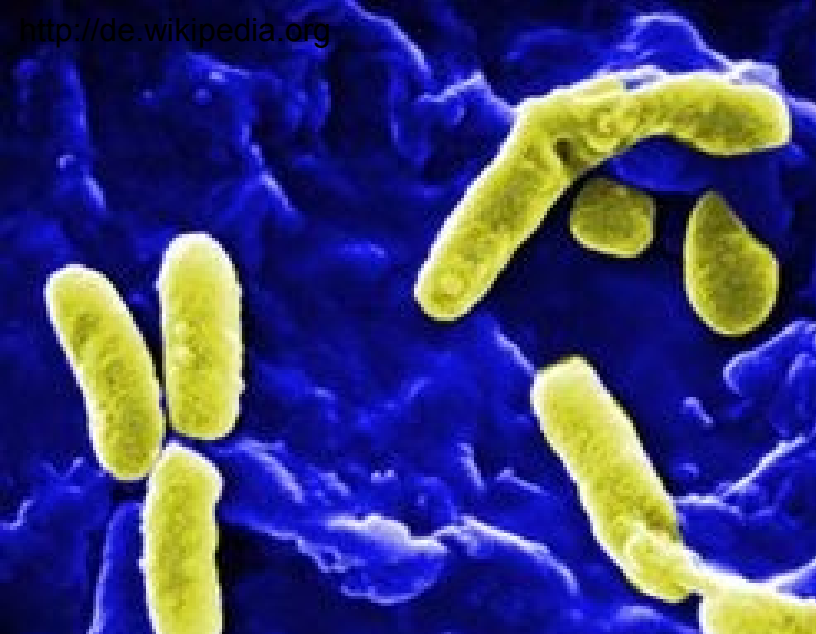
- Viníkem je *Pseudomonas aeruginosa*, nejběžnější bakterie ze skupiny gramnegativních nefermentujících bakterií
- Viníkem by stejně dobře mohla být i kterákoli jiná bakterie z této skupiny, např. *Acinetobacter*, *Burkholderia cepacia* nebo *Stenotrophomonas maltophilia*
- Tyto bakterie jsou většinou striktně aerobní, nefermentují, nýbrž degradují cukry aerobní respirací, a jejich adaptace na vnější prostředí se projevuje i jinak – často mají nízké teplotní optimum a často jsou pigmentované, tím vzdorují slunci ve vnějším prostředí

Zeleně pigmentovaný kmen

Pseudomonas aeruginosa na MH

Foto:
Mikrobiologický
ústav (stránky
ústavu), foto prof.
Skalka





textbookofbacteriology.net

Výjimečný kmen
pseudomonády
s modrým
pigmentem

Patogenita G– nefermentujících

- Obecně: Jsou to bakterie z vnějšího prostředí, často rostlinné patogeny, „bakterie-zbabělci“, které si netroufnou na zdravého člověka. Jejich terčem jsou pacienti s popáleninami, klienti ARK, JIP, transplantačních center a podobně.
- U dlouhodobě hospitalizovaných nezpůsobují jen infekce ran, ale často je nacházíme i např. v dýchacích cestách či dokonce v krevním řečišti.
- Jde tedy o důležité původce nozokomiálních nákaz
- Někdy je ale těžké odlišit pouhou kolonizaci od skutečné infekce – zvláště u povrchových ran často nemá smysl používat celkovou antibiotickou léčbu při nálezů některé z těchto bakterií

U oslabených
osob mohou
způsobovat
např. i zánět
nehtového
lůžka.

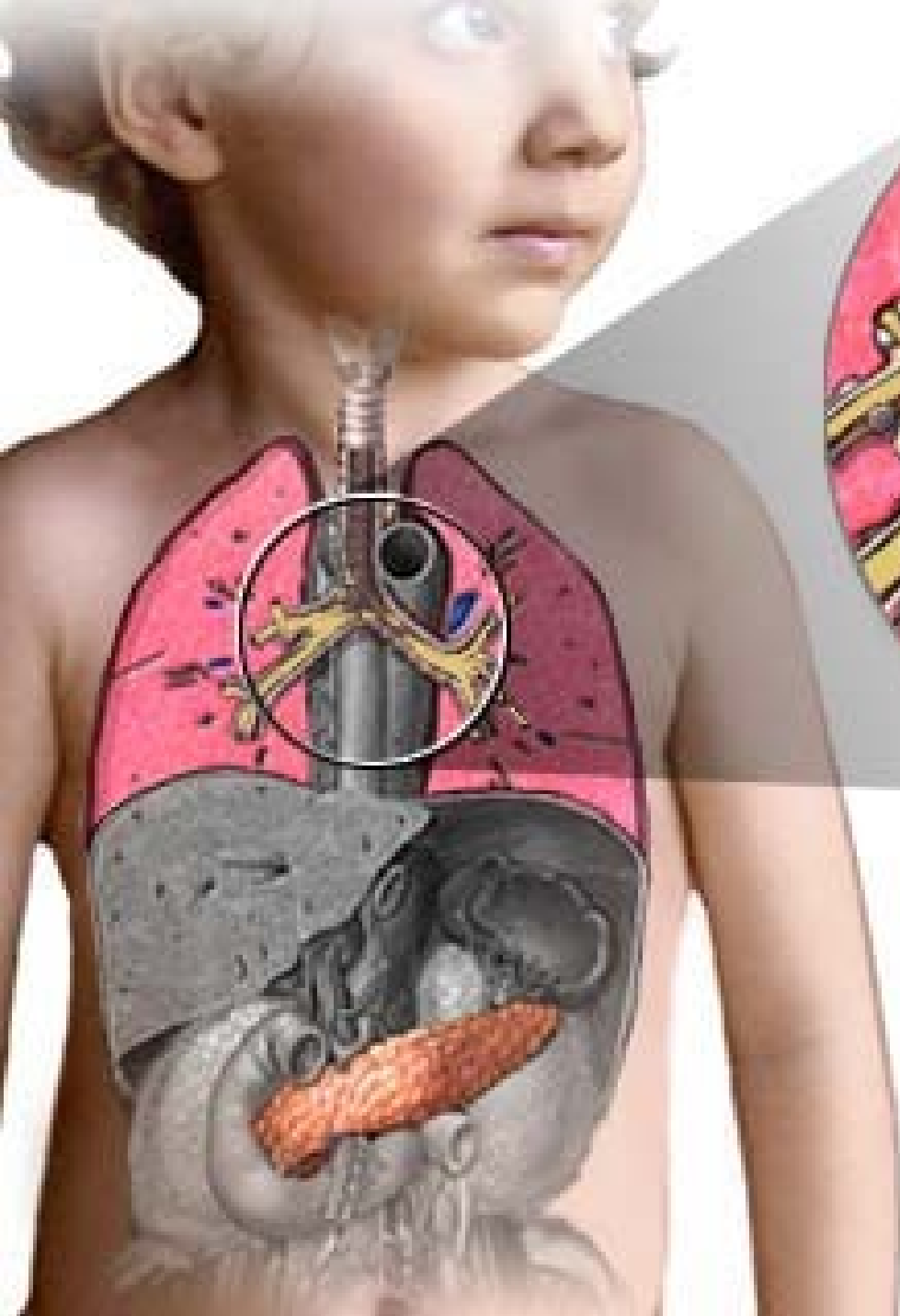


Příběh čtvrtý

- Linda bylo ubohé děvče: trpěla **vrozenou chorobou – cystickou fibrózou**.
- Její **plicní surfaktant se lišil od surfaktantu zdravých lidí**. A tak byla často nemocná.
- Posledně to byl *Staphylococcus aureus*. Tentokrát to bylo jiné: **původcem byla *Burkholderia cepacia***, jedna z G– nefermentujících tyčinek

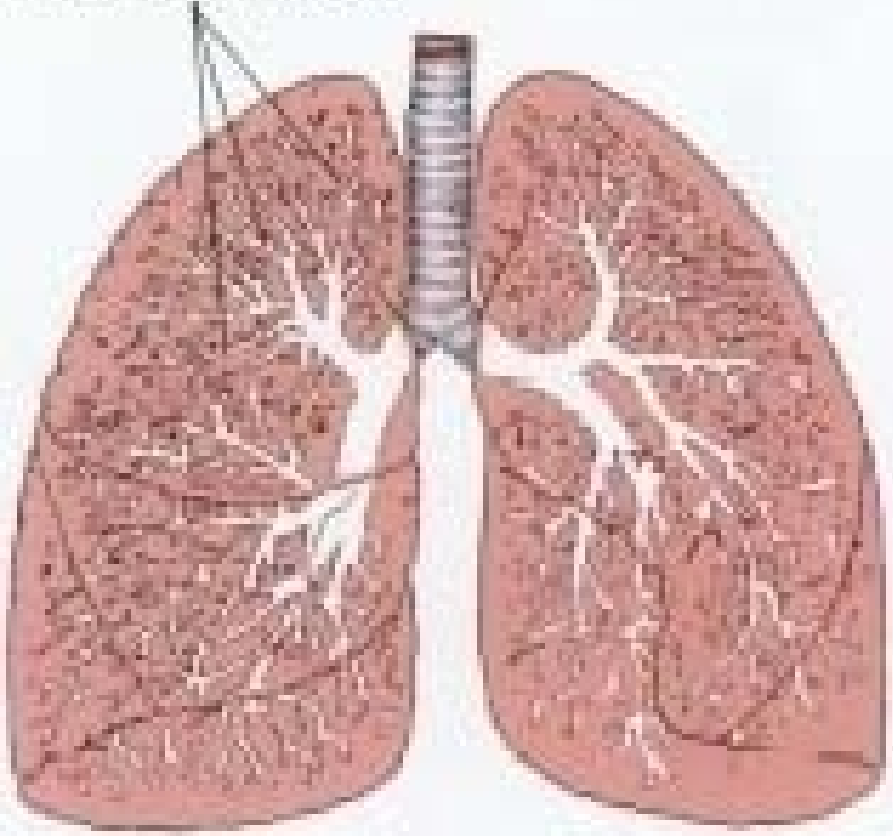
Nefermentující a cystická fibróza

- Cystická fibróza je těžké, **vrozené onemocnění plic** s poruchou produkce normálního plicního surfaktantu. To vede ke změněným charakteristikám plic, včetně mnohonásobně zvýšeného rizika infekce
- **Nejčastějšími původci** jsou *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* a *Staphylococcus aureus*. Kmeny zpravidla získají **polyresistenci** a mnohé děti umírají velmi mladé.



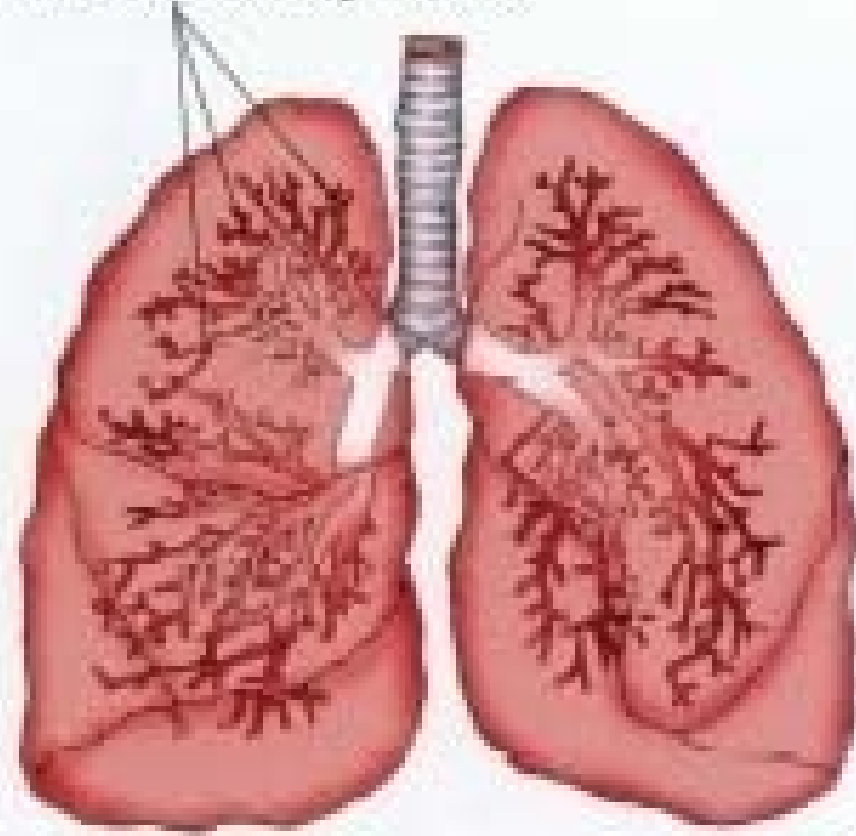
Cystic fibrosis is a hereditary disorder characterized by lung congestion and infection and malabsorption of nutrients by the pancreas

Unobstructed bronchial tubes



Healthy lungs

Bronchial tubes are blocked by mucus



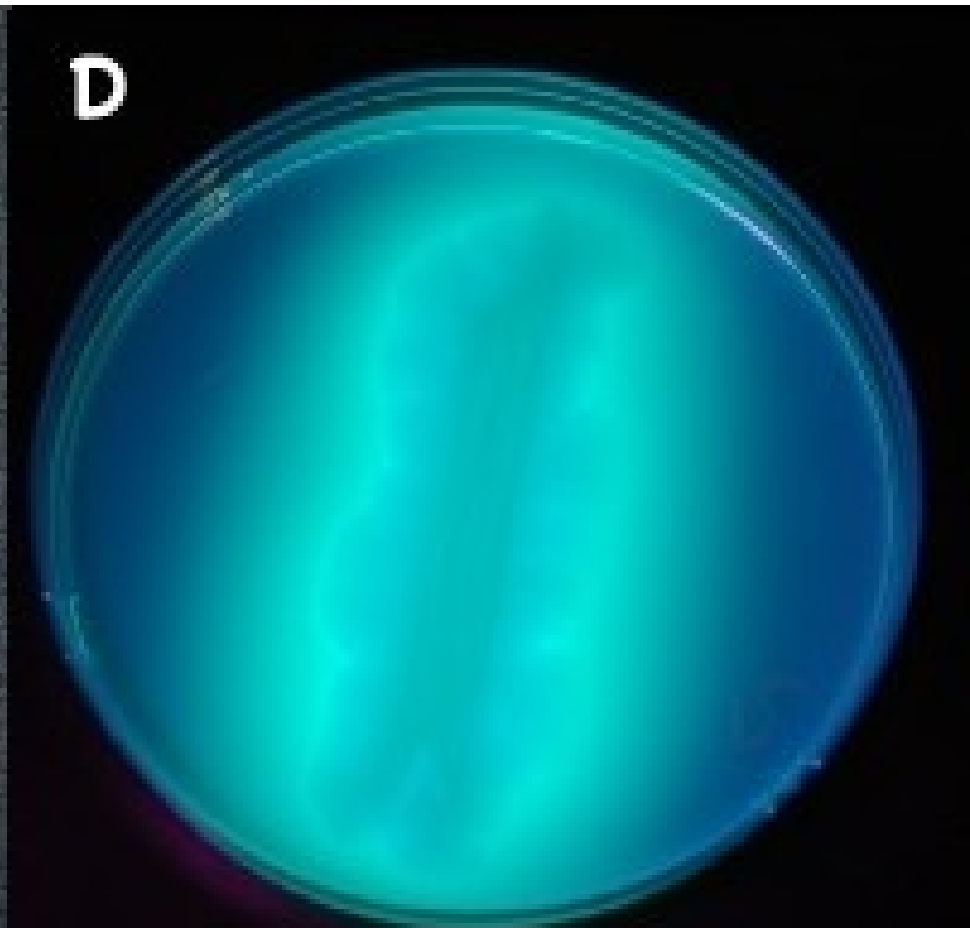
Lungs with cystic fibrosis



Další „nefermentující“:

Pseudomonas fluorescens

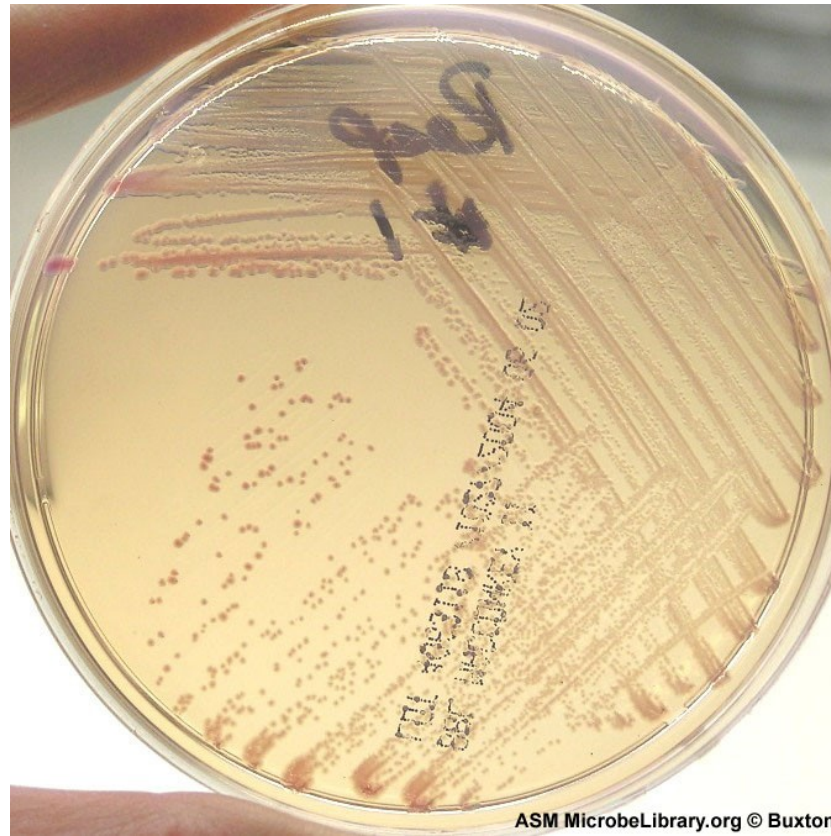
Podobná *P. aeruginosa*, ale typická fluorescence kolonií pod UV lampou



Burkholderia cepacia

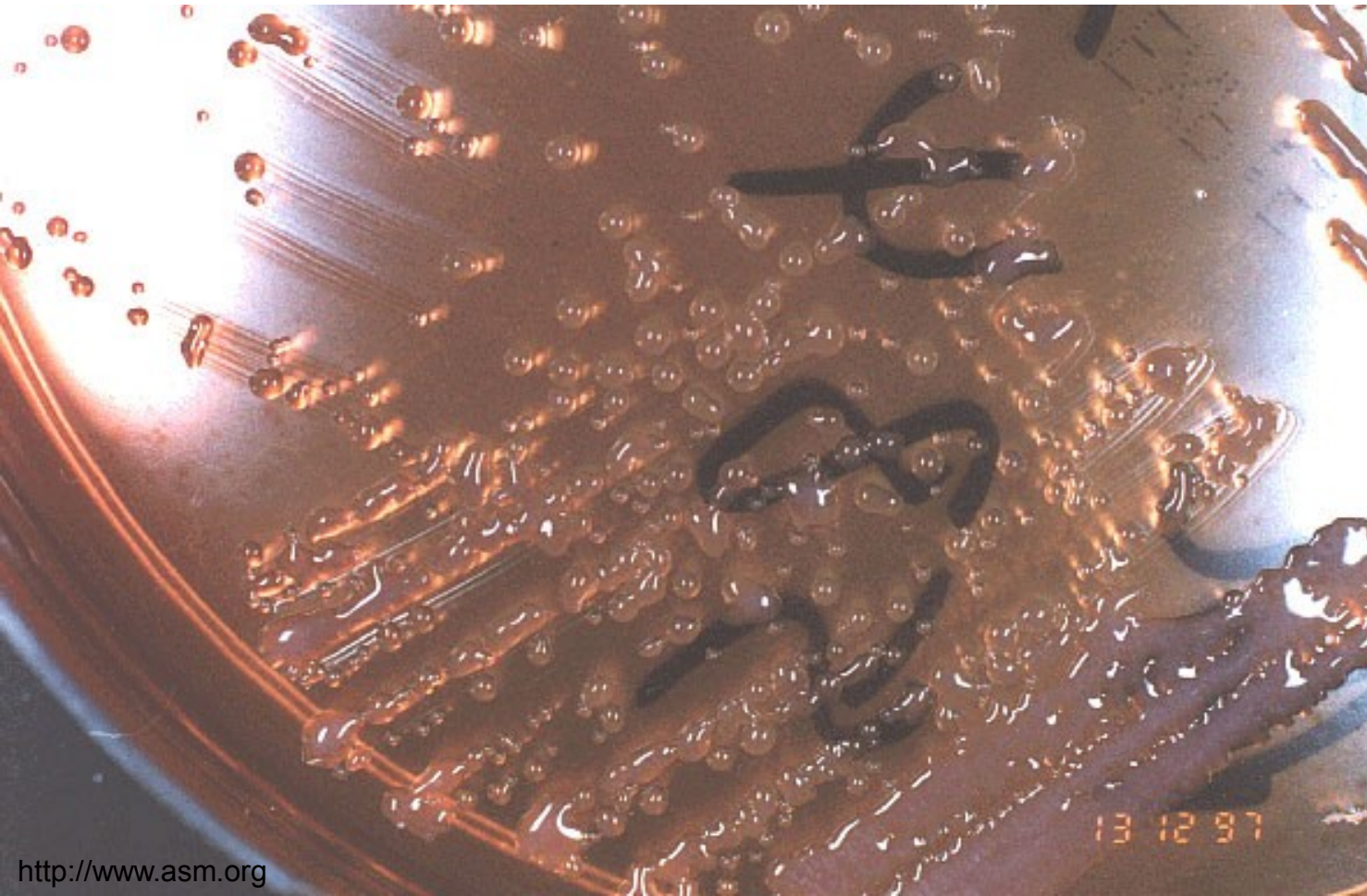


Burkholderia cepacia způsobuje hnilobu cibule (*Allium cepa*), je to tedy typický rostlinný patogen



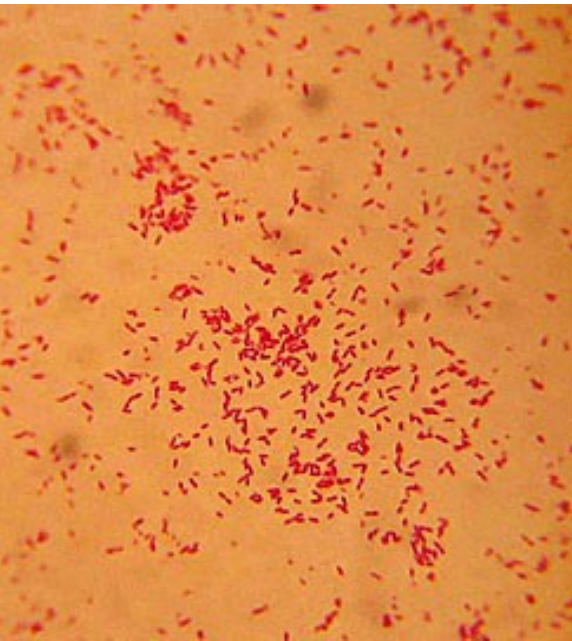
Burkholderia pseudomallei

Burkholderia pseudomallei je původcem mellioidózy. Příbuzná *B. mallei* způsobuje zoonózu zvanou malleus čili vozňřivka (SK: sopľavka)



Stenotrophomonas maltophilia

<http://www.scielo.cl>



<http://clinicalmicrobiology.stanford.edu>



<http://www.microbelibrary.org>



Stenotrophomonas maltophilia je dlouhé jméno, ale snadno si ho zapamatujete: je to „úzké-výživy-jednotka maltózu-milující, čili „bakteriální panda“, místo bambusu žvýkající maltózu 😊

Acinetobacter



<http://www.microbelibrary.org>

ASM MicrobeLibrary.org © Buxton



<http://www.bakteriologieatlas.de>

<http://www.buddycom.com>

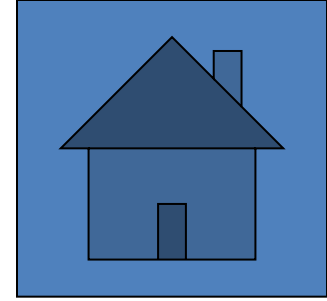
Z řěčtiny: a-kineto- = „nepohyblivý“

Metabolismus bakterií a jejich vztah ke kyslíku

Jak již víme, G– nefermentující bakterie provádějí aerobní respiraci. Porovnejme nyní dvě bakterie:

- *Escherichia coli* žije ve střevě. Má dost živin, ale málo kyslíku (i když jiných plynů si užije dost 😊) preferuje fermentaci glukózy i jiných cukrů. ***Escherichia coli* je fakultativně anaerobní.** Některé další bakterie žijící ve střevě jsou **striktně anaerobní.**
- Naopak pseudomonády mají kyslíku habaděj, ale živin málo. Volí tedy aerobní respiraci, která jim umožní to málo dostupných živin využít úplně. **Pseudomonády jsou striktně aerobní**

Pseudomonas jako striktní aerob (na rozdíl od jiných)



- Pseudomonáda (I) je striktně aerobní bakterie, nikoli fakultativně anaerobní jako například *Escherichia coli* (kmen III), natož striktně anaerobní jako kmen II (*Bacteroides fragilis*, viz P07).

Kmen	Bujón	VL-bujón	Výsledek
I	roste	neroste	Striktně aerobní bakterie
II	neroste	roste	Striktní anaerob
III	roste	roste	Fakultativní anaerob

Diagnostika hemofilů a pasteurel

Přehled metod použitelných k dopadení bakterií čeledi *Pasteurellaceae*

- Přímé metody
 - Mikroskopie – krátké G– tyčinky
 - Kultivace – *Pasteurellaceae* nerostou na Endově agaru, hemofily dokonce ani na krevním (s výjimkou současné kultivace s jiným mikroblem)
 - Biochemická identifikace – je možno ji použít
 - Antigenní analýza – používá se u hemofilů (Hib)
 - Detekce DNA – rutinně se nepoužívá

Nepřímé metody se téměř nepoužívají

Odlišení čeledi *Pasteurellaceae* (diferenciální diagnostika)

- Gramovo barvení odliší gramnegativní tyčinky od ostatních bakterií
- Endova půda: jak již víme, rostou na ní z klinicky významných jen enterobakterie, příslušníci čeledi *Vibrionaceae* a gramnegativní nefermentující tyčinky, to tedy znamená, že ***Pasteurellaceae* tam nerostou**
- *Pasteurellaceae* prozradí zápach a různé další vlastnosti (biochemické, citlivost na antibiotika)

K diagnostice hemofilů a pasteurel



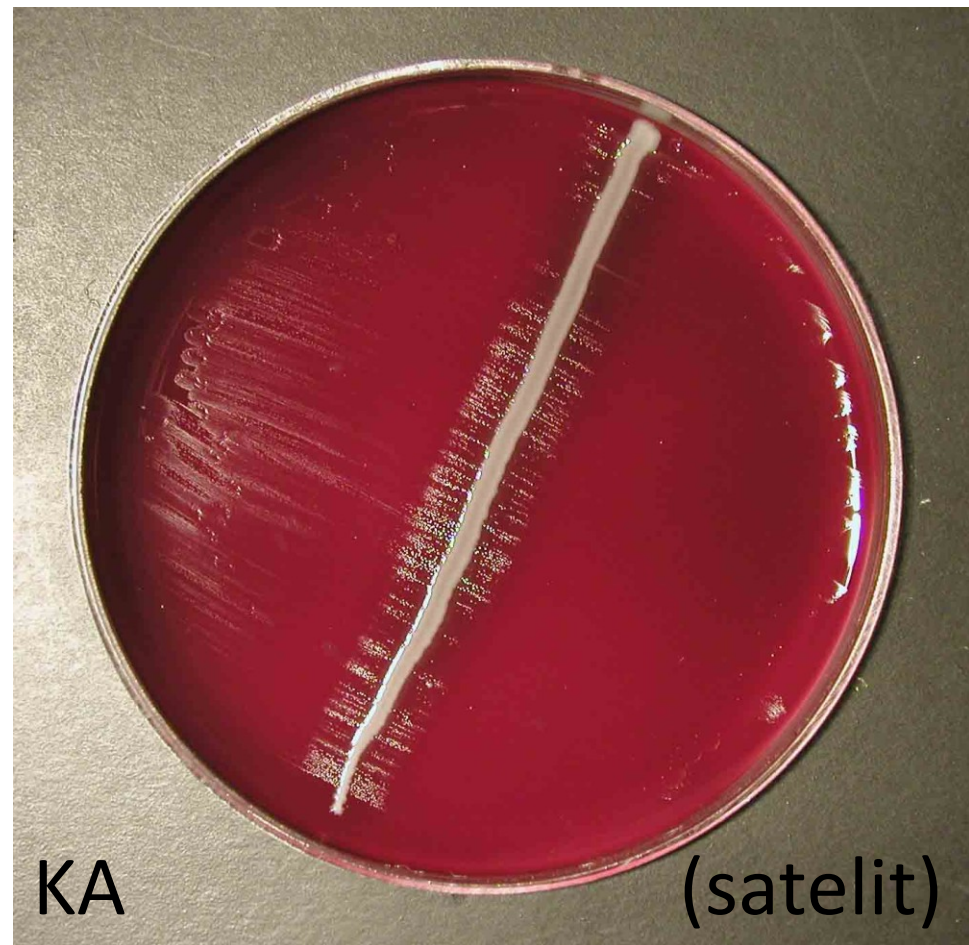
<http://www.uni-ulm.de>

- **Pasteurely** rostou na krevním agaru
- **Hemofily** na krevním agaru růst neumějí, protože si neumějí „otevřít“ krvinku
- Rostou tedy na **čokoládovém agaru**
- Na KA rostou v přítomnosti takové bakterie, která jim krvinku „otevře“ (**satelitový fenomén**). Takovou bakterií je například zlatý stafylokok
- Mají **droboučké kolonie**, proto se používá disk k odclonění ostatních bakterií (**bacitracin**, ale ve vyšší koncentraci než v bacitracinovém testu)

Satelitový fenomén

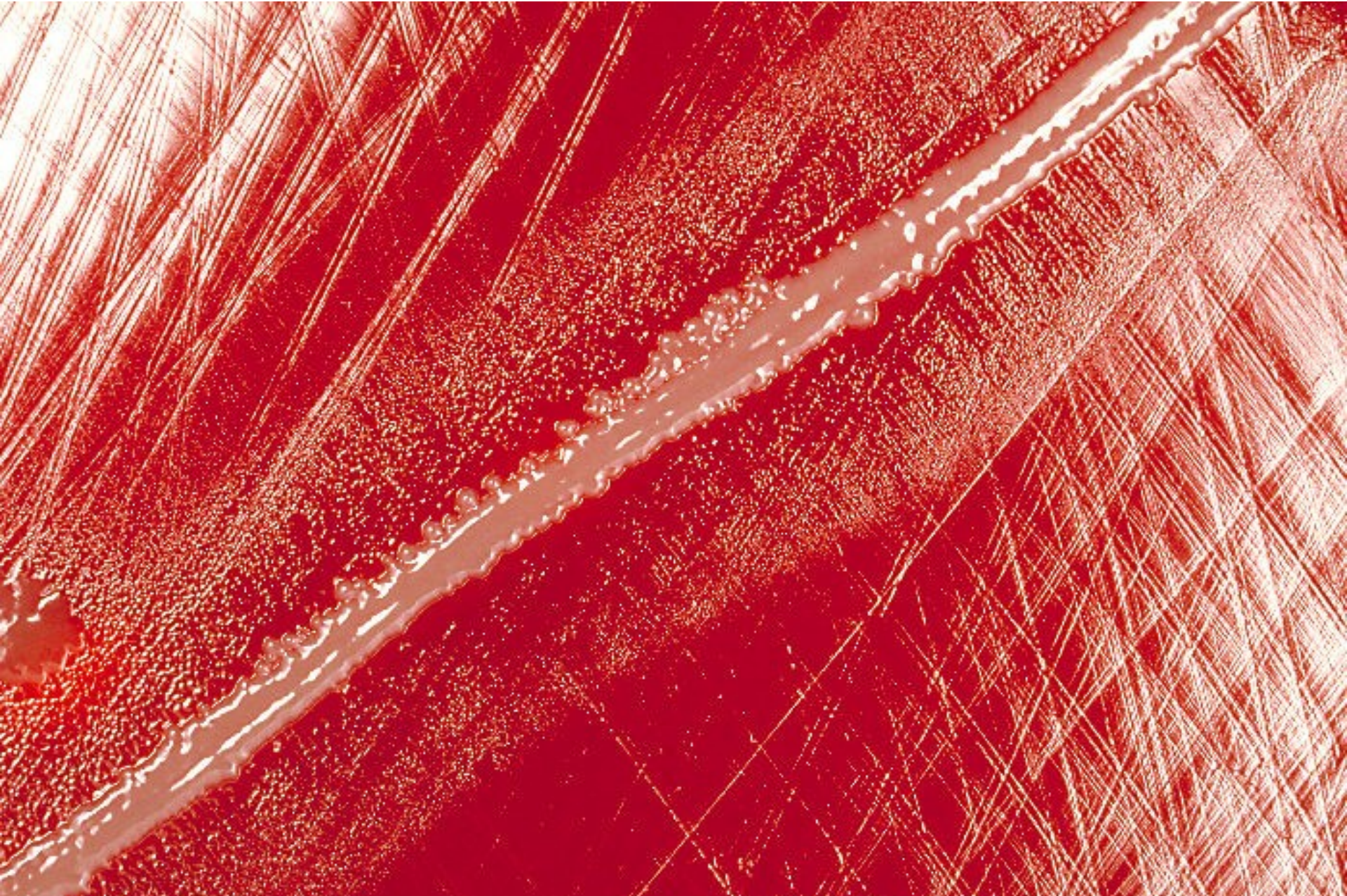
- Jak už víme, hemofily potřebují faktory z erytrocytů, ale nejsou samy schopny je narušit. Narušení může obstarat
 - zahřátí agaru (čokoládový agar)
 - přítomnost jiného mikroba
- **Satelitový fenomén** představuje tu druhou možnost, jak může hemofil získat faktory z krvinek. Znamená růst hemofila pouze kolem stafylokokové čáry.
- Přítomnost satelitového fenoménu je důkazem, že jde opravdu o příslušníka rodu *Haemophilus*

Hemofily – vlevo na čokoládovém agaru, vpravo jako satelit na KA



Ještě jednou satelit

<http://phil.cdc.gov>



Detekce hemofilů

Hemofily jsou rezistentnější než bakterie běžné flóry, takže rostou uvnitř zóny, ovšem jen kolem stafylokokové čáry (satelitový fenomén)

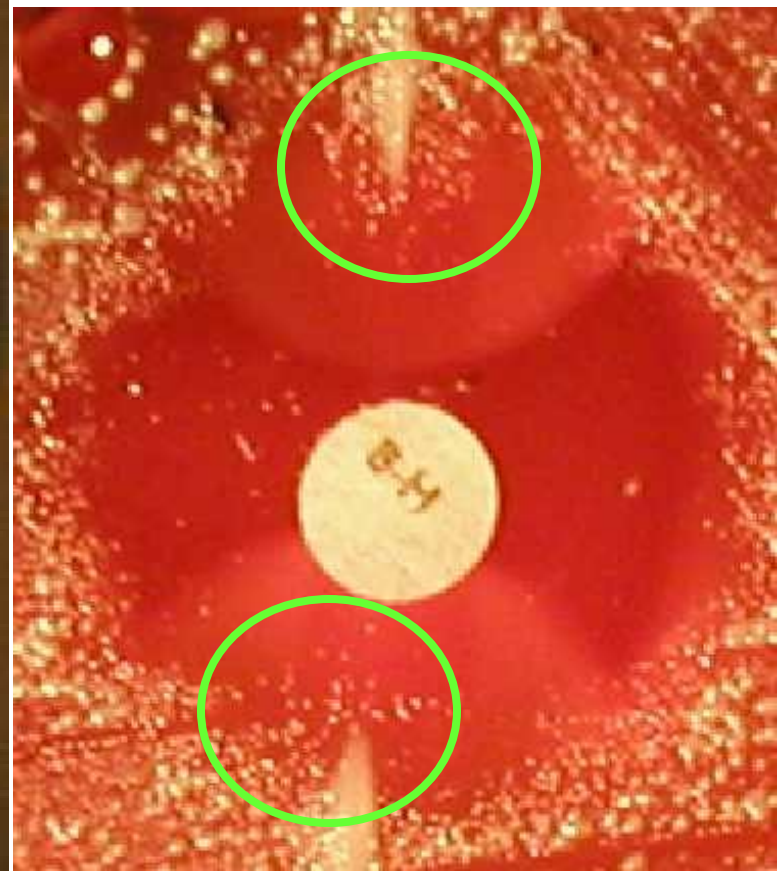


Foto:

Růstové faktory hemofilů

- Hemofily vyžadují faktory z krvinek, avšak jejich potřeba konkrétních faktorů je specifická:
 - *H. parainfluenzae* vyžaduje faktor V (= NAD)
 - *H. aphrophilus* vyžaduje faktor X (= hemin)
 - *H. influenzae* vyžaduje oba faktory.
- Používáme disky s těmito faktory: jeden s faktorem X, druhý s V, a třetí se směsí obou.

Test růstových faktorů hemofilů

Jeden disk obsahuje faktor X, druhý faktor V, třetí směs obou

H. influenzae (vlevo),
H. parainfluenzae (vpravo)

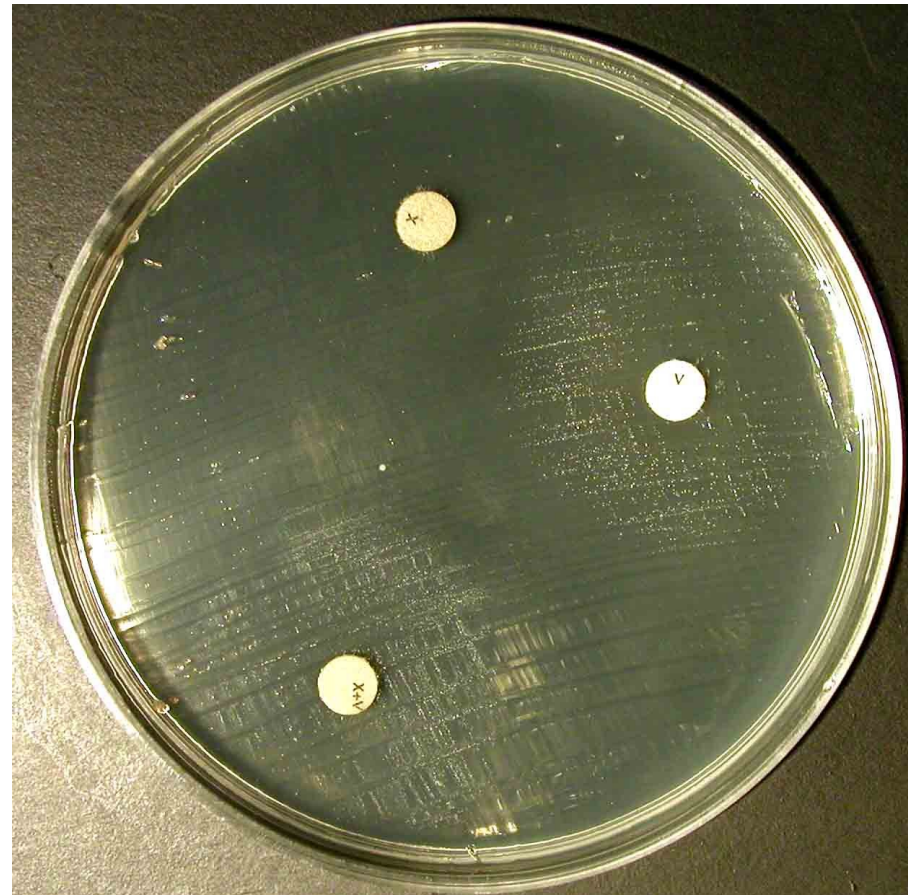
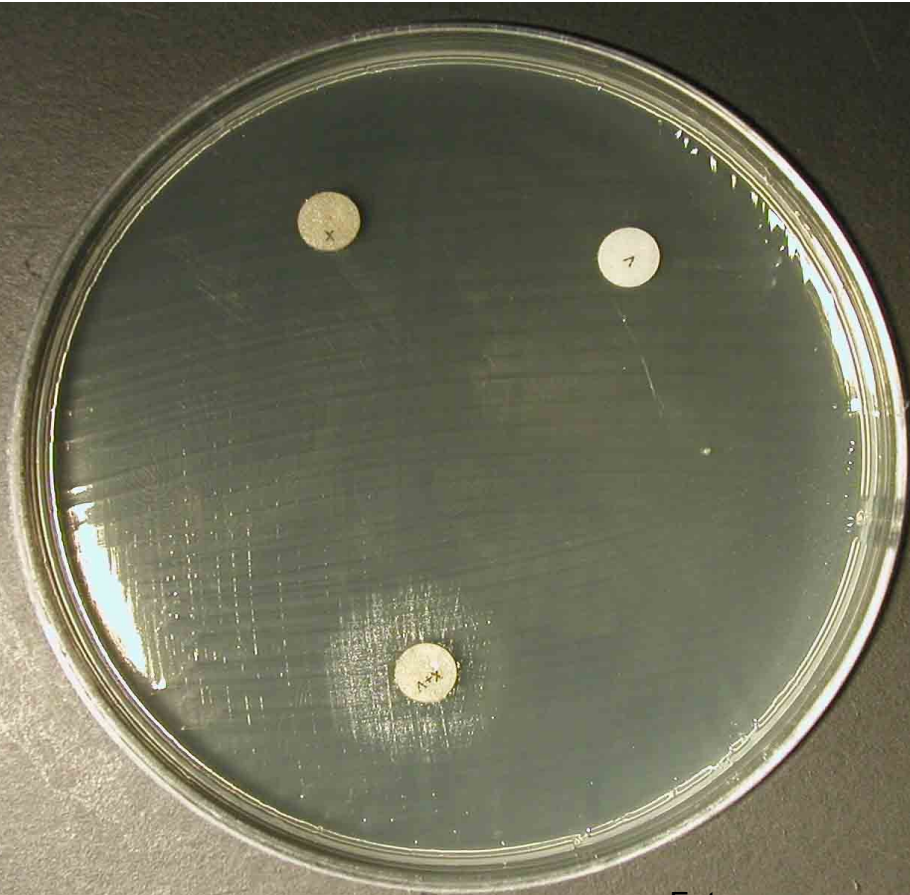


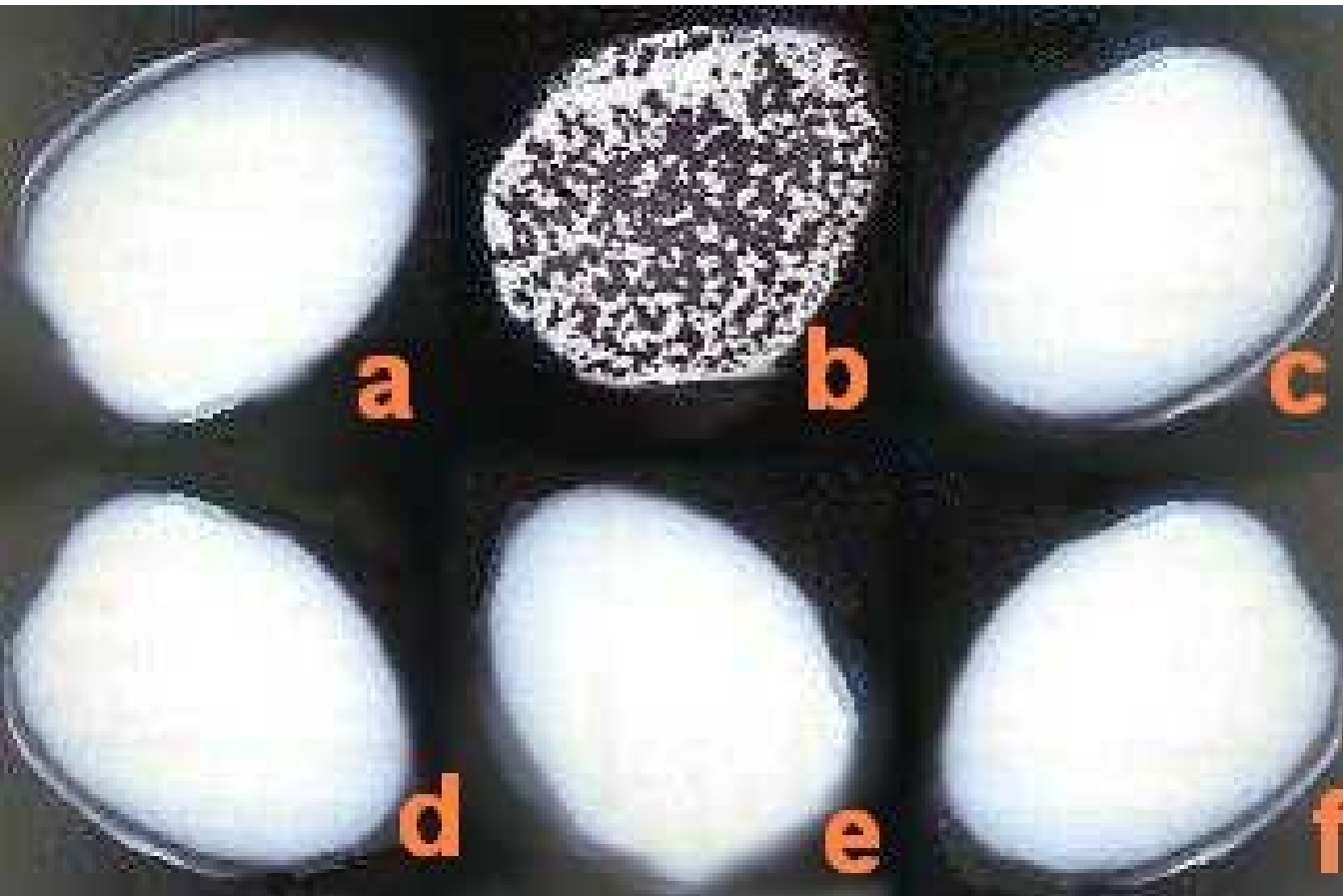
Foto:

Antigenní analýza hemofilů

- Antigenní analýza se u hemofilů provádí obdobným způsobem jako u jiných bakterií. Dnes jsou zpravidla k dispozici **komerční soupravy**, obsahující např. i latexové částice a další součásti
- Dříve se využívalo jevu tzv. **koaglutinace se stafylokokem**, kdy aglutinát byl hustší díky navázání stafylokoka na Fc konec protilátky proti hemofilovi

Antigenní analýza hemofilů – demonstrace výsledku

Výsledek se odečítá obdobně jako jiné aglutinační reakce.



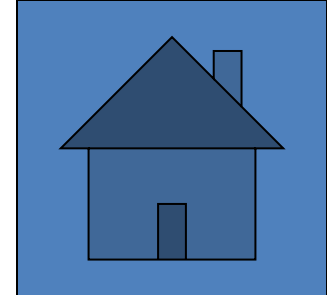
Detekce druhu *Pasteurella* typickým vzorcem citlivosti

- **Žádné gramnegativní bakterie nejsou citlivé na vankomycin.** Vankomycin lze použít jen u grampozitivních, avšak zde je silný: všechny streptokoky a většina stafylokoků a enterokoků je citlivá.
- Na druhou stranu, **jen málo bakterií je citlivých na penicilin, zvláště mezi G– tyčinkami.**
- **Kombinace citlivosti k penicilinu a rezistence k vankomycinu je poměrně specifická pro rod *Pasteurella*.**

Testy antibiotické citlivosti

- Hemofily **nerostou** na MH agaru
- Zpravidla se používá **Levinthalův agar** (přefiltrovaný čokoládový agar), na kterém jsou zóny lépe viditelné než na klasickém čokoládovém agaru
- V naší laboratoři se používá „**hemofilový agar**“, což je půda blízká agaru Levinthalovu

Typická sestava antibiotik pro léčbu hemofilových infekcí



Antibiotikum	Zkratka	Referenč. zóna
Penicilin (penicilin)	P	$C \geq 12 / R < 12$
Ko-amoxicilin (penicilin)	AMC	$C \geq 15 / R < 15$
Cefuroxim (CS II. gen.)	CXM	$C \geq 26 / R < 25$
Kys. nalidixová (chinolon)**	NA	$C \geq 23 / R < 23$
Tetracyklin (tetracyklin)*	TE	$C \geq 25 / R < 22$
Ko-trimoxazol (směs)	SXT	$C \geq 23 / R < 20$
*platí i pro doxycyklin **platí pro všechny chinolony		

Sestava pro pasteurelly je mírně jiná, podobná

Diagnostika
gramnegativních
nefermentujících
bakterií

Přehled metod používaných u G–nefermentujících bakterií

- Přímé metody
 - **Mikroskopie** – většinou jsou to G– tyčinky, ale *Acinetobacter* je G– kok
 - **Kultivace** – „nefermentující“ rostou na většině půd včetně krevního agaru. Jakožto glukózu nefermentující jsou většinou také laktózu nefermentující, ovšem kolonie některých z nich jsou kvůli pigmentaci poměrně tmavé
 - **Biochemická identifikace** – možná, ale je potřeba použít testy, zjišťující aerobní respiraci (ne fermentaci). Je také nutno použít sníženou teplotu a prodlouženou inkubaci
 - **antigenní analýza, detekce DNA** – rutinně se nepoužívají

Nepřímé metody se používají zřídka

Odlišení G– nefermentujících (diferenciální diagnostika)

- Gramovo barvení: **Gram– tyčinky** × jiné bakterie
- Endova půda: **rostou** (více později)
- Nefermentující se odliší od enterobakterií/vibrií tím, že nefermentují glukózu. Typické pro G– nefermentující je **chybění jakékoli změny na Hajnově půdě** (zůstává červená, **případná nahnědlá barva nevadí, je dána přítomností pigmentů**)

Bližší určení jednotlivých rodů a druhů G– nefermentujících

- **Pseudomonády** se zpravidla poznají:
 - Mají typickou **vůni** (mladé kultury)
 - Tvoří **pigmenty**, nejčastěji **zelené**, někdy modré či rezavé. Nejlépe jsou viditelné na MH, ale trochu i na KA či Endově agaru
 - Mají pozitivní **oxidázu**
- **Ostatní nefermentující**, případně sporné pseudomonády, musíme rozlišit biochemicky, například NEFERMtestem 24 (v kombinaci s oxidázovým testem)

Pseudomonády na MH agaru a ostatních půdách

- Uvědomte si, že MH agar je sám o sobě téměř bezbarvý, resp. lehce nažloutlý.
- Vše zelené, co vidíte na agaru, je výtvořem pseudomonády, resp. jejího pigmentu pyoverdinu
- Na KA a Endu se tvorba pigmentu projevuje méně, ale projeví se také. Na těchto půdách je zato typický perleťový lesk kolonií.

Oxidázový test u nefermentujících

- Z nejběžnějších G– nefermentujících tyčinek má *Pseudomonas* oxidázu pozitivní, *Burkholderia* zpravidla také; *Stenotrophomonas* většinou ne a *Acinetobacter* také nikoli.

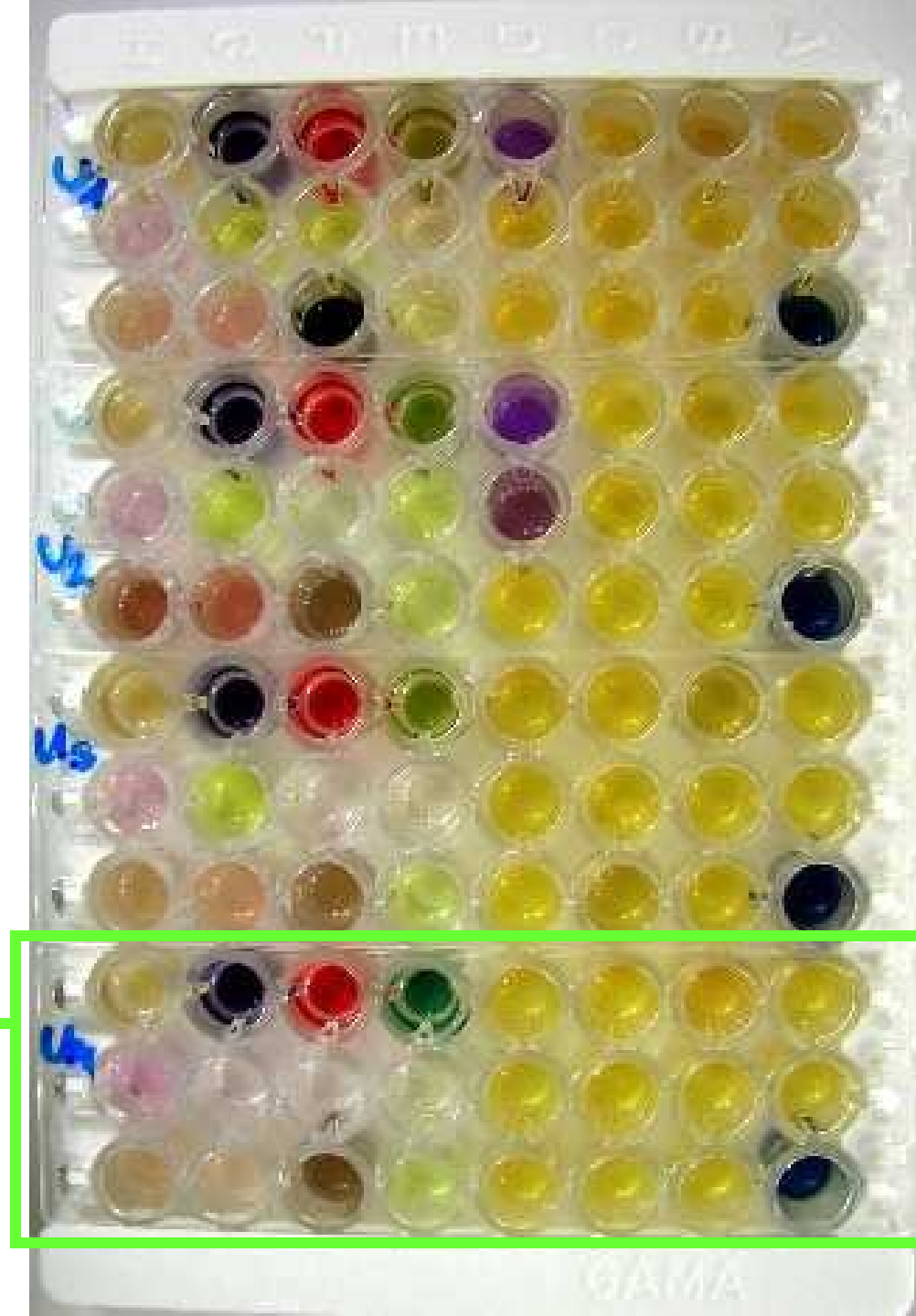


NEFERMtest 24

- Pro přesnou biochemickou identifikaci G–nefermentujících užíváme většinou Nefermtest 24 (nebo podobný jiných výrobců).
- Je to trojstrip (ne dvojstrip jako minulý týden)
- Kód se tu tvoří poněkud jiným způsobem:
 - první číslice je 0 (oxidáza –) nebo 1 (oxidáza +)
 - dalších 6 číslic pochází ze sloupců H až C
 - sloupce B a A se nepočítají (používají se jen pro případné další rozlišení)

NEFERMtest 24

Do jednoho rámečku lze vložit čtyři trojřádky pro čtyři kmeny, každý se identifikuje pomocí 24 reakcí



Atb citlivost nefermentujících

- G– nefermentující naopak rostou ochotně na nejrůznějších médiích
- Pro testování i léčbu používáme poměrně silná antibiotika, nevhodná pro léčbu infekcí způsobených běžnými bakteriemi
- Konkrétně se tu používají
 - cefalosporiny 3. generace* (ale jen některé, tzv. „protipseudomonádové“, jako je ceftazidim)
 - protipseudomonádové peniciliny, monobaktamy a karbapenemy* (imipenem, piperacilin/tazobactam)
 - aminoglykosidy (gentamicin, amikacin)
 - fluorochinolony (ciprofloxacin, ofloxacin)
 - polypeptidy (kolistin)

**a jejich kombinace s inhibitory betalaktamáz*

Typická sestava atb používaných proti pseudomonádám

Antibiotikum	Zkratka	Referenční zóna (mm)
Piperacilin+tazobaktam*	TZP	$C \geq 18 / R < 18$
gentamicin (amonoglykosid)	CN	$C \geq 15 / R < 15$
ofloxacin (chinolon)	OFL	$C \geq 16 / R < 13$
ciprofloxacin (chinolon)	CIP	$C \geq 26 / R < 26$
ceftazidim (CS III gen.)	CAZ	$C \geq 17 / R < 17$
kolistin (polypeptid)	CT	$C \geq 11 / R < 11$
*protipseudomon. penicilin + inhibitor β -laktamázy		

Na obrázku je *Pseudomonas aeruginosa* pravděpodobně citlivá na všechna testovaná antibiotika; je to však možné jen proto, že jsou testována jen speciální protipseudomonádová léčiva. I tak se vyskytují polyrezistentní kmeny sekundárně rezistentní i k nim.



Zejména producenti takzvaných metalo-betalaktamáz (MBL) jsou často citliví jen na amikacin a kolistin

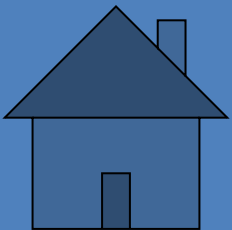
Testování citlivosti je možné i E-testem
(na obrázku) nebo mikrodilučním
testem



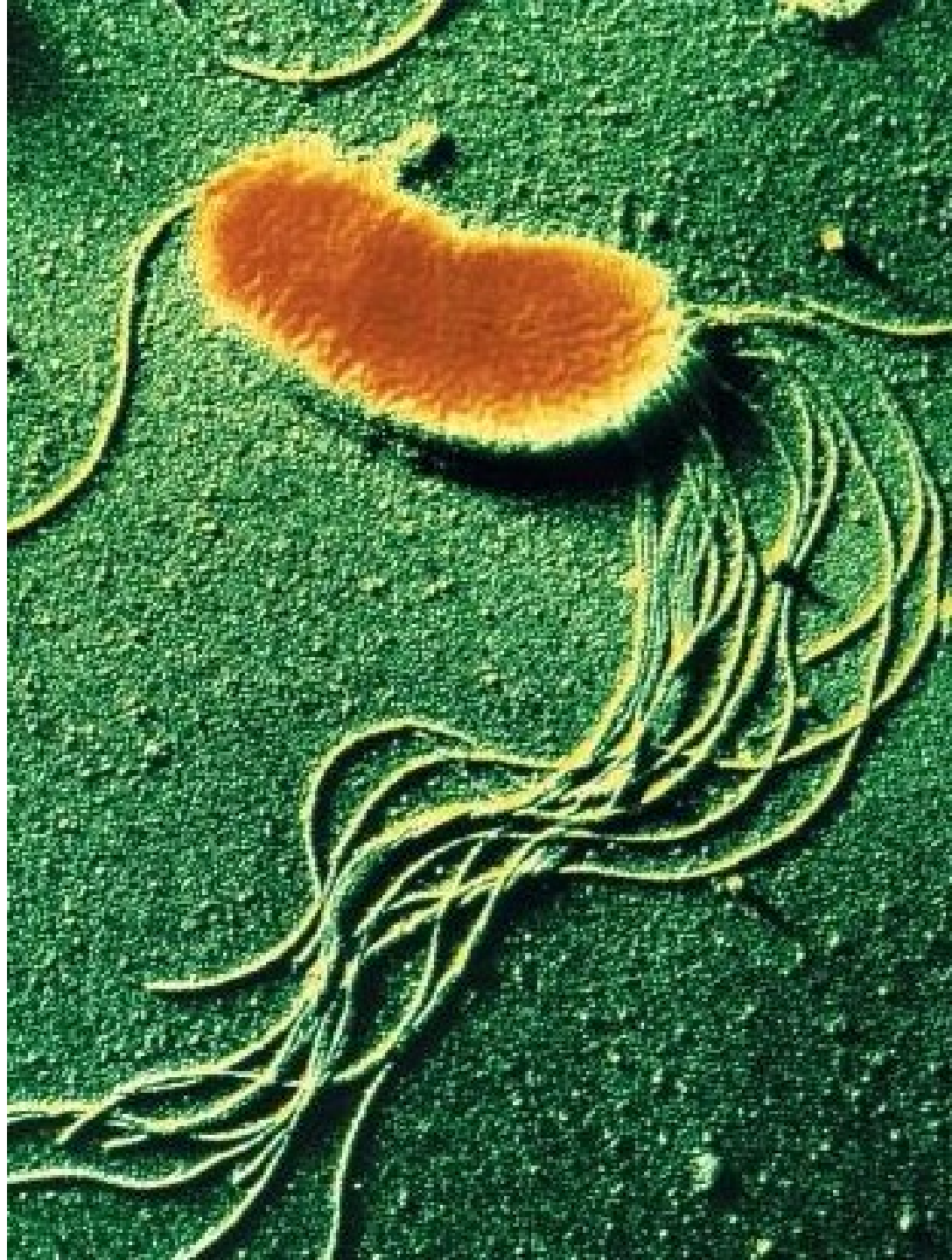
Foto: Mikrobiologický
ústav

Konec

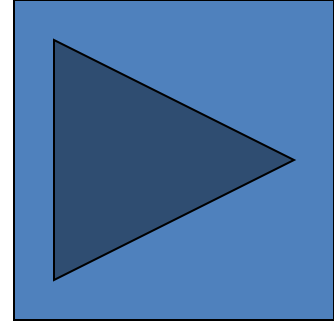
Zpět na hlavní obsah



<http://www.scienceclarified.com>



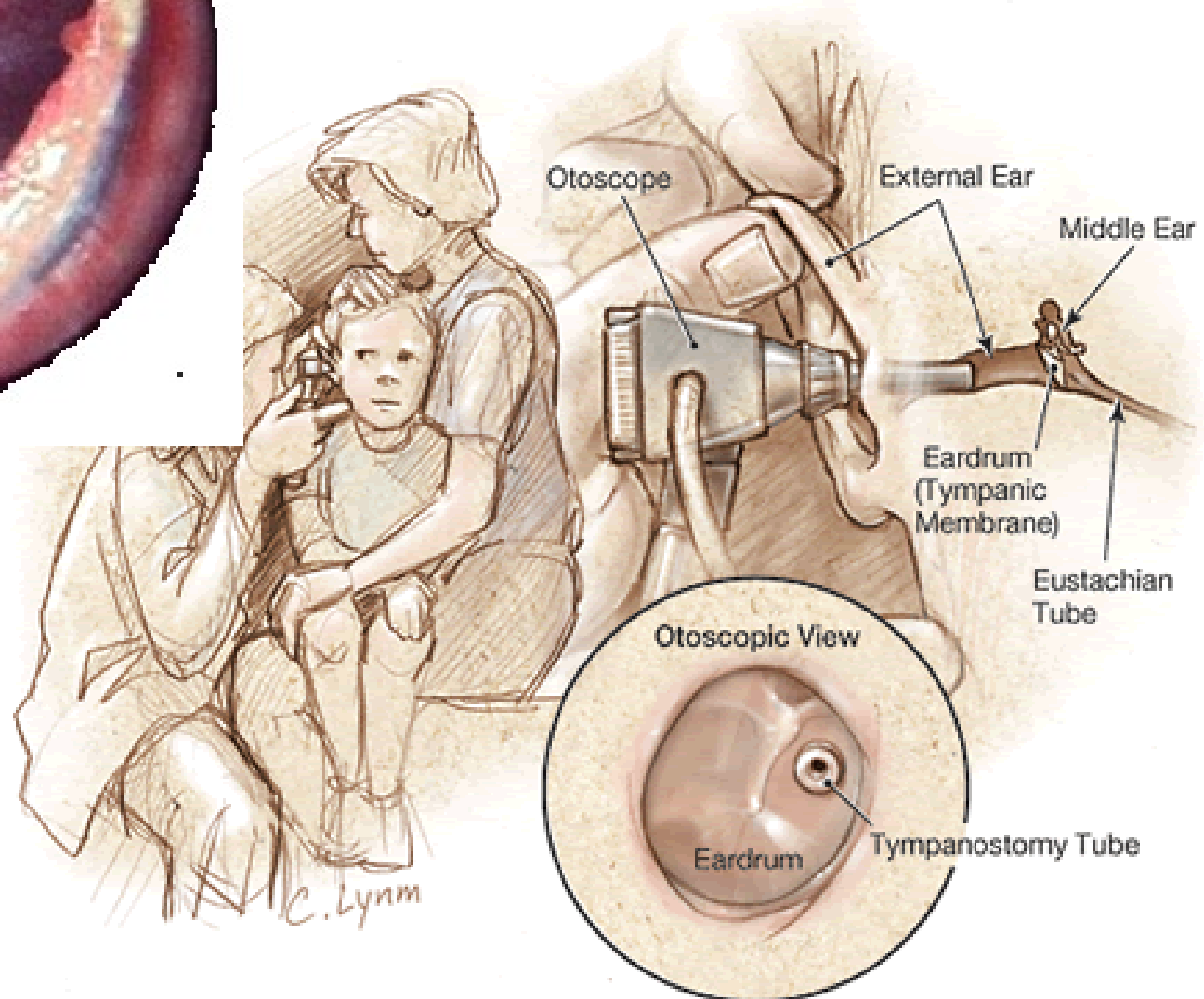
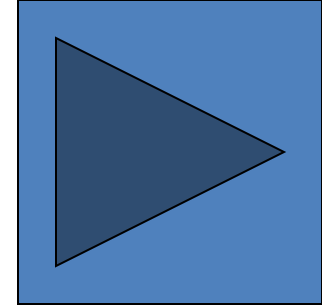
Záněť středního ucha – otitis media (bonus)



- **Častý u dětí** (krátká vodorovná Eustachova trubice)
- **Původci:** *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*
- **U chronických** se mohou uplatnit i některé gramnegativní tyčinky

Nutno odlišit záněty boltce a zevního zvukovodu: tady je původcem hlavně Staphylococcus aureus (jako u jiných zánětů kůže), léčba lokálně např. framykoin kapky

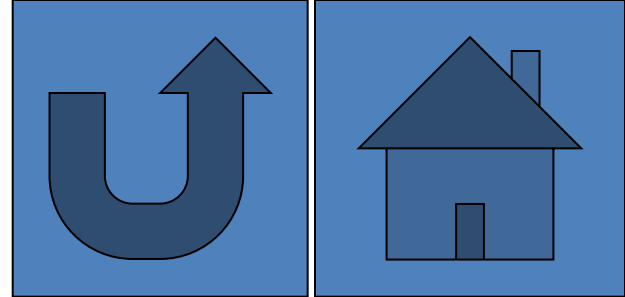
Otitis media



<http://www.otol.uic.edu/research/microtology/Microtology/acute1.htm>

http://www.medem.com/MedLB/article_detailb.cfm?article_ID=ZZZPMV6D1AC&sub_cat=544

Vyšetřování a léčba infekcí středního ucha



- **Léčba** má smysl, pokud jde o skutečně prokázaný zánět (bolest, zarudnutí, horečka) a nereaguje na protizánětlivou léčbu
- **Lékem volby** je amoxicilin (např. AMOCLEN), alternativou může být ko-trimoxazol
- Vyšetřovat **výtěr ze zvukovodu** má smysl pouze po provedené paracentéze (propíchnutí bubínku)
- Jinak má samozřejmě smysl vyšetřit **hnisavou tekutinu**, která je při paracentéze odebrána

G-BAK-

TERIE III

Přehled témat

Klinická charakteristika – G– koky

Klinická charakteristika – „jiné G– tyčinky“

Diagnostika G– koků

Diagnostika „jiných G– tyčinek“

Klinická charakteristika – G– koky

Příběh pátý

- Honza byl mamčin 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 „společnici“ na večer. Honza měl pocit, že je konečně mužem... jenže pak přišlo svědění a odkapávání hnisu z močové trubice.

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

Příběh šestý

- 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 E-čkem
- 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**
- Virulence souvisí zřejmě především s výbavou **proteinovými antigeny**. Naopak **polysacharidové antigeny** určují především to, zda kmen je preventabilní očkováním

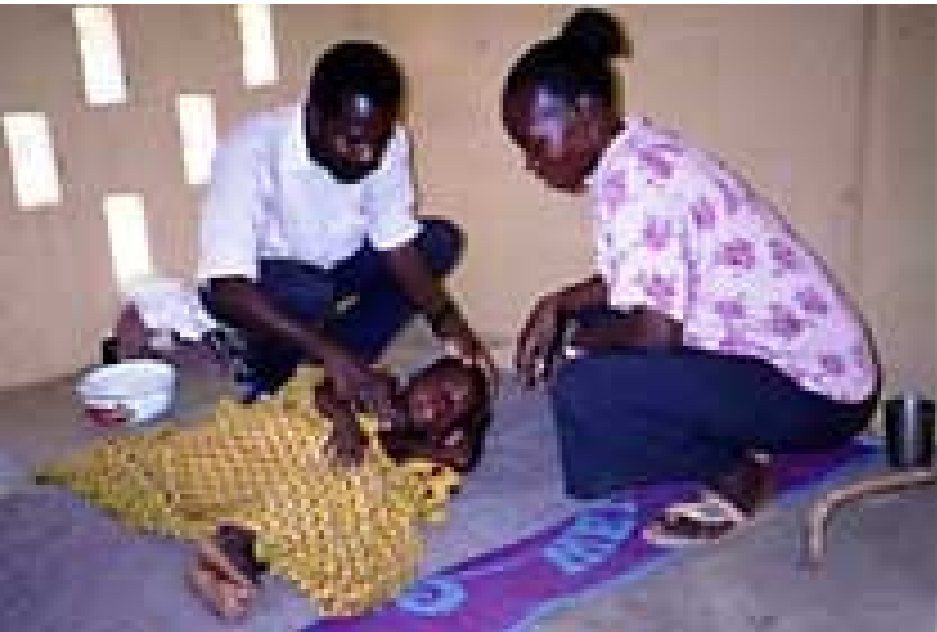
Proč někdy infekce nastane a jindy se nic nestane

- 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**

Navzdory závažnosti je meningokoková infekce u nás poměrně vzácná, na rozdíl od některých jiných částí světa, jak je vidět na následujícím obrázku.

Meningokoková meningitida je celosvětově velmi závažnou nákazou

„Meningitis belt“, kde se hodně vyskytuje meningokoková meningitis



Léčba

- Klíčové je **zabezpečit přežití pacienta** (hlídat krvácení a acidobazickou rovnováhu)
- Zároveň se podávají antibiotika
- Lékem volby dle guidelinů je i dnes **klasický penicilin**, ale reálně by se použil spíše na mírnější infekce. U meningitid dnes převažují cefalosporiny třetí generace (**ceftriaxon** – dobrý průnik do likvoru) nebo další antibiotika (makrolidy, tetracykliny, chinolony)

Prevence očkováním

- Vzhledem k nízké incidenci se v Evropě (navzdory vysoké smrtnosti) zpravidla neočkuje celá populace, ale jen rizikové skupiny (vojáci, lidé v kontaktu s rizikovými kmeny)
- Problémem je **seroskupina B**, jejíž antigenní determinanta je slabá. Dlouhou dobu nebyla k dispozici žádná univerzální vakcína proti této skupině (pouze proti jednotlivým typům). Nyní již univerzální vakcína existuje, ale její účinnost je nejistá (první data hovoří o účinnosti kolem 74 %).

Vakcíny

- Mezi vakcínami jsou rozdíly. **Staré polysacharidové** vakcíny chrání hůře než **nové konjugované** vakcíny
- Jsou také rozdíly v **seroskupinách** (samotné C, A + C nebo tetra vakcína A + C + W135 + Y)
- B a C jsou zdaleka nejběžnější v Česku, ale například při hadždži do Mekky () by se poutníci měli nechat očkovat proti W135



Různé serotypy v rámci světa

<http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/09vol35/acs-dcc-4/index-eng.php>



Porovnejme neisserie:

	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

Příběh sedmý

- Anička **plakala a chytala se za ucho**. Maminka jí změřila teplotu, a ta byla zvýšená
- V ordinaci praktického lékaře pro děti a dorost byla vyšetřena a stanovena diagnóza **zánětu středního ucha**
- Jelikož **bubínek již byl prasklý**, hnis byl zaslán k vyšetření
- Okamžitě byl nasazen AMOCLEN (**amoxicilin**), následně byl vykultivován **citlivý patogen**

A tím patogenem byla

- ***Moraxella* (podrod *Branhamella*) *catarrhalis***
- Tento organismus bývá přítomen u zdravých osob v malém množství ve faryngu
- V čisté kultuře způsobuje **sinusitidy, otitis media, faryngitidy** a podobně.
- Jméno podrodu (původně rodu) *Branhamella* je odvozeno od Sáry Branhamové, jedné z prvních žen-badatelek. Byla to jedna ze statečných žen, které ukázaly mužům, že nejen oni mohou být dobrými vědci

Moraxella (Branhamella) catarrhalis

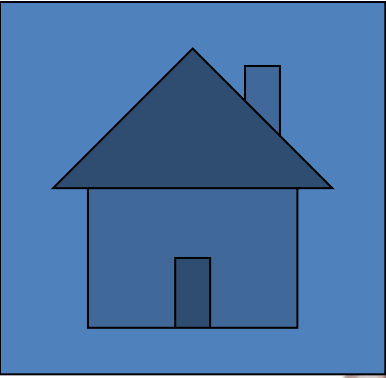


Photo Inst. for Microbiology



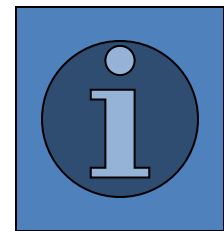
Klinická
charakteristika –
„jiné G– tyčinky“

Příběh osmý

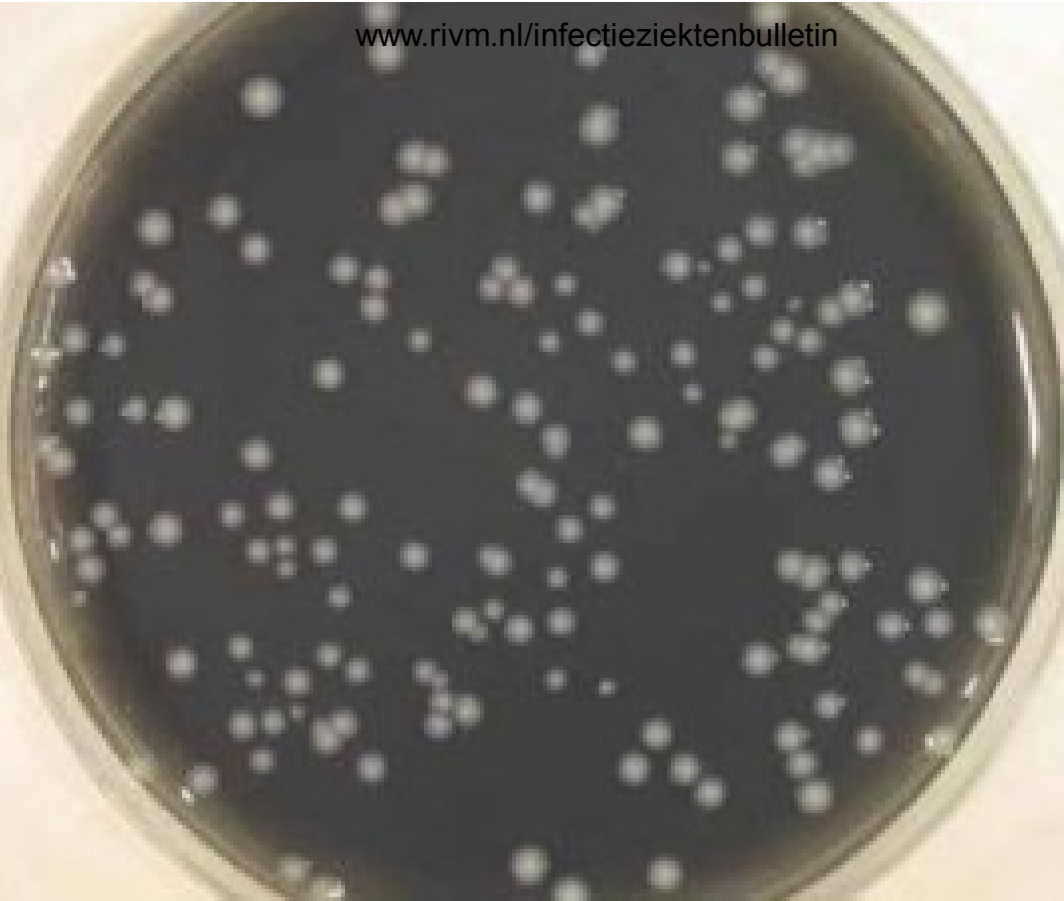
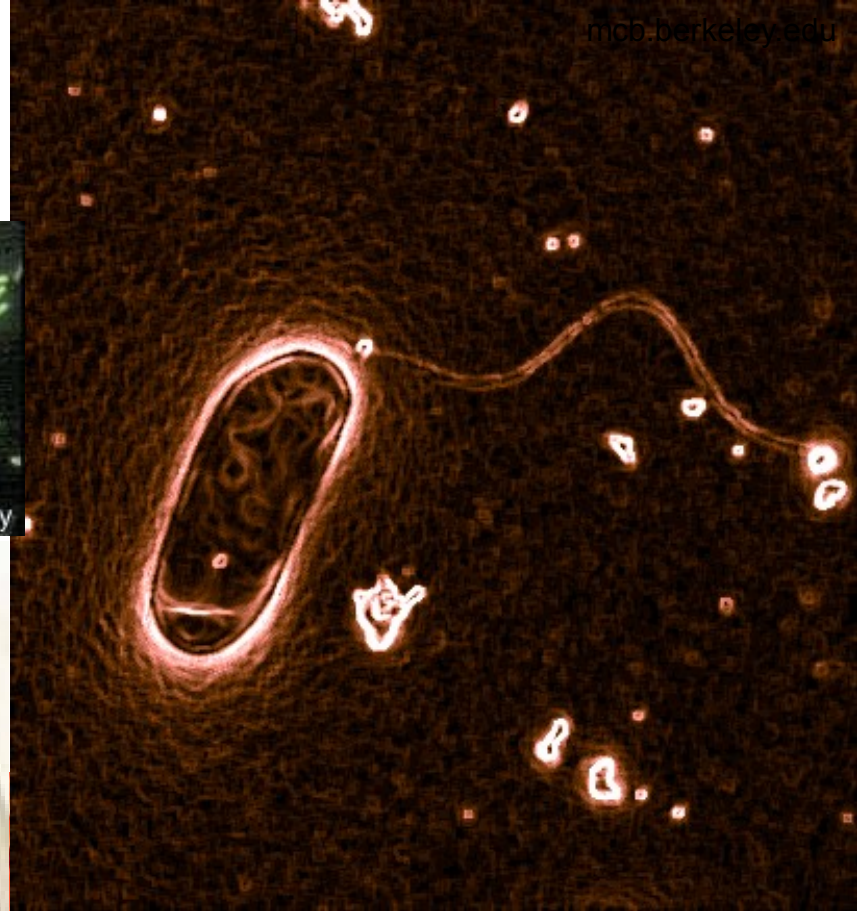
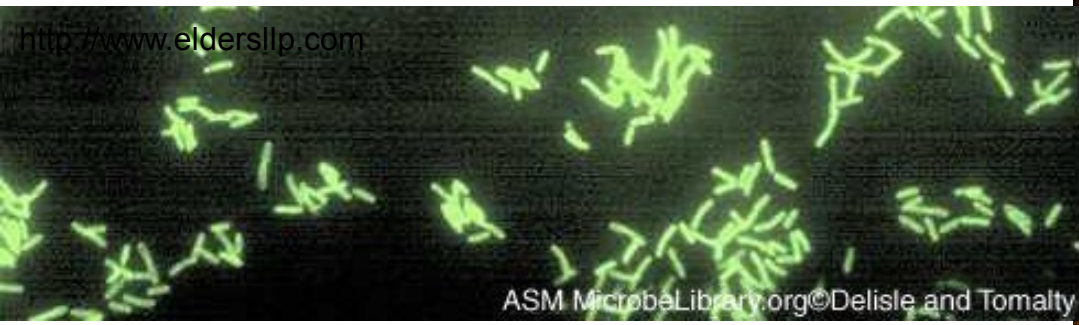
- Toho dne bylo v nemocnici velké hemžení: další tři pacienti, všichni **senioři**, onemocněli, a u všech to bylo totéž – **problémy s dechem a horečka**
- Po důkladném vyšetření laboratoř našla patogena nejen ve vzorcích od pacientů, ale i ve **vodovodním vedení** nemocnice. Vodovod musel být předělán, a teprve pak se další infekce definitivně zastavily.

Legionářská nemoc

- Tuto nemoc působí *Legionella pneumophila*
- Legionářská nemoc je těžší variantou nemoci; existuje ještě mírnější varianta, **Pontiacká horečka**.
- Bakterie má často rezervoár ve **vodovodech, klimatizaci, atd.**
- Při stavbě nových částí nemocnic (ale i domovů důchodců, hotelů, lázní...) se musí podniknout opatření na prevenci legionelózy, především při plánování vodovodní sítě (problémem jsou zejména slepé odbočky, které pak nelze propláchnout horkou vodou či desinfekcí)



Legionella

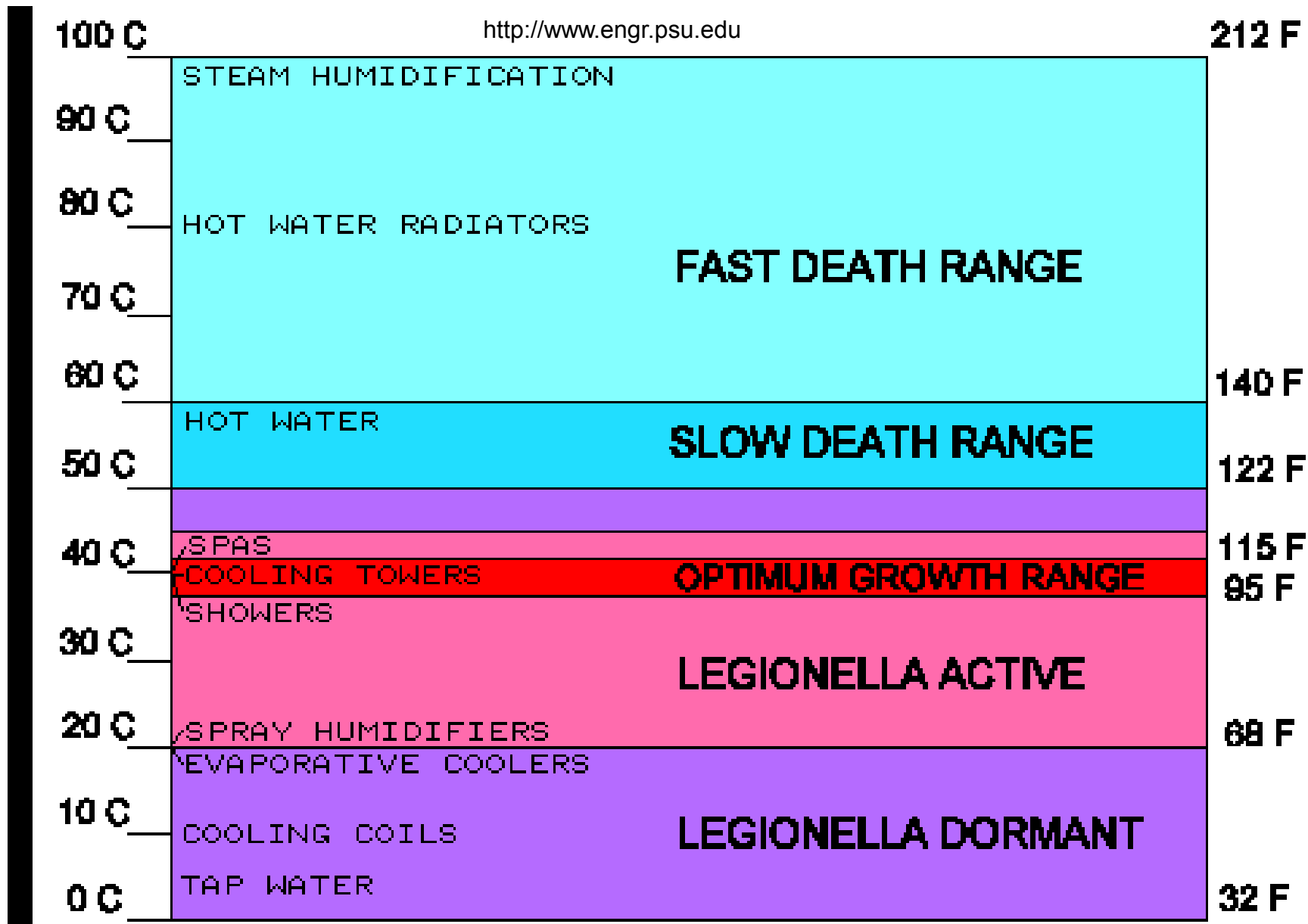


Legionářská
nemoc
(anglicky:
Legionaire's
disease)



Legionella a teplota

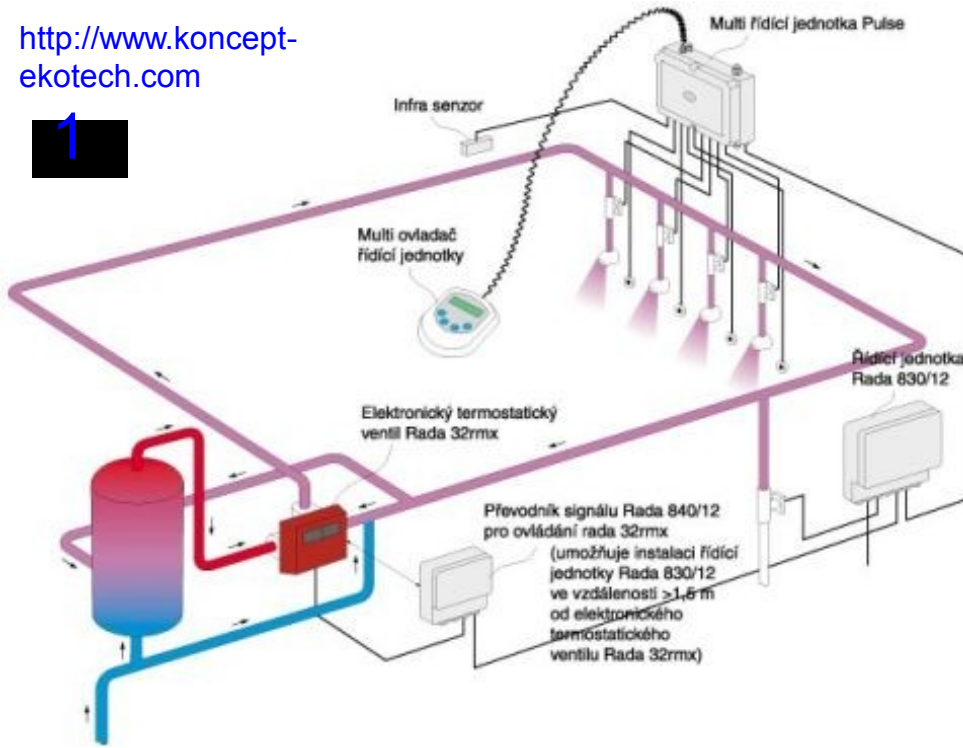
<http://www.engr.psu.edu>



Některé způsoby dezinfekce vody

<http://www.koncept-ekotech.com>

1



- 1 horká teplota
- 2 UV paprsky
- 3 filtrace
- 4 chlorace

3



<http://www.awtwater.co.uk>

4

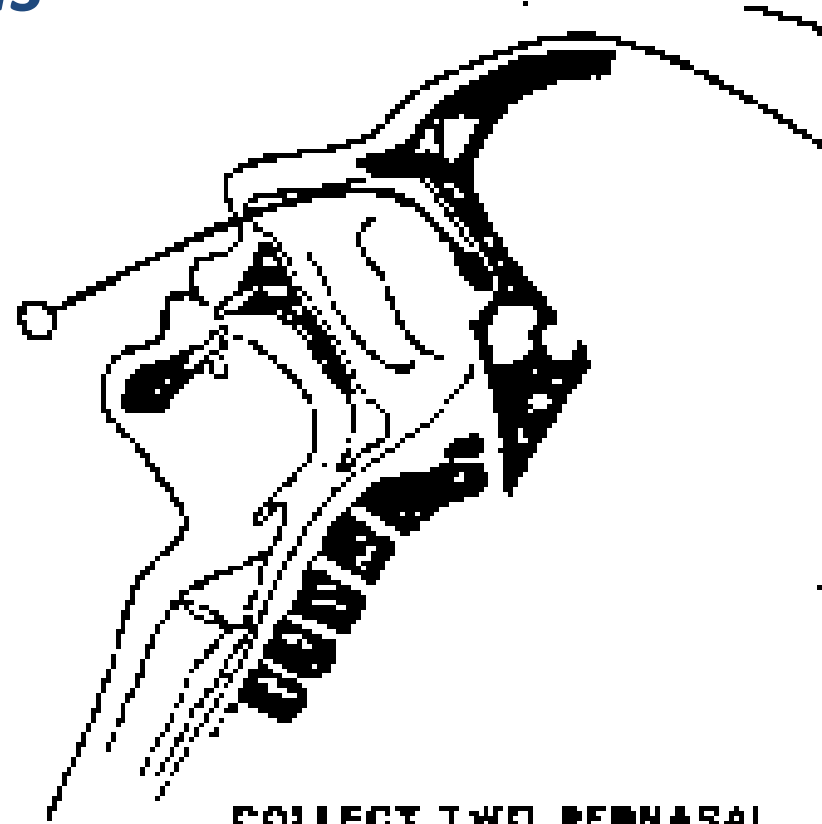


„Další gramnegativní bakterie“

- 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.
- Vedle rodu *Legionella* zmiňme alespoň tři rody: *Bordetella*, *Brucella* a *Francisella*

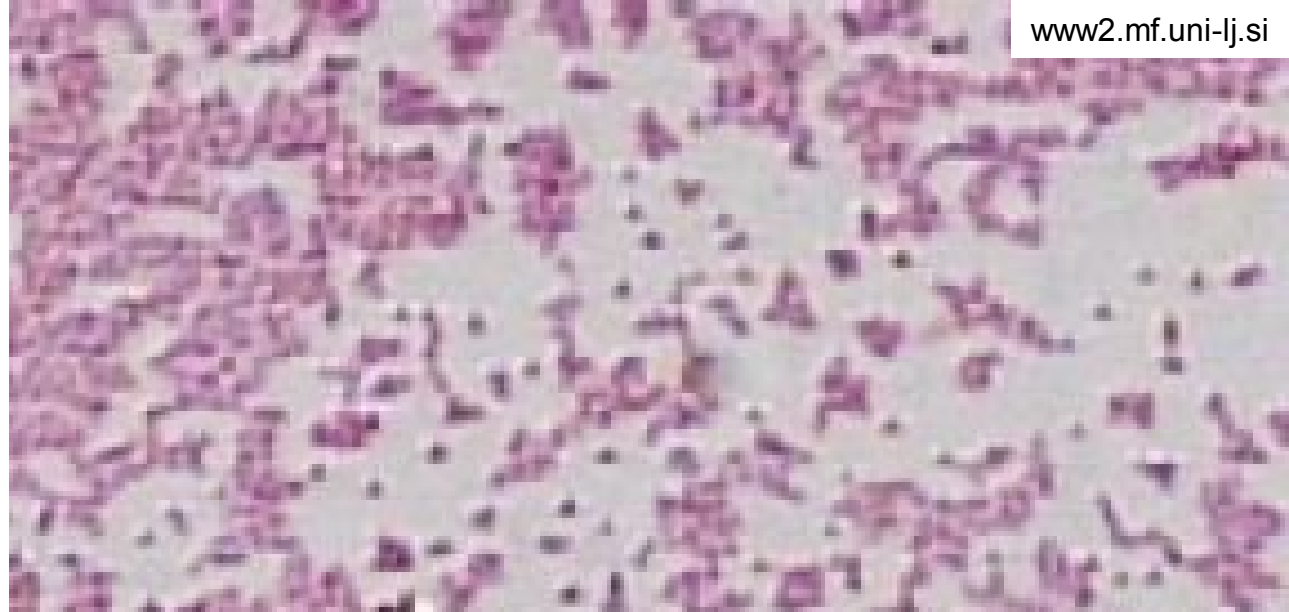
Rod *Bordetella*

- *B. pertussis* a *B. parapertussis* způsobují černý kašel
- *B. bronchiseptica* způsobuje různé patologické stavy u člověka i zvířat
- Černý kašel je velmi vzácný díky očkování
- **Pernasální výtěr** slouží k diagnostice (odběr z nosohltanu bez dotyku okolních sliznic)



COLLECT TWO PERNASAL
NASOPHARYNGEAL SWABS

Bordetella



Bordetella pertussis

Causitive agent of Whooping cough

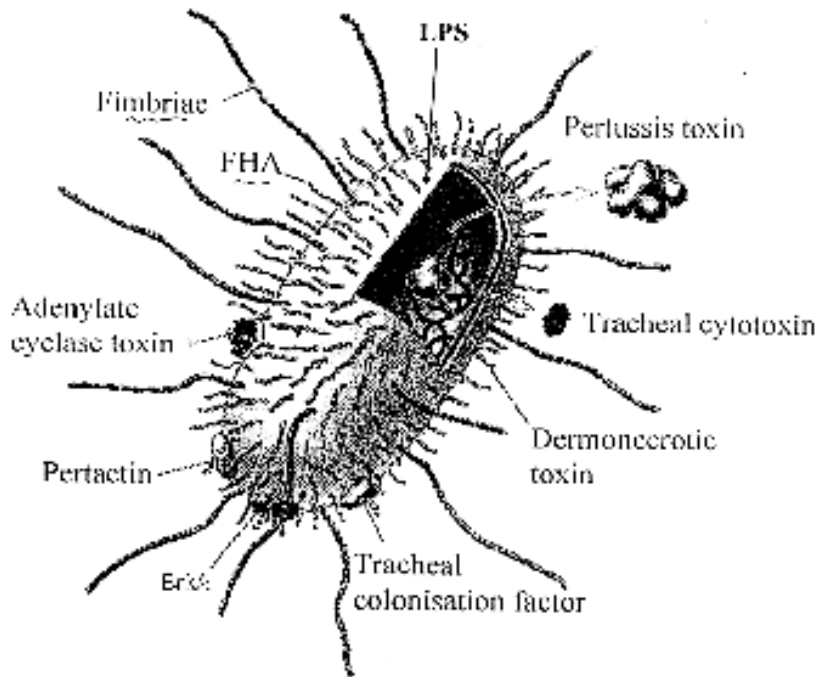
- Small gram negative bacterium
- Many virulence factors

Adhesins: Pertactin

- FHA
- Fimbriae

Toxins: Pertussis toxin

- ACT
- TCF
- LPS



Rod *Brucella*



www.poslovniforum.hr

- Je to původce zoonóz
- ***Brucella abortus*** je kraví patogen. Často napadá hovězí placenty, způsobujíc zmetání (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

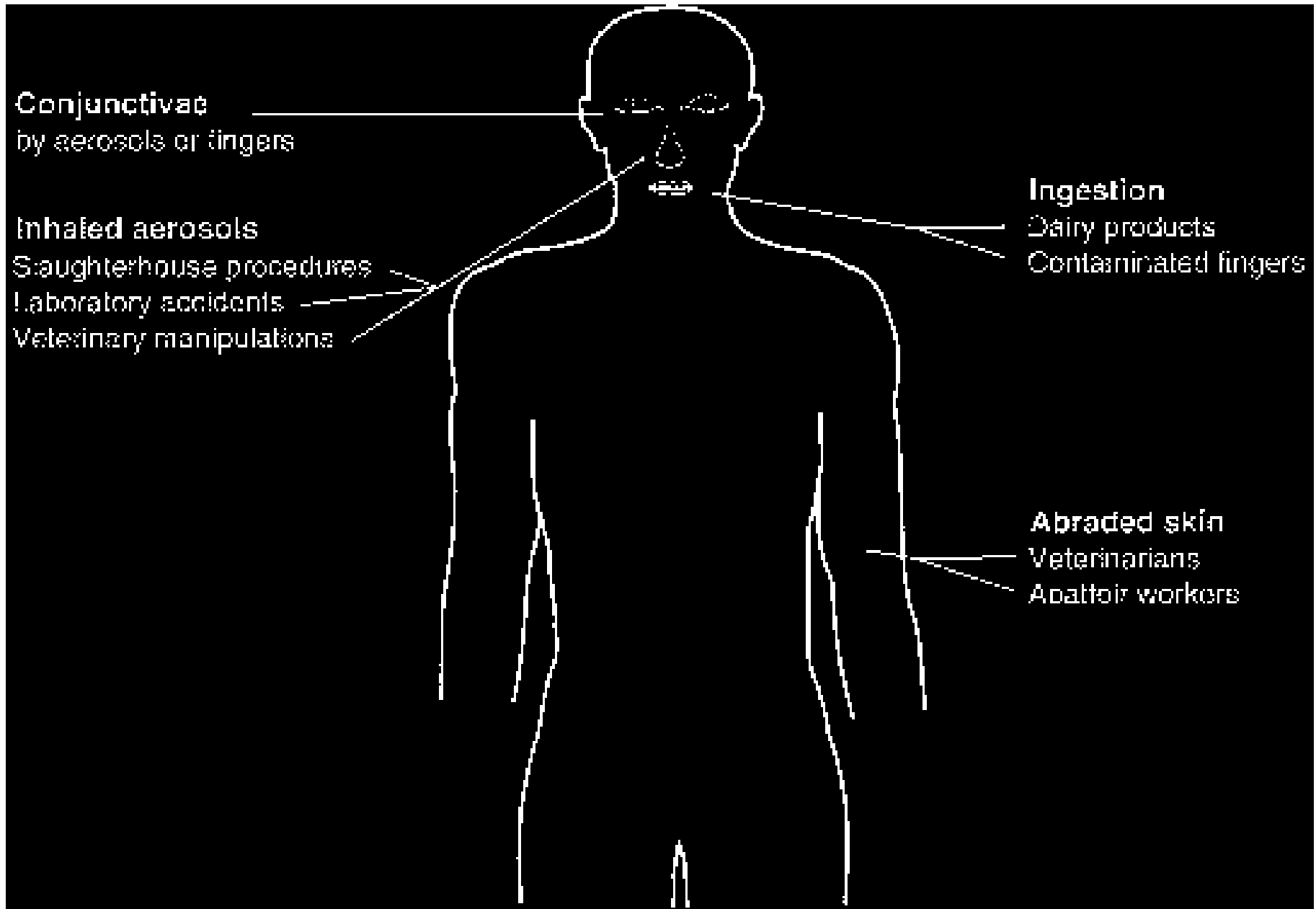
Brucella

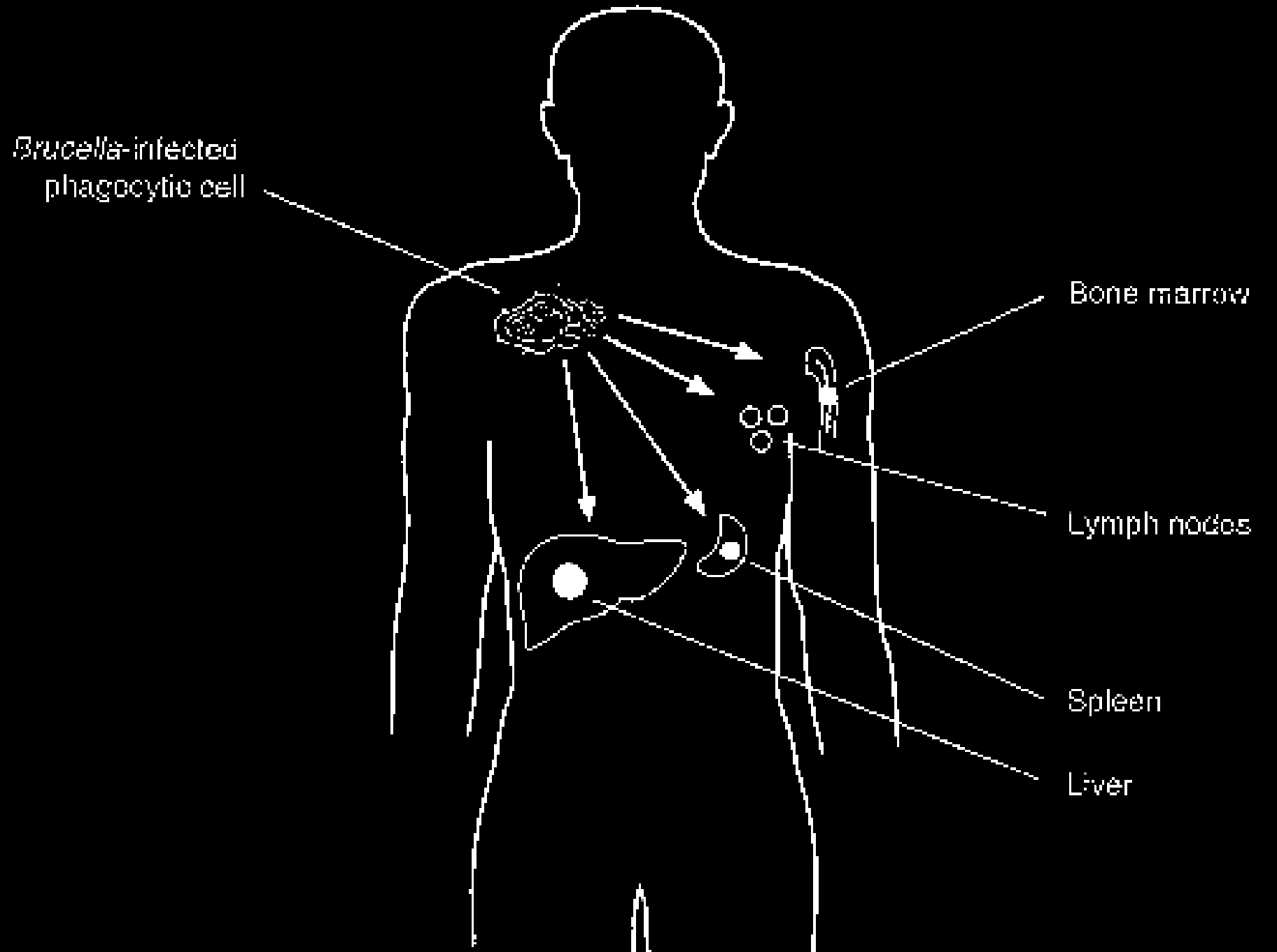


<http://pathport.vbi.vt.edu>

Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

<http://upload.wikimedia.org>



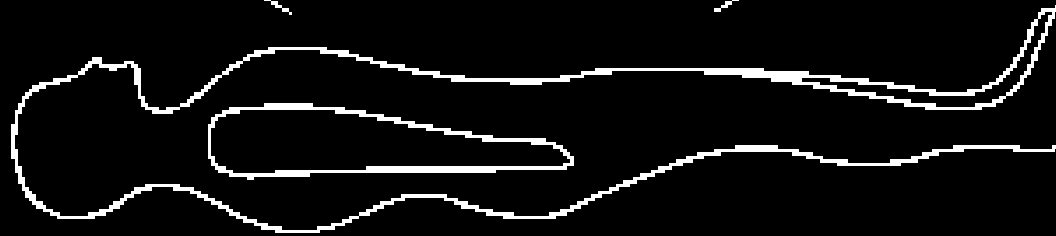
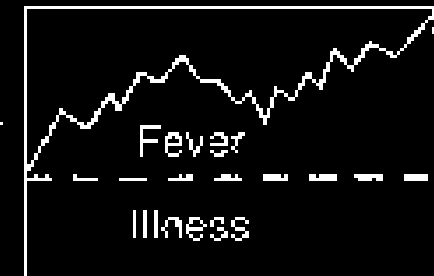


History and Physical Exam

Clinical

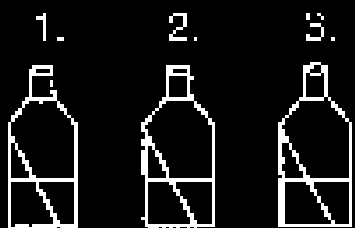
Occupation
Raw milk
Fresh cheese
Travel
Symptoms
Signs

Course of disease

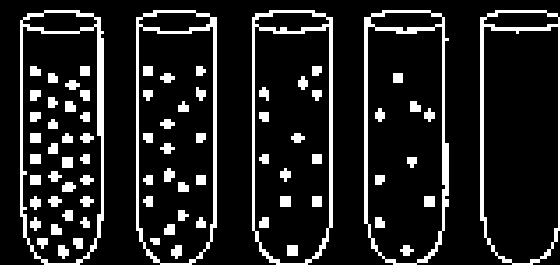


Laboratory

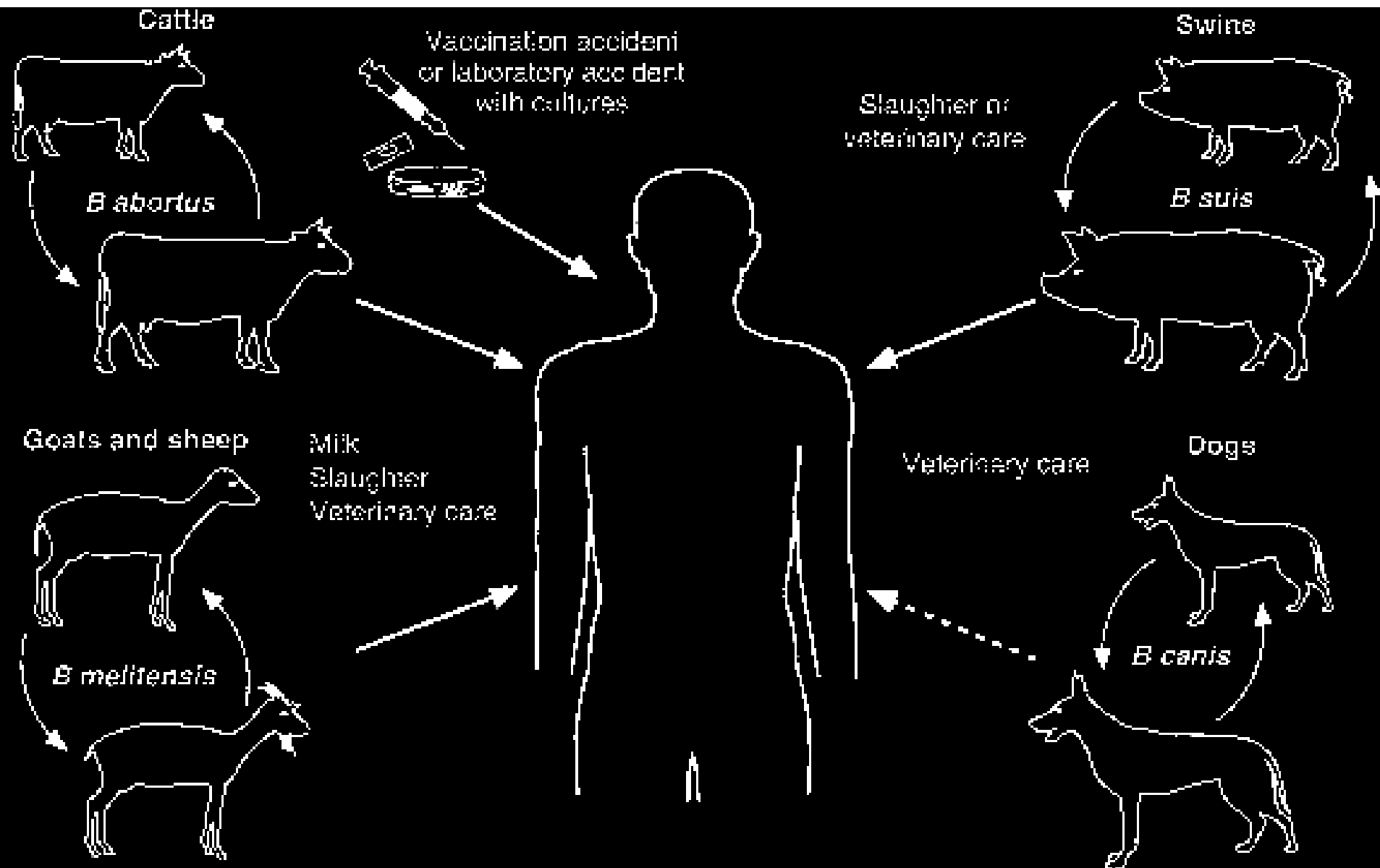
Blood cultures



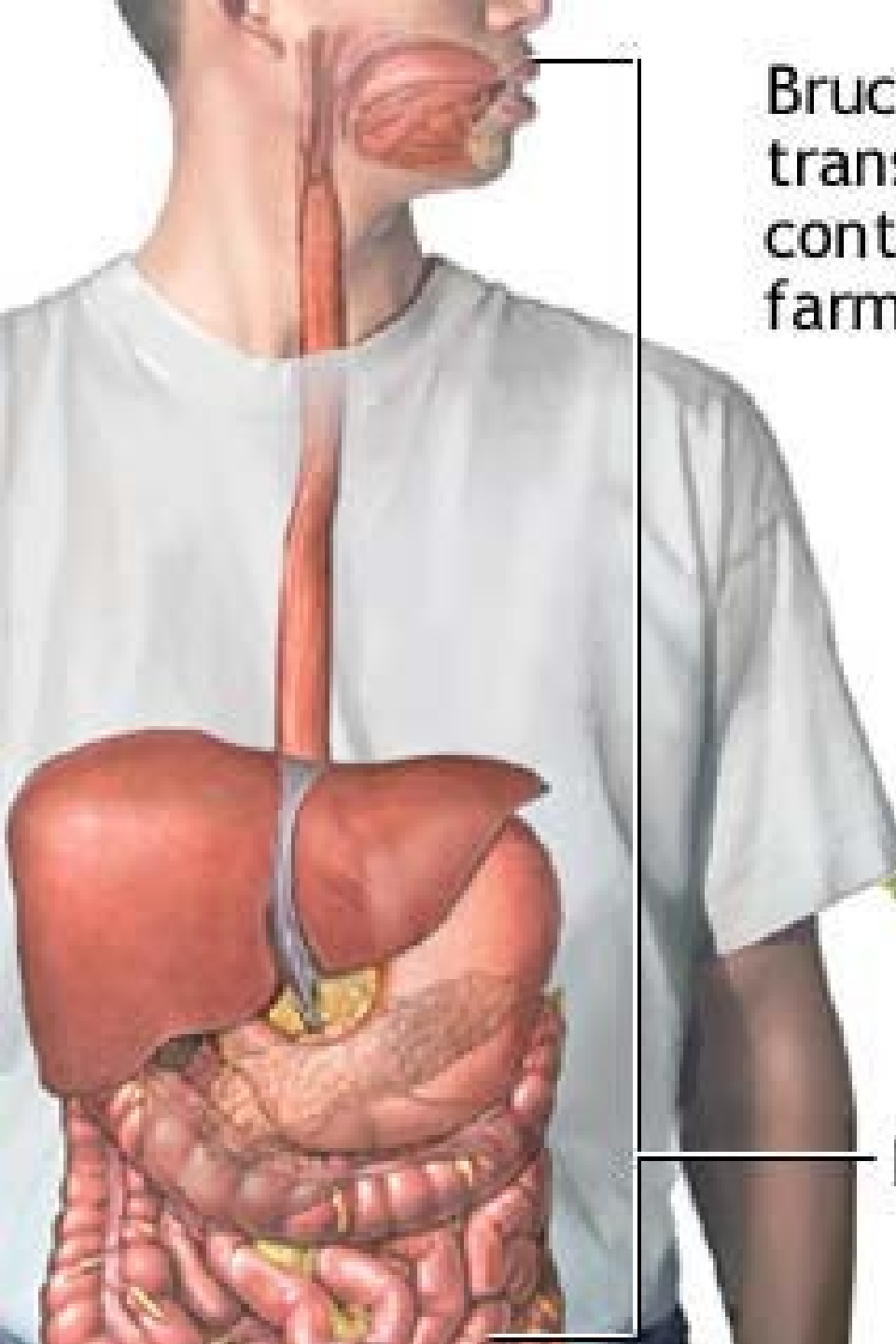
Quantitative serology



Poznámky k brucelám



Brucella bacteria is usually transmitted to humans by contact with infected farm animals.

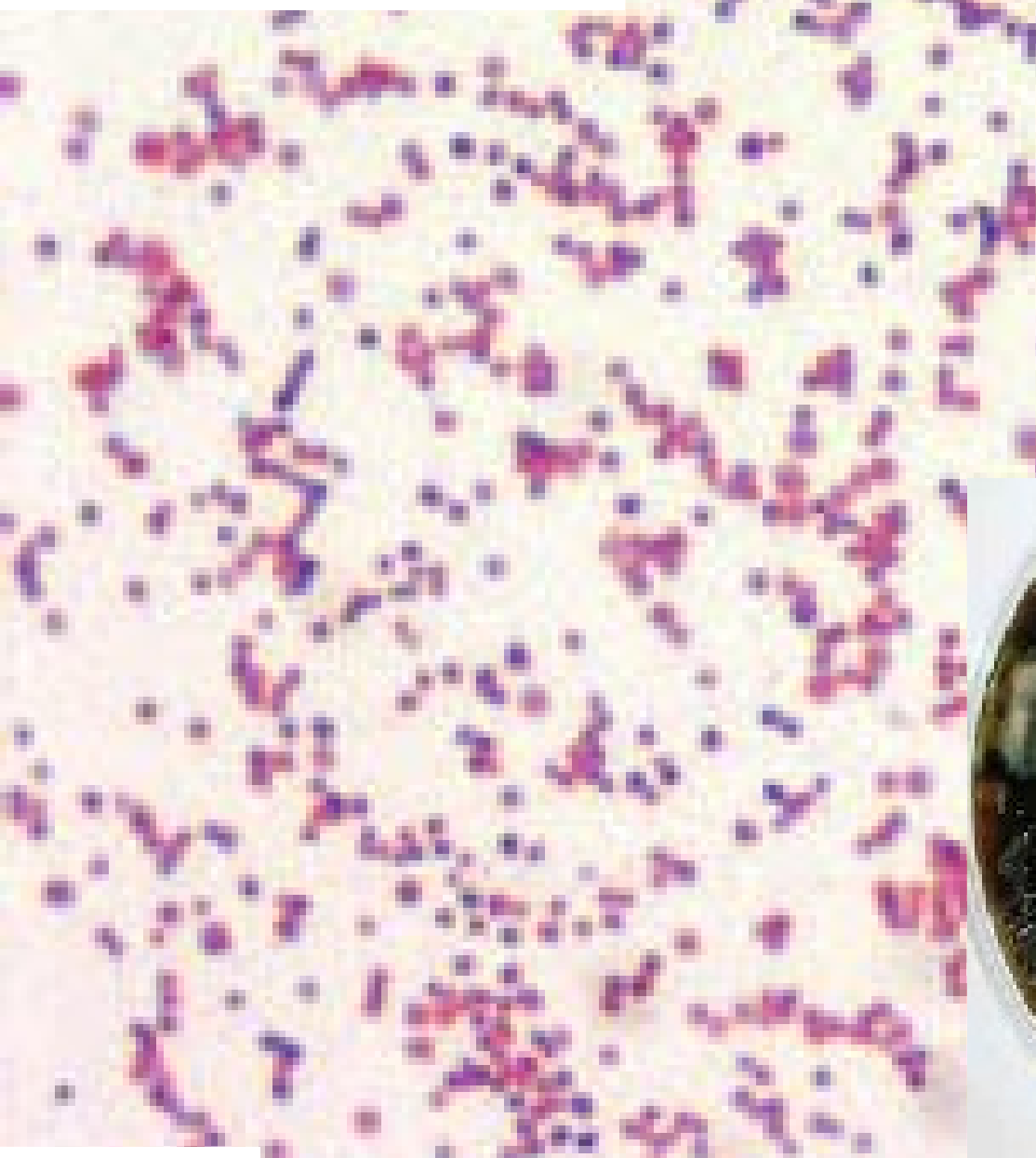


Digestive system

Rod *Francisella*

- Nejdůležitějším druhem je *F. tularensis*
- Způsobuje **tularémii** – „zaječí mor“
- **Myslivci**, ale ještě více **kuchaři připravující zvěřinu** jsou v riziku infekce
- Tento organismus může napadat **rány**, ale také je možné jej vdechnout, což vede k **zápalům plic**

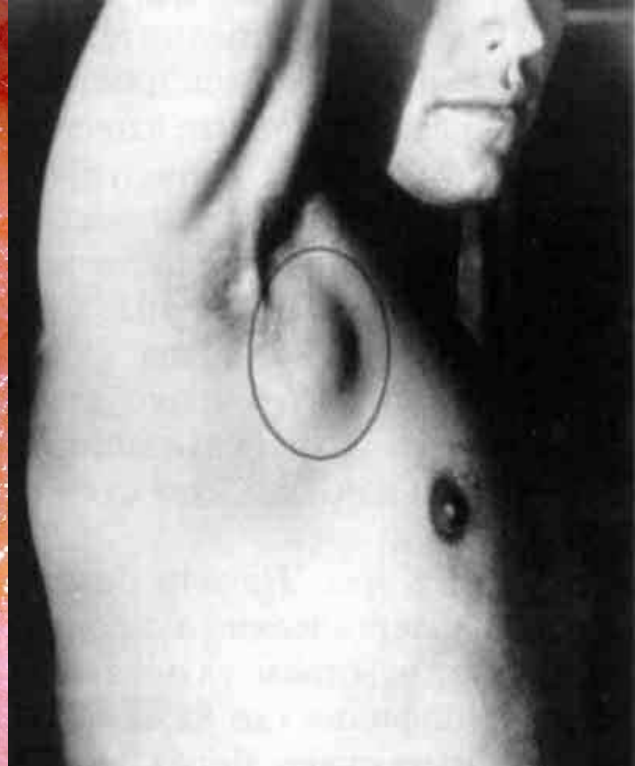
Francisella



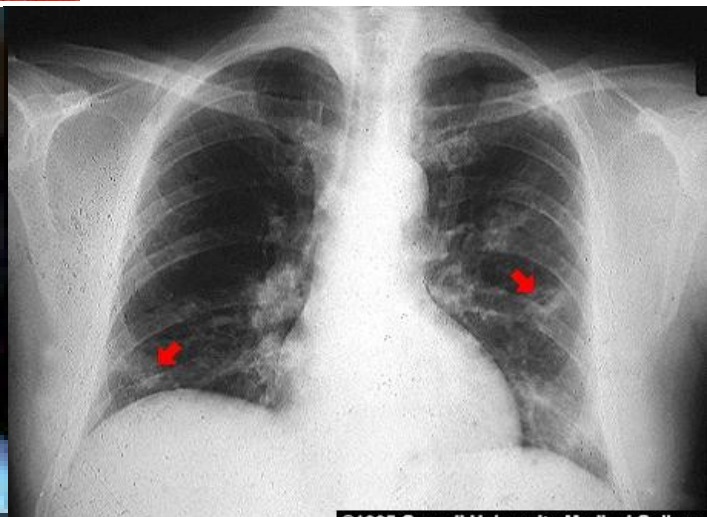
www.infektionsnetz.at



www.wnysmart.org/tularemia



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

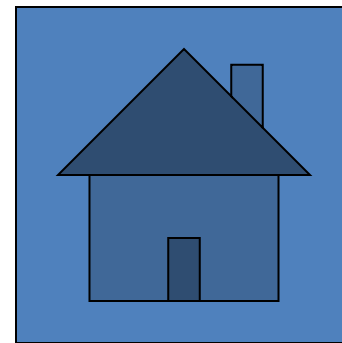


Z hlášení KHS o epidemiologické situaci (září 2008) – I (zkráceno)

- **Tularémie – A21:** Žena nar. 1970 z Valtic, zahradnice 20. 6. návštěva OL pro T 38 °C, bolest v krku, zduření uzlin nad klíčkem vpravo. Provedena exstirpace uzliny v nadklíčku. První sérologické vyšetření na tularémii negativní, další 2. 7. potvrzena tularémie
- **Brucelóza – A23:** Muž nar. 1972, Brno. 10. 5. zažívací obtíže, febrilie, hepatopatie, dg. potvrzena sérologickým vyšetřením. *Brucella abortus* pozitivní, KFR 1:8. V anamnéze od 15.4.–25.4. zájezd do Indonésie – Borneo (Kalimantan) – zájezd do pralesa. Dodatečně vykazované onemocnění

Z hlášení o epidemiologické situaci (září 2008) – II

- **Pertussis (A37.0):** Hlášena 4 onemocnění z BO 2x, HO 2x, ve věku 14 až 17 let, všichni očkováni a jeden nepřeočkován.
- **Parapertussis (A37.1):** Onemocnění ve 3 případech, BO 1x, HO 2x jako koinfekce.



Diagnostika

G- koků

Neisseria gonorrhoeae – odběry

U podezření na kapavku je velmi důležité provést správně odběry. Navzdory veškeré péči je časté, že patogen nepřežije transport. Proto je doporučováno poslat také nátěr na sklíčko z cervixu a urethry (avšak ne z rekta a faryngu)

Takže „komplexní vyšetření na kapavku“ zahrnuje

- **výtěr z urethry** na Amiesovu půdu + **nátěr**
- **výtěr z cervixu** na Amiesovu půdu + **nátěr (♀)**
- **výtěr z rekta** na Amiesovu půdu (bez nátěru)
- **výtěr z faryngu** na Amiesovu půdu (bez nátěru)

Odběry a akutní diagnostika u purulentní meningitidy

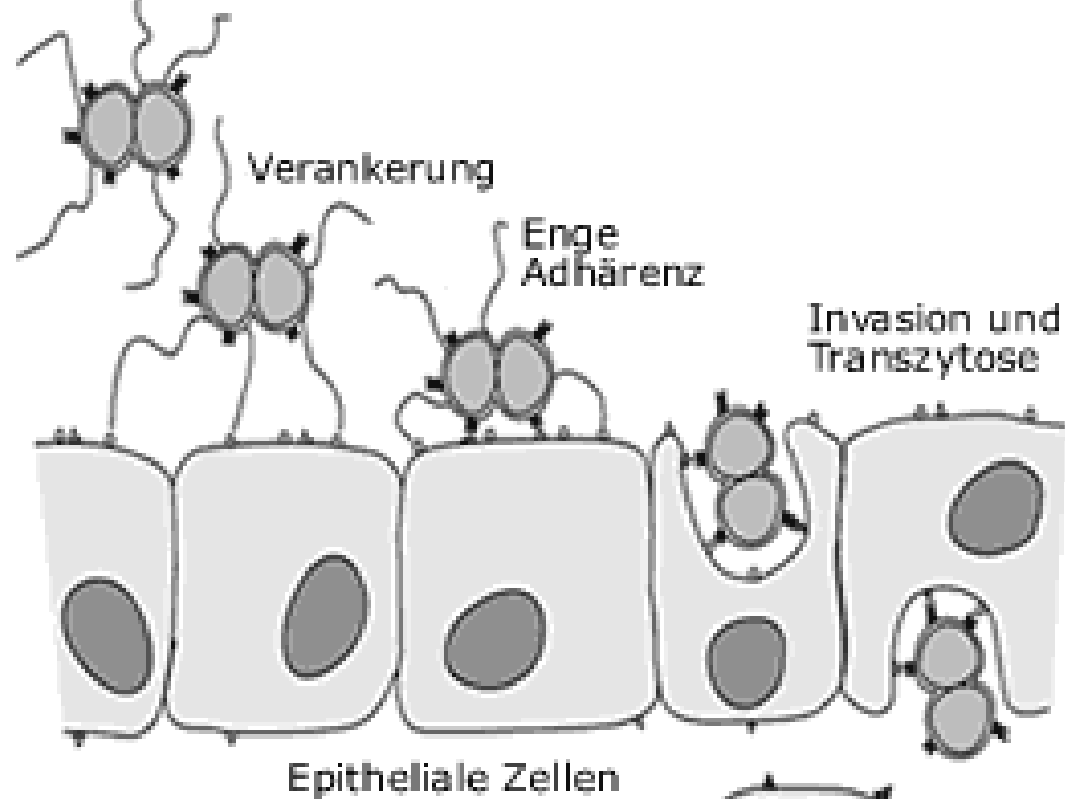
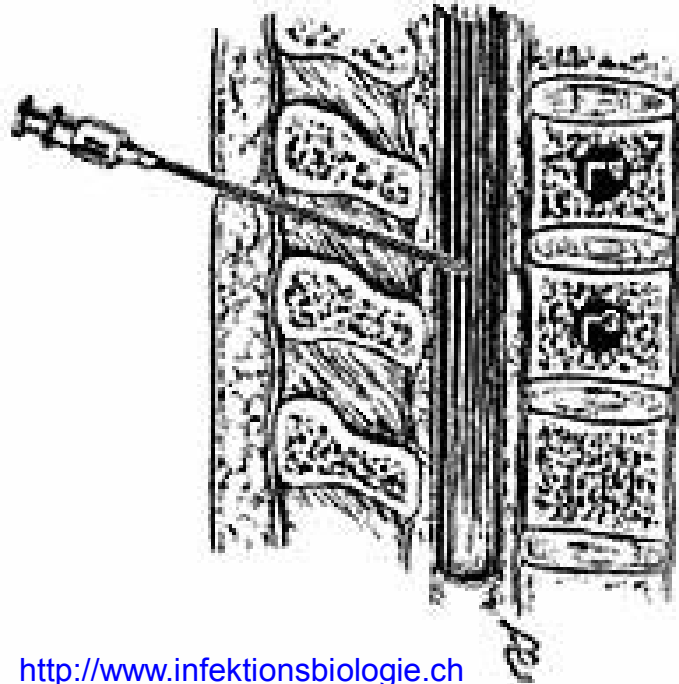
U podezření na purulentní meningitidu se zpravidla odebírá **mozkomíšní mok**, případně také krev na hemokultivaci. Mozkomíšní mok lze vyšetřit biochemicky, cytologicky a mikrobiologicky.

Už odebírající lékař si ale může povšimnout, že **likvor je zkalený a vytéká pod tlakem**

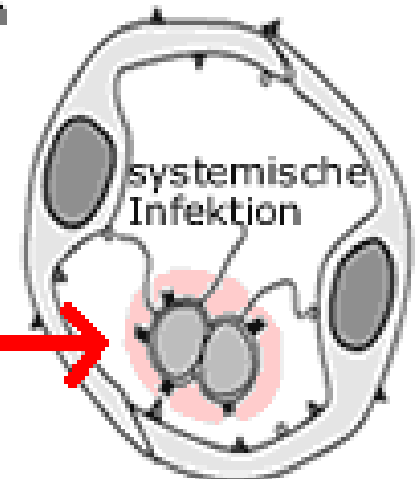
V laboratoři připadají v úvahu dvě **rychlé metody**:

- mikroskopie
- přímý průkaz antigenu

Bez ohledu na diagnostiku a její výsledky je ovšem nejdůležitější co nejrychlejší zahájení léčby pacienta!



<http://www.infektionsbiologie.ch>



Mit freundlicher Genehmigung
© Dehio

Endotheliale Zellen

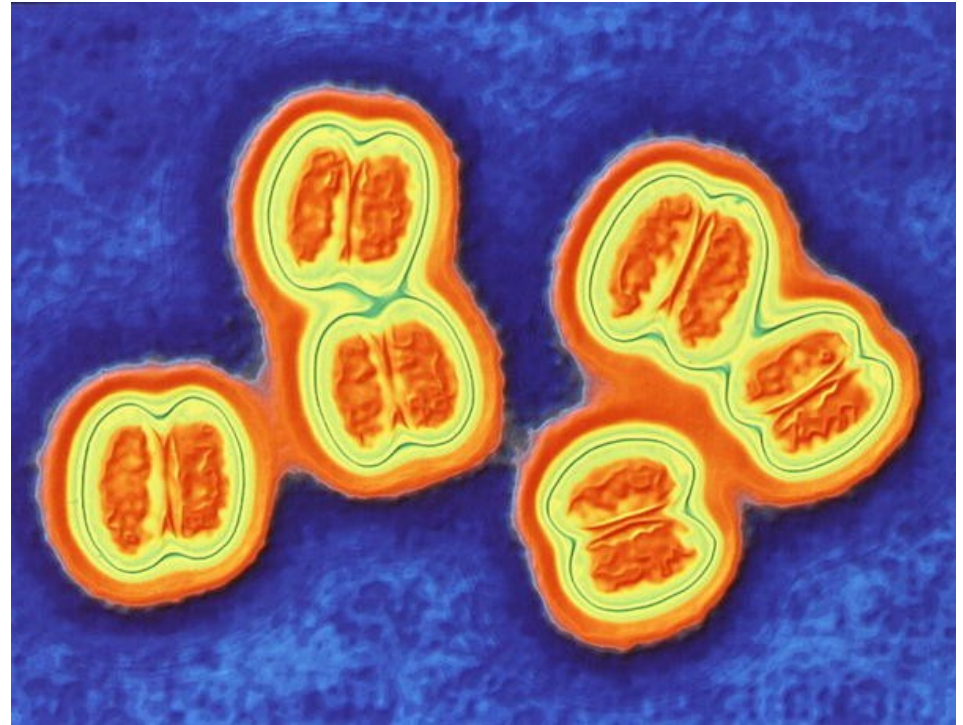
Odběr likvoru

Takto pronikají do tkání

Neisserie a moraxely – charakteristika 1

<http://medicine.plosjournals.org>

- **Mikroskopie:** G –
diplokoky tvaru
kávového zrna, často
intrecelulárně
lokalizované (vizte
další snímek)



Některé neisserie a moraxelly mohou být protáhlé a může jít o kokobacily až tyčinky (např. Neisseria elongata)

Microscopic Pictures Of Neisseria (Gram-negative Diplococci)

Neisseria Gonorrhoeae

Neisseria Meningitidis
intracellularis in spinal fluid

■ β -lactam drugs

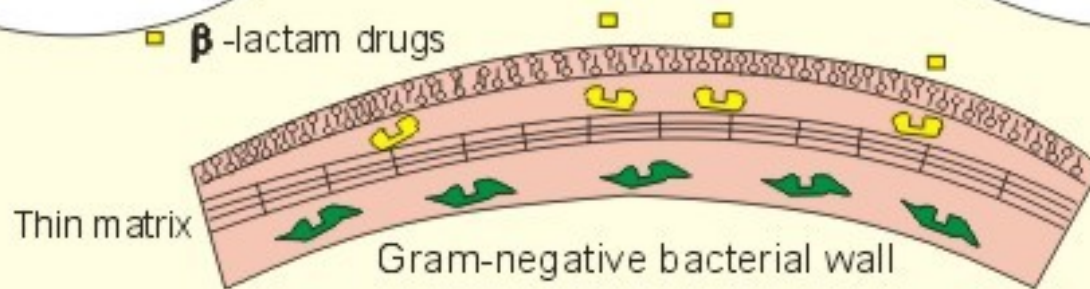
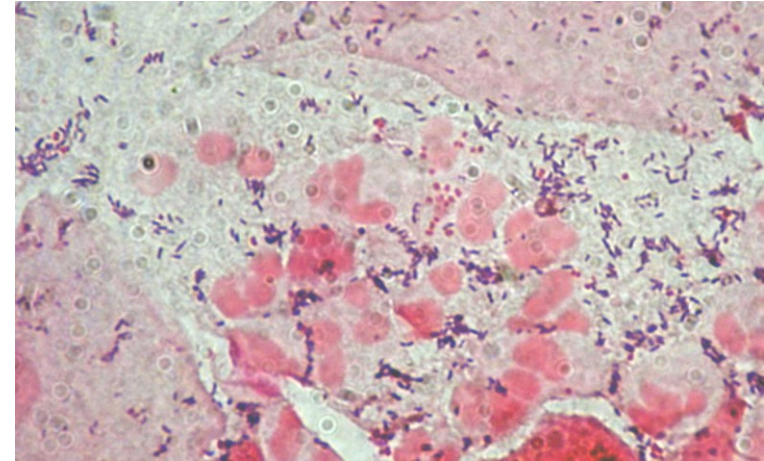
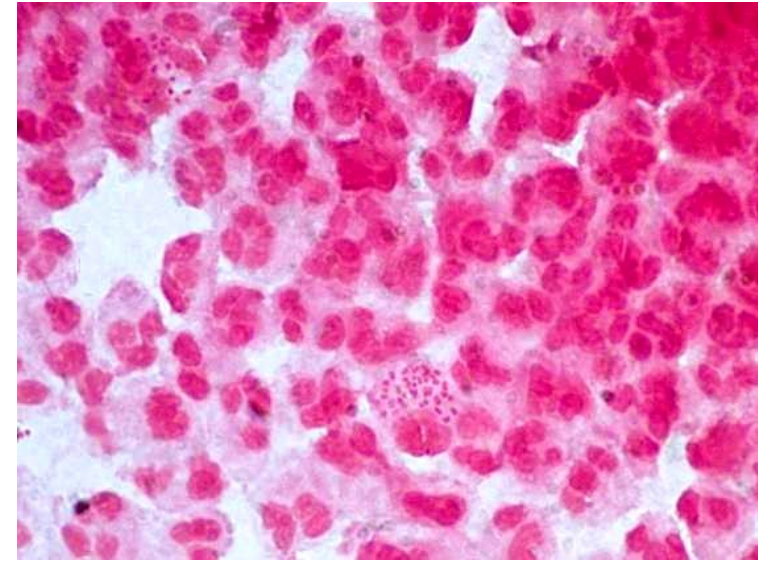


Fig. 33-3

Prohlédnutí nátěrů kapavky

- Gonokoky (ale i meningokoky) jsou gramnegativní diplokoky tvaru kávového zrna, často uložené intracelulárně. Intracelulární uložení je jejich typickou vlastností.



Poněkud se liší vzhled preparátů od muže a od ženy

leukocyt s gonokoky



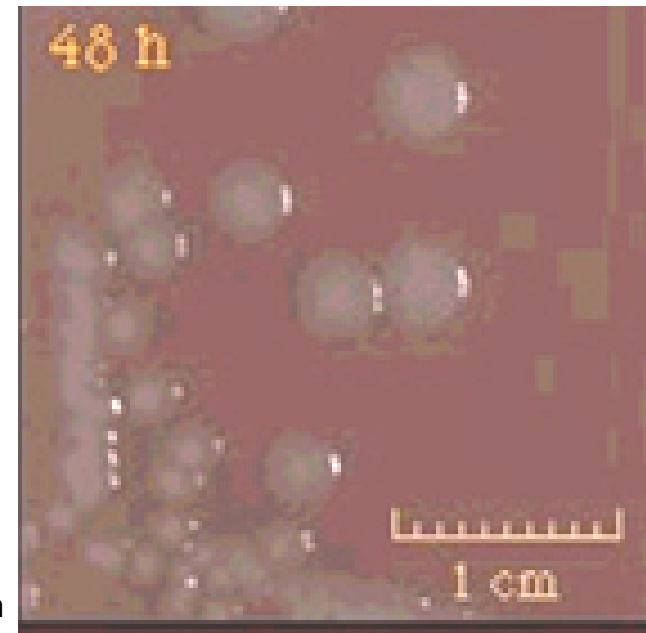
Neisserie a moraxely – charakteristika 2

- **Kultivace:** drobné, bezbarvé nebo nažloutlé (podle druhu) kolonie, rostoucí (podle druhu) na krevním či čokoládovém agaru
- Krevní agar či čokoládový agar je nezbytný i pro **difusní diskový test**



Gonokok →

← Meningokok

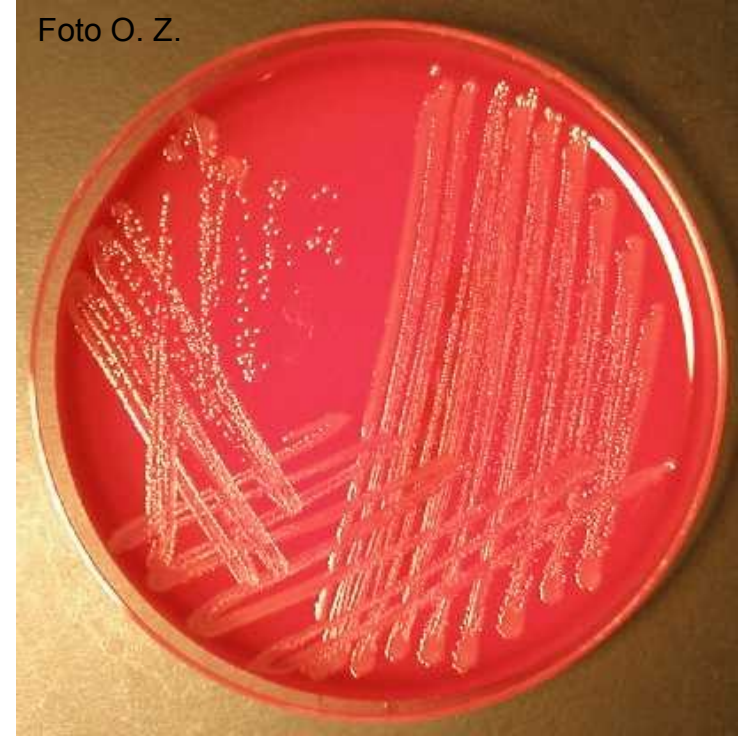


Kultivace

Růst na různých půdách rozliší

- **Gonokoky (GO)**, které rostou jen na čokoládovém agaru)
- **Meningokoky (ME)**, které rostou na bohatších krevních, ale samozřejmě i na čokoládových agarech
- **ústní neisserie a *M. catarrhalis* (Ú+M)**, které rostou na chudém i bohatém krevním agaru i na čokoládovém agaru

Foto O. Z.



	KA	KA+	ČA
GO	NE	NE	ANO
ME	NE	ANO	ANO
Ú+M	ANO	ANO	ANO

Gonokok testování atb citlivosti



Foto:
Mikrobiologický

Neisserie a moraxely – charakteristika 3

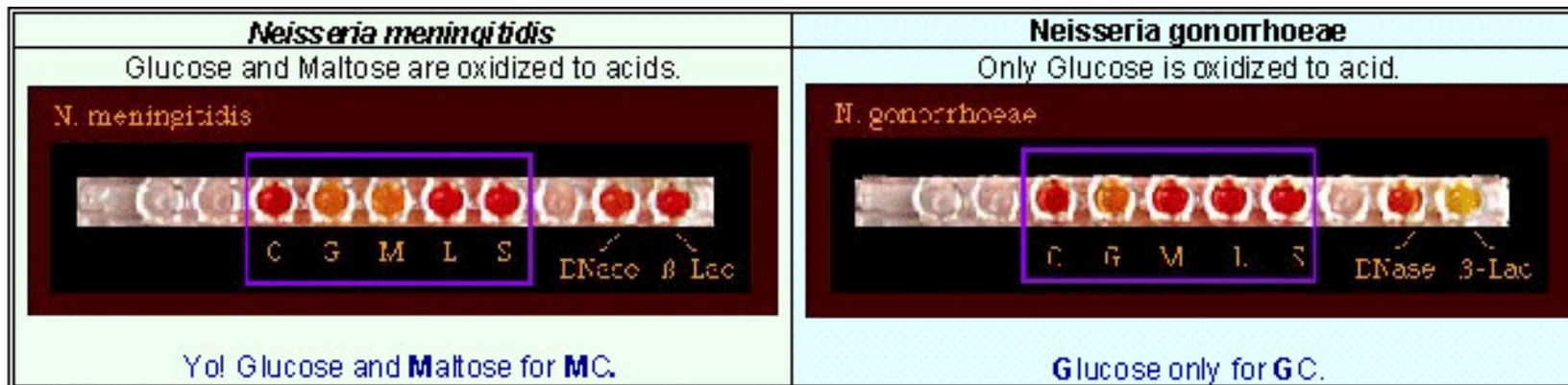
- **Biochemie:** kataláza pozitivní, oxidáza pozitivní; *Moraxella catarrhalis* pozitivní ve specifickém testu, zvaném INAC (indoxylacetátový test)
- **Antigenní analýza:** zpravidla prováděná jako latexová aglutinace, velmi důležitá u meningokoků k určení seroskupiny (kvůli očkování)

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.

Druhové určení neisserií

- K druhovému určení neisserií se používají biochemické testy různé provenience, u nás zpravidla NEISSERIAtest, v jiných zemích jiné testy (jako ten dole nebo na další obrazovce)
- Poměrně málo biochemicky aktivní jsou obě patogenní neisserie: **g**onokok štěpí jen **g**lukózu, **m**eningokok jen glukózu a **m**altózu.





NEISSERIA 4H

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

Neisserie a moraxely – diferenciální diagnostika 1

- **Gramovo barvení:** G – (diplo)koky
- **Oxidáza** rozlišuje některé jiné G– koky (např. acinetobaktery ze skupiny G– nefermentujících bakterií jsou také kokoidní)
- **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 2

- **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)

Testování antibiotické citlivosti u neisserií a podobných bakterií

- Antibiotická citlivost se u patogenních neisserií určuje na půdách, na kterých jsou schopny růst, tj. nikoli na MH agaru
- V poslední době se čím dál více uplatňují E-testy, protože u některých antibiotik není difusní diskový test dostatečně spolehlivý
- 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.

U neisserií jsou často zóny citlivosti velké a splývající.

Jsou-li zóny tak velké, že se nedají změřit, tak je neměříme a rovnou hodnotíme, že kmen je na dané antibiotikum citlivý.

Zeleně jsou vyznačeny hypotetické okraje zón – všimněte si, že z naprosté většiny buď splývají, nebo jsou mimo misku

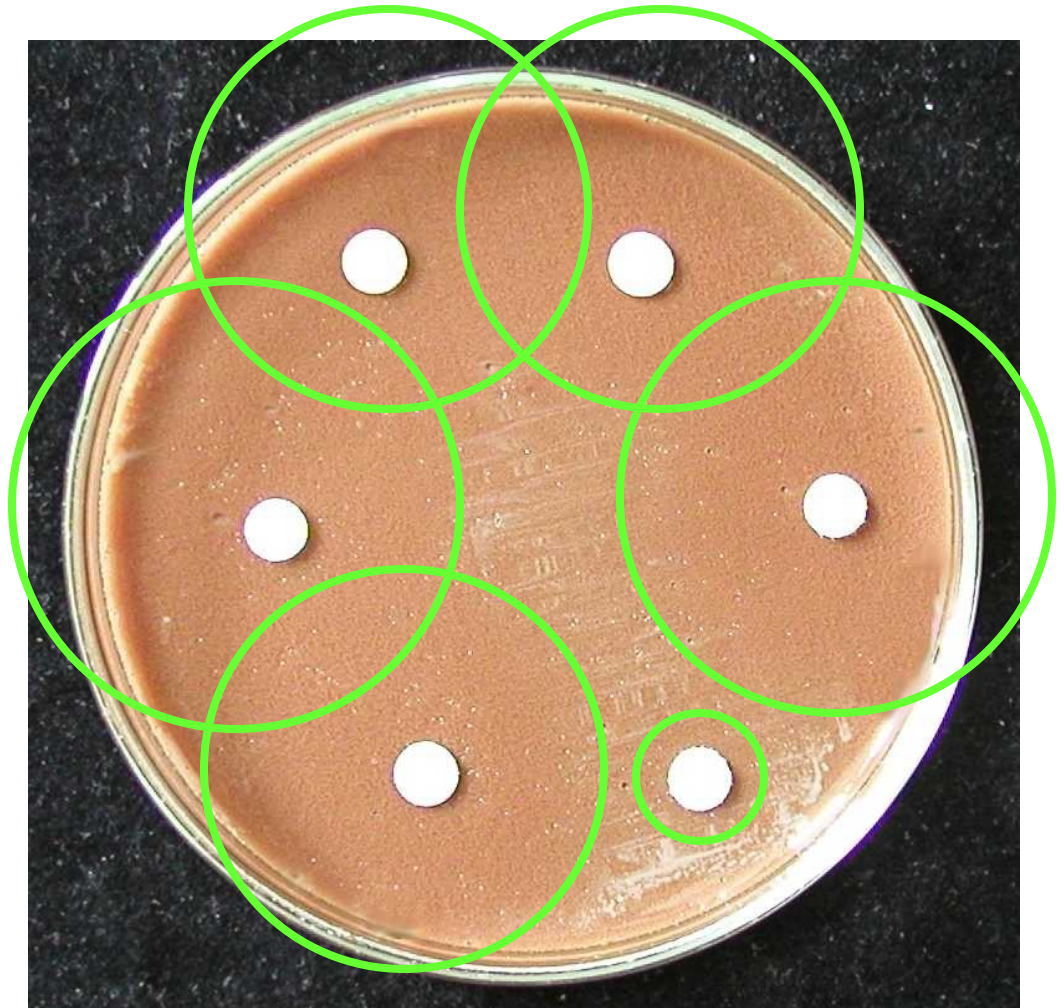


Foto: Mikrobiologický ústav, foto O. Z.

Sada antibiotik proti *Neisseria meningitidis*

Antibiotikum	Zkratka	Referenční zóna / MIC*
Penicilin (penicilin) – E-test	P	$C \leq 0,06$ $R > 0,25$
Cefotaxim (cefalosporin 3G)	CTX	$C \geq 34$ $R < 34$
Meropenem (karbapenem)	MEM	$C \geq 30$ $R < 30$
Azithromycin (azalid)	AZM	$C \geq 20$ $R < 20$
Ciprofloxacin (fluorochinolon)	CIP	$C \geq 35$ $R < 33$

*U difusních diskových testů zóna v mm, u e-testů breakpoint v mg/l

Sada antibiotik proti *Neisseria gonorrhoeae*

Antibiotikum	Zkratka	Referenční zóna /MIC*
Penicilin (penicilin) – E-test	P	$C \leq 0,06$ $R > 1$
Cefuroxim (cefalosporin 2G)	CXM	$C \geq 31$ $R < 26$
Cefotaxim (CS 3G) – E-test	CTX	$C \leq 0,12$ $R > 0,12$
Azithromycin (azalid)	AZM	$C \geq 25$ $R < 25$
Tetracyklin (tetracyklin)	TE	$C \geq 38$ $R < 30$
Ciprofloxacin (fluorochinolon)	CIP	$C \geq 41$ $R < 28$

*U difusních diskových testů zóna v mm, u e-testů breakpoint v mg/l

E-test

www.actu-pharo.com



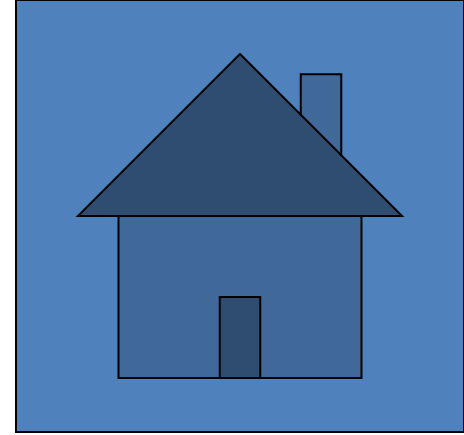
Průkaz antigenu / Antigenní analýza

- Soupravu na aglutinaci mozkomíšního moku se používá pro zachycení několika nejběžnějších původců meningitid. U meningokoků odhalí i jednotlivé seroskupiny. Dá se tedy použít i k antigenní analýze již vypěstovaného kmene.

www.baxter-e-commerce.com



Antigeny detekované při průkazu antigenu v likvoru



- *Neisseria meningitidis* A
 - *Neisseria meningitidis* B
 - *Neisseria meningitidis* C
 - *N. meningitidis* Y/W135
- teenageři, batolata**
- *Haemophilus influenzae* b **batolata (dříve)**
 - *Streptococcus pneumoniae* **senioři**
 - *Streptococcus agalactiae* **novorozenci**
 - **Zeleně vždy uvedena věková skupina, u které je daná infekce nejtypičtější**

Diagnostika „jiných G- tyčinek“

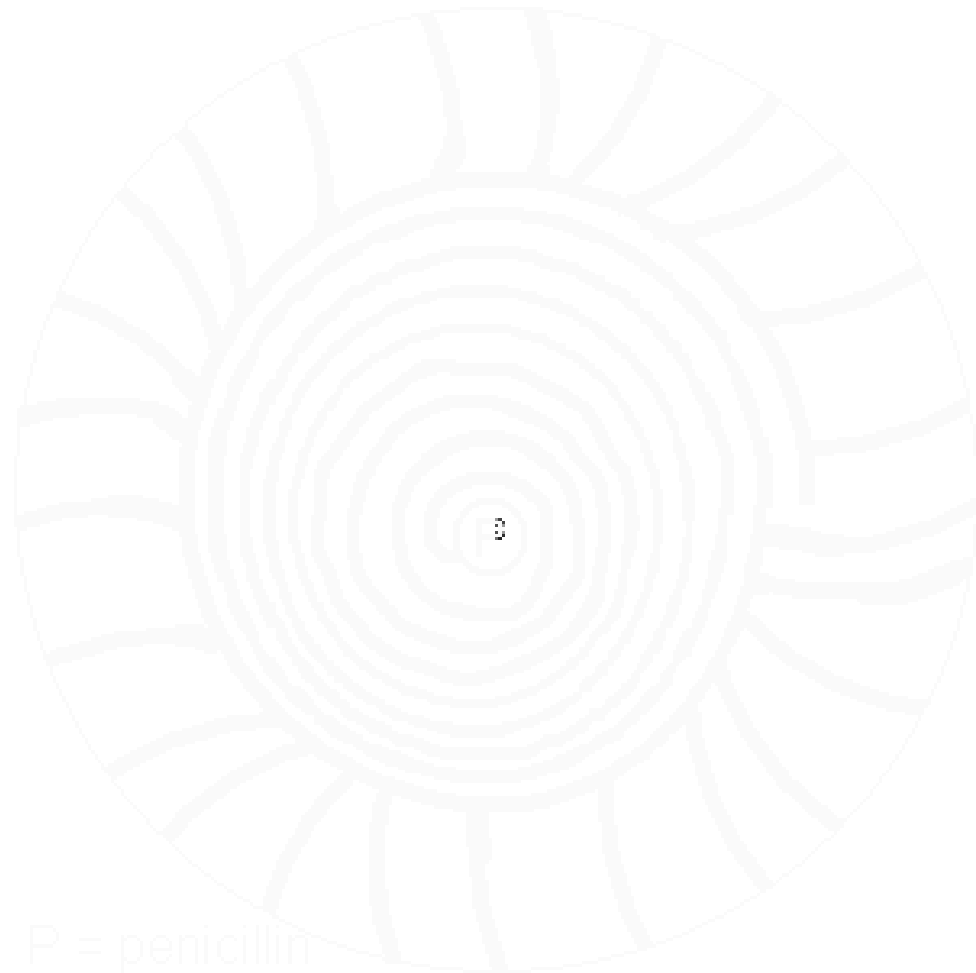
„Další G- bakterie“ – charakteristika

- **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.

Bordetella: Očkování na BG agar

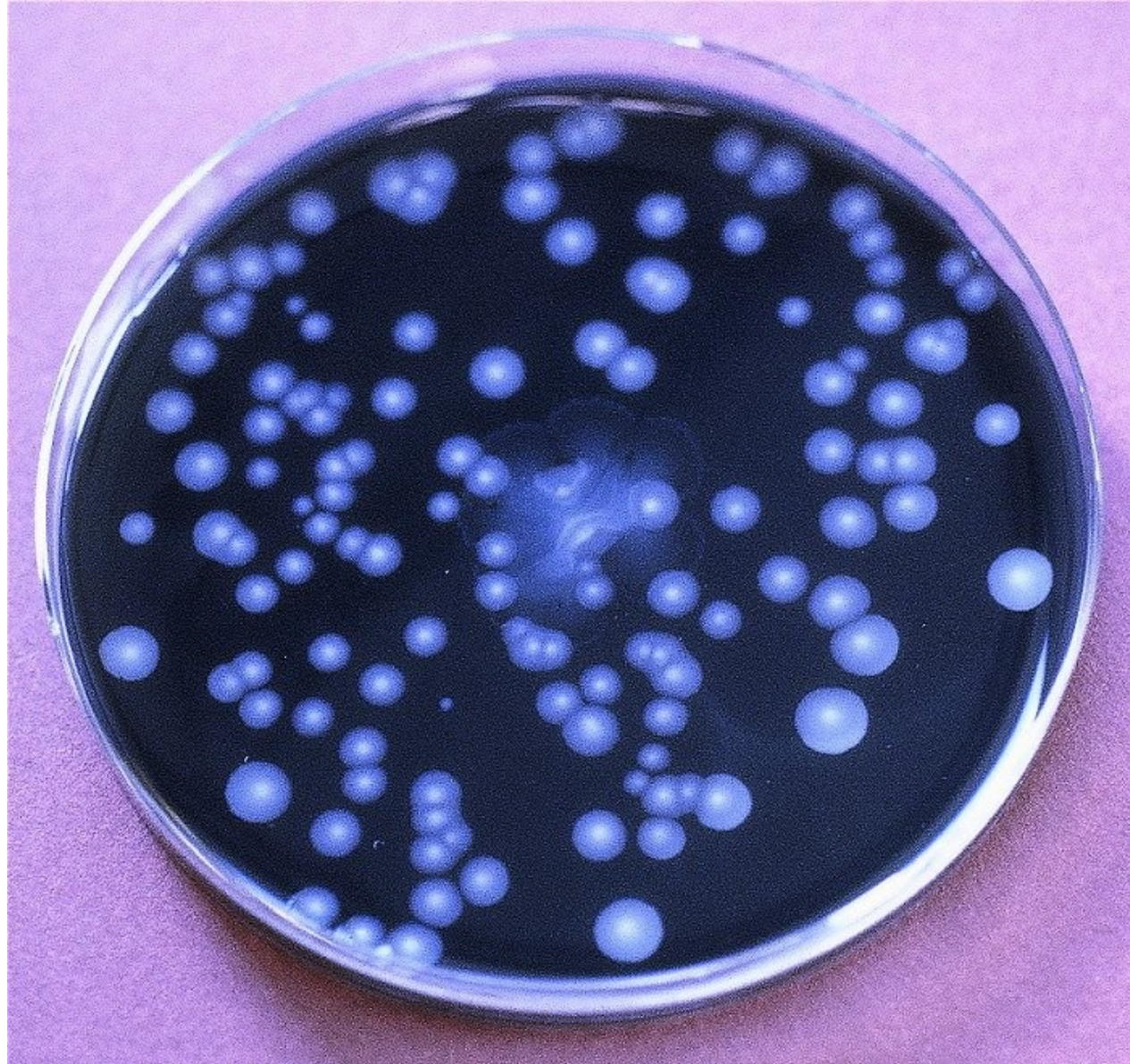
Tento zvláštní způsob se používá proto, že zkušenost ukázala, že zvyšuje záchyt bordetel.

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



BCYE agar pro legionely

Buffered
Charcoal
Yeast
Extract

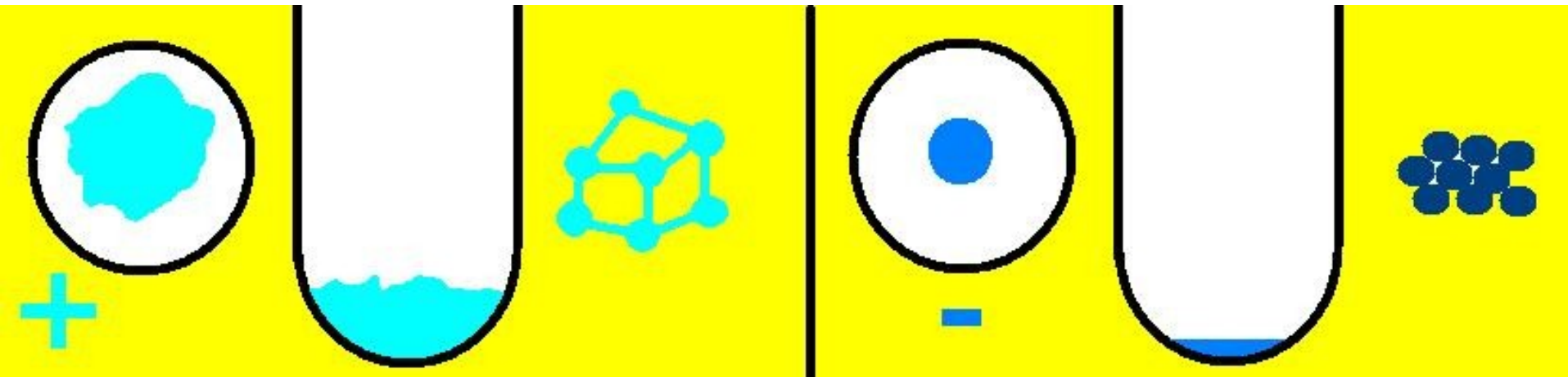
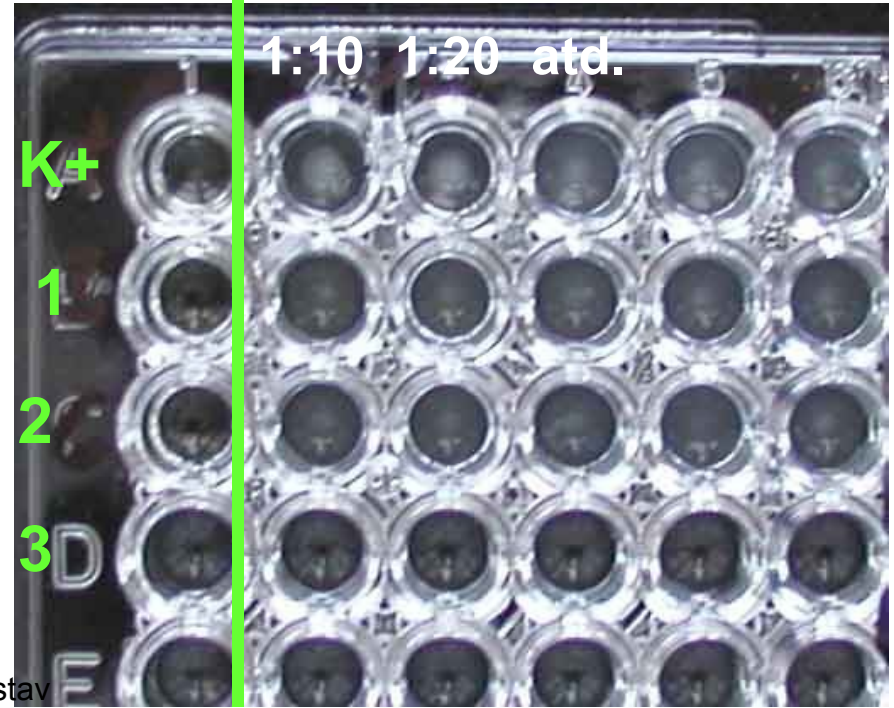


Diagnostika rodu *Francisella*:

Odečítání titru

- Spočítá se titr, tedy nejvyšší ředění s pozitivní reakcí („obláček“, ne tečka)
Jakýkoli titr (tj. všechny případy, kde je *nějaký* titr) považujte za pozitivní!

Foto: Mikrobiologický ústav



Diagnostika brucelózy

- Používají se serologické reakce, například ELISA, ale provádí se to pouze ve specializovaných laboratořích



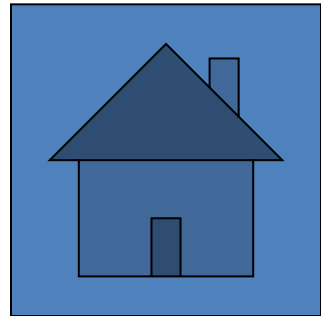
<http://www.rapidtest.com/image.php?p=products/Brucella-IgM.jpg>



<http://www.rapidtest.com/image.php?p=products/Brucella-IgG.jpg>

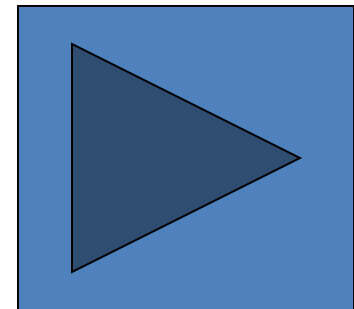


Konec



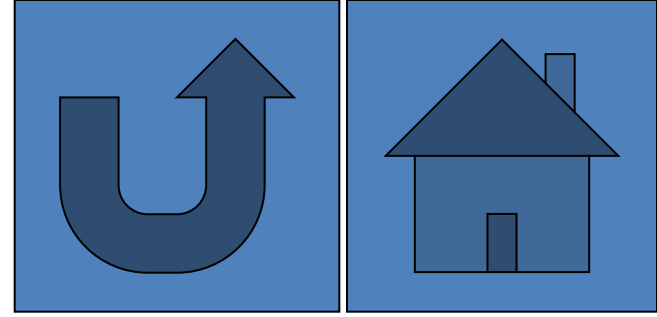
Stavebně technická opatření v prevenci nozokomiálních nákaz

- zabezpečení **stavební dispozice** zdravotnického zařízení (dost prostoru pro personál, jeho hygienu, pro oddělené skladování apod.)
- zabezpečení **teplé i studené vody**
- zabezpečení **odpadních vod i pevných odpadů**
- zabezpečení **topení či klimatizace** apod.



Osvícené nemocnice již při volbě architekta dbají na to, aby architekt měl základní povědomí o požadavcích na zdravotnické stavby.

Zvlášť pro legionelózy



- Infekcí, která je obzvlášť spjatá se stavem budovy, ve které se vyskytla, je **legionelóza**.
- V řadě případů je výskyt legionelózy důsledkem špatného projektu vodovodní sítě, klimatizace a podobně
- V případě vodovodů jsou nebezpečná zejména **slepá ramena**, která nelze propláchnout a mohou se v nich hromadit legionely
- Náprava je v tomto případě možná jen formou **předělání instalací**.

[Zpět na hlavní obsah](#)