

P06

**Diagnostika některých
dalších gramnegativních
bakterií**

Osnova

- čeleď *Pasteurellaceae*
- zástupci gramnegativních nefermentujících bakterií (GNFB)
- diagnostika *Pasteurellaceae* a GNFB
- G- koky, diagnostika
- „jiné“ G- tyčky, diagnostika
- úkoly

Pasteurellaceae

- čeleď **G- tyček**, většinou **fakultativně anaerobní**, **OXI+**
- **komenzálové na sliznicích** savců a ptáků, hlavně **HCD**
- rody: *Actinobacillus*, *Aggregatibacter*, *Haemophilus*, *Pasteurella*, ...
- změny v nomenklatuře: od roku 2006 **nový rod** ***Aggregatibacter*** (obsahuje *A. actinomycetemcomitans*, původně *Actinobacillus actinomycetemcomitans* a *A. aphrophilus*, původně *Haemophilus aphrophilus*)

Pasteurella multocida

- **G– pleomorfní kokobacil, OXI+, KAT+**
- **roste na KA, neroste na ENDO**
- patogenní pro skot, ovce a drůbež; **nepatogenní pro psy a kočky → infekce po kousnutí**
- **infekce ran s komplikacemi** (abscesy, celulitida, osteomyelitida, ...), **pneumonie, endokarditidy, ...**
- **citlivá na penicilin** (u G – bakterií nezvyklé), **rezistentní na vankomycin**



Rod *Haemophilus*

- **drobné pleomorfní G- tyčky**, fakultativně anaerobní
- **kultivačně náročné**, potřebují k růstu **faktor X** (hemin) a/nebo **faktor V** (NAD)
 - faktor X (hem) nutný pro funkci respiračních enzymů, katalázy, peroxidázy apod.
 - faktor V (NAD) nutný pro oxidačně redukční procesy v buňce
 - **hynou při chladničkové teplotě** → důsledky pro transport a zpracování vzorků
- **na sliznicích člověka i zvířat** (nosohltan), většina se považuje za normální mikroflóru

Rod *Haemophilus* (vybraní zástupci)

- ***Haemophilus influenzae***
 - pouzderný typ b (Hib) – hexavakcína
 - **epiglottitidy**, pneumonie, sinusitidy, faryngitidy, **meningitidy**, **sepsy**, ...
 - pouzderné typy a, c, d, e, f
 - lokalizované infekce respiračního traktu
 - neopouzdržené kmeny (nízká patogenita)
- ***Haemophilus parainfluenzae*** (běžnější a méně patogenní)
- ***Haemophilus aphrophilus*** (lehké infekce HCD)
- ***Haemophilus ducreyi*** (pohlavně přenášená choroba **ulcus molle**)

Ulcus molle

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



- **ulcus molle** – měkký vřed (chancroid/šankroid) – způsoben *Haemophilus ducreyi*, **bolestivé**
- **ulcus durum** – tvrdý vřed (chancre/šankr) – jeden z příznaků syfilis, způsobené *Treponema pallidum*, **nebolestivé**

Skupina HACEK

- skupina G– bakterií způsobující bakteriální endokarditidy
- obsahuje některé zástupce čeledi *Pasteurellaceae*:
 - *Haemophilus parainfluenzae*, *H. paraphrophilus*
 - *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*
- další členové jiných čeledí:
 - *Cardiobacterium hominis*
 - *Eikenella corrodens*
 - *Kingella kingae*

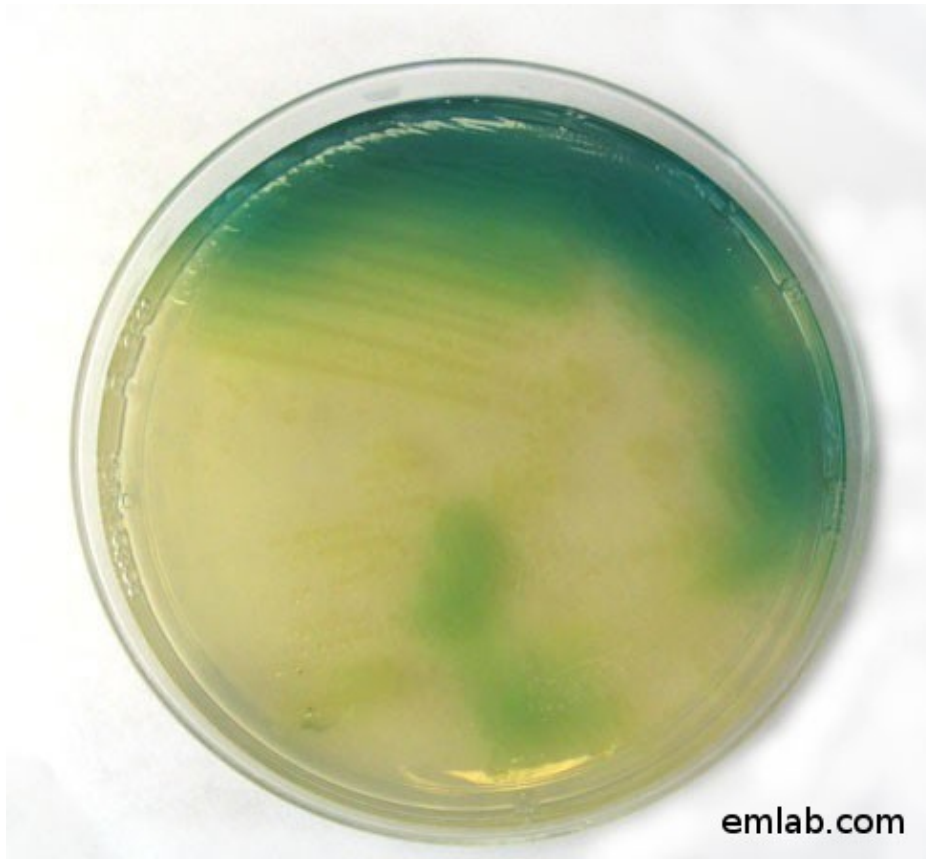
G- nefermentující bakterie

- **nesourodá skupina G- tyček**
- **neschopnost fermentovat glukózu** (ale mohou ji štěpit aerobně, čímž získají více energie!)
- nejdůležitější rody ***Pseudomonas, Acinetobacter, Burkholderia, Stenotrophomonas***, dále např. *Bordetella, Eikenella, Kingella, Moraxella, ...*
- **adaptovány na vnější prostředí, často rostlinné patogeny** (aerobní respirace, pigmentace, nižší teplotní optimum okolo 30 °C)
- patogenita obecně nízká (kromě oslabených osob, tj. imunokompromitovaní, dlouhodobě hospitalizovaní, popáleniny, ...)
- **nozokomiální infekce zejm. respiračního traktu**

Pseudomonas aeruginosa

- **G– tyčky, aerobní, OXI+, KAT+, typická zelená pigmentace** (lat. *aerugo* – měděnka), **typický zápach po jasmínu**, starší kultury po amoniaku, pestrá biochemická aktivita
- **napadá oslabené jedince (popáleniny, imunosuprese, jiná závažná onemocnění jako diabetes, cystická fibróza, ...)**
- **zdravé lidi může kolonizovat → vektor šíření nozokomiálních nákaz**
- nejhorší prognózy u **infekcí popálenin, sepsí novorozenců, osteomyelitidy a devastujících infekcí oka (proteolytické enzymy)**
- **časté rezistence, protipseudomonádová ATB**

Pseudomonas aeruginosa (2)



Typický kmen pseudomonády
se **zeleným pigmentem**



Výjimečný kmen pseudomonády
s **modrým pigmentem**

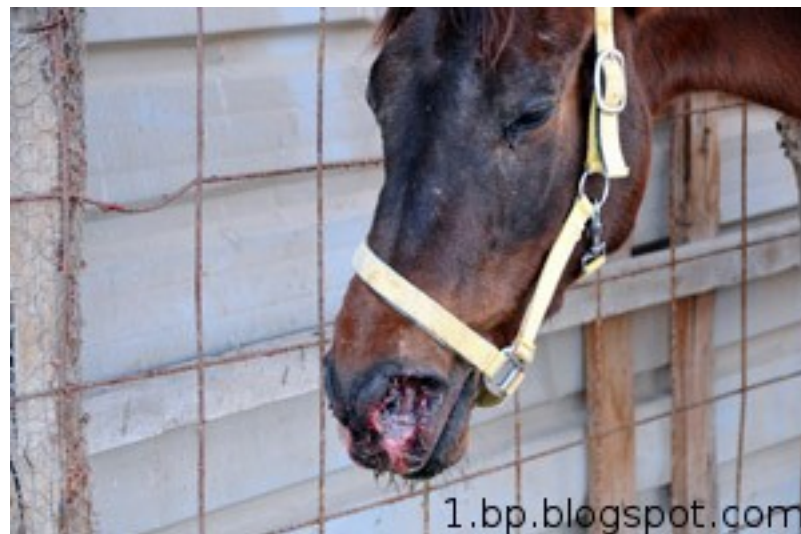
Rod *Burkholderia*

- ***Burkholderia cepacia***
 - **nozokomiální nákazy** (především dýchacích cest, **pacienti s cystickou fibrózou**)
- **pacienti s cystickou fibrózou časté (i trvalé) záněty dýchacích cest, nejčastěji:**
 - ***Pseudomonas aeruginosa***
 - ***Staphylococcus aureus***
 - ***Haemophilus influenzae***
 - ***Burkholderia cepacia***
 - ***Aspergillus sp.***

Rod *Burkholderia* (2)

- *Burkholderia mallei*

- **vozhřivka (malleus)**
- **lymfadenopatie se sepsí**
- výskyt u koní, oslů a ovcí
- v případě přenosu na člověka **fatální**



- *Burkholderia pseudomallei*

- melioidóza (pseudomalleus) – **často bezpříznakově**, v případě klinické manifestace **sepsy** (neléčená má mortalitu 95 %)

Další GNFB

- **rod *Acinetobacter* (OXI–)**
 - ***A. baumannii*** – nozokomiální infekce, respirátorové pneumonie, sepse
- **rod *Stenotrophomonas* (OXI–)**
 - ***S. maltophilia*** – u oslabených **nozokomiální infekce s vysokou mortalitou** (časté rezistence na ATB)

Diagnostika hemofilů a pasteurel

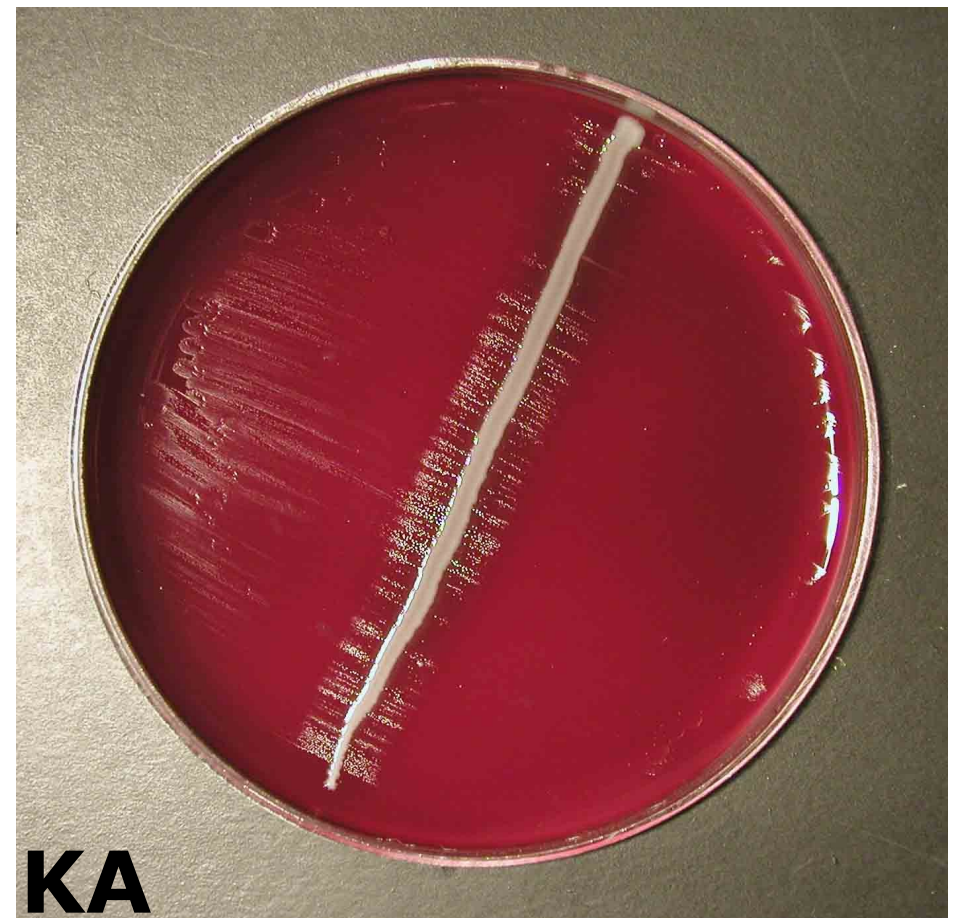
- **přímé metody**
 - **mikroskopie** – krátké G- tyčky
 - **kultivace** – **pasteurely nerostou na Endově agaru** (rostou *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae* a GNFB), **hemofily ani na obyčejném KA, používámě čokoládový nebo Levinthalův agar (testy ATB citlivosti)** (s výjimkou současné kultivace s jiným mikroblem – satelitový fenomén); typický zápach nebo citlivost k ATB
 - biochemická identifikace – možné ji použít
 - **antigenní analýza** – **u hemofilů** (Hib)
 - detekce DNA – rutinně se nepoužívá
- **nepřímé metody** se téměř **nepoužívají**

Satelitový fenomén

- **hemofily potřebují růstové faktory z erytrocytů**
- **nejsou samy schopny je narušit** → narušit je může **přítomnost dalšího mikroba** (zlatý stafylokok s hemolýzou) nebo je **narušíme laboratorně** (čokoládový, Levinthalův agar apod.)
- **růst hemofila pouze okolo stafylokokové čáry** (popř. se užívá bacitracinový disk ve vyšší koncentraci k odclonění ostatních bakterií)

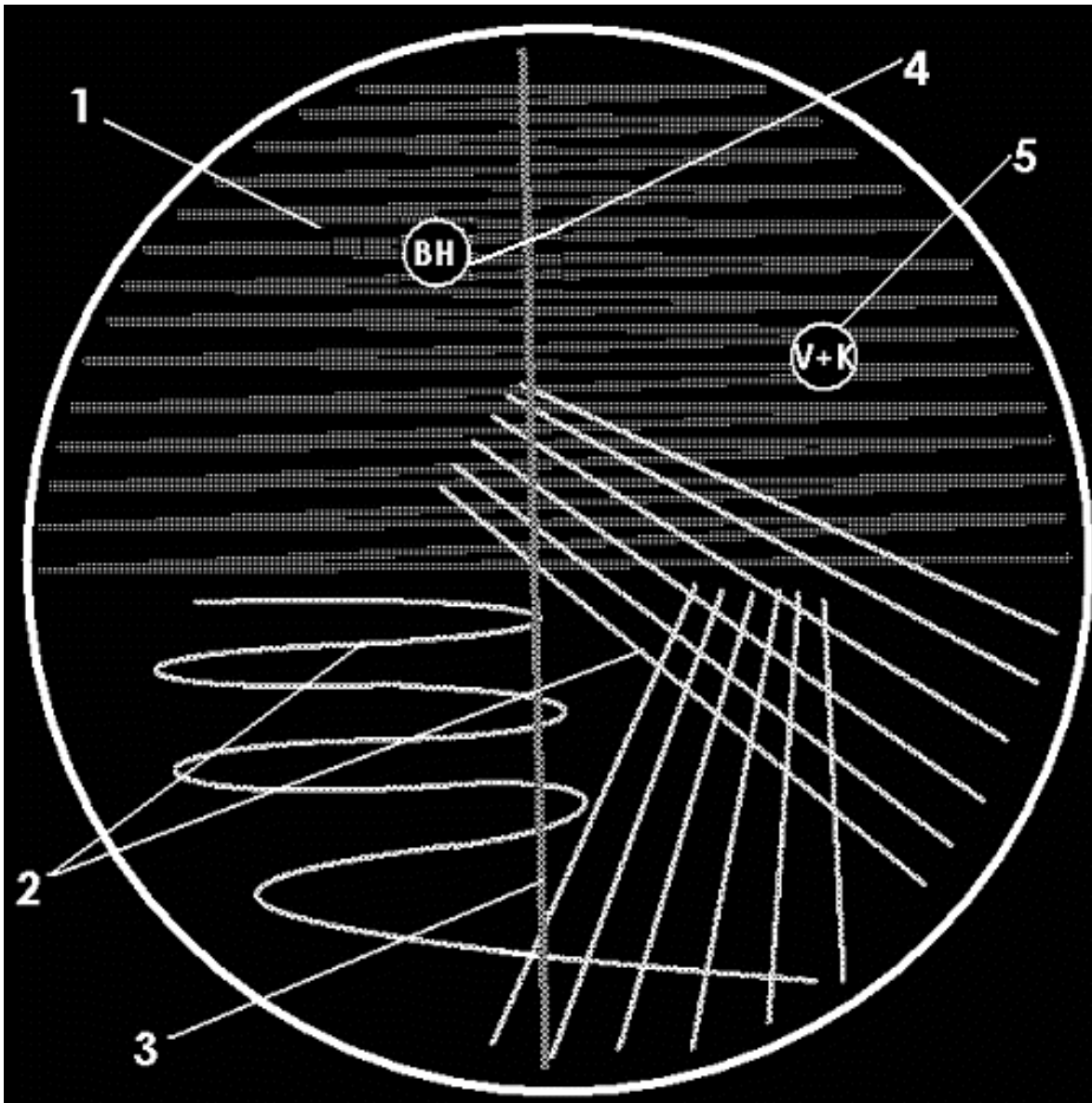


Růst hemofilů na ČA a KA



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

Vyhledávání respiračních patogenů



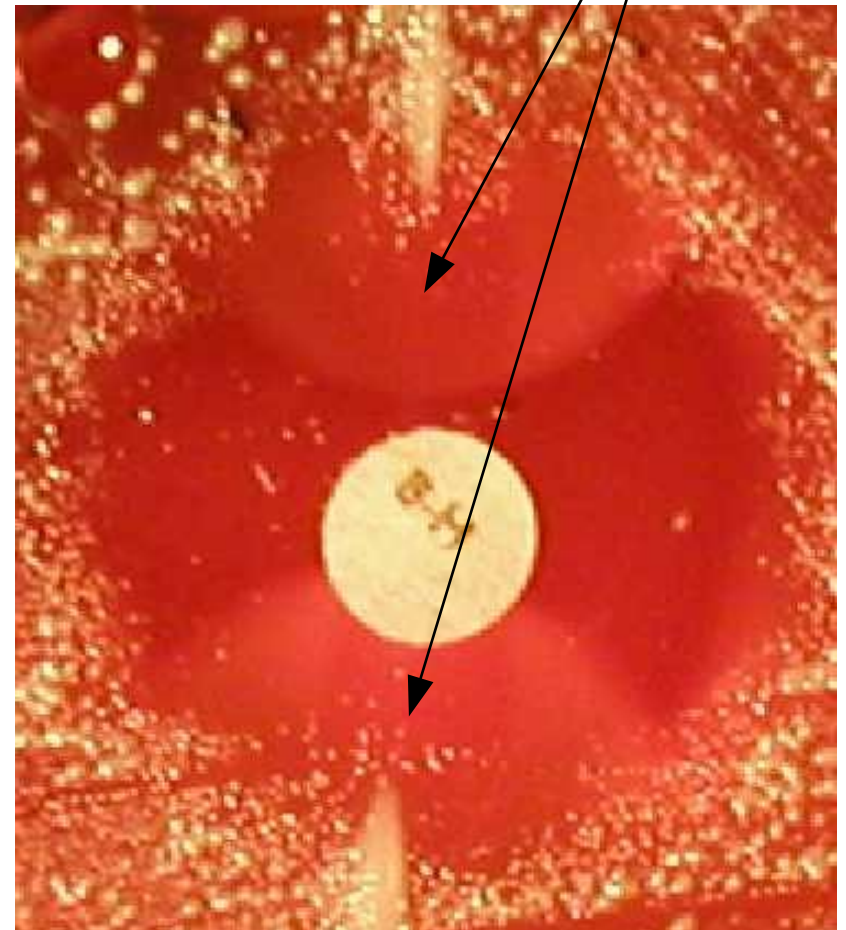
- 1) očkováno tamponem
 - 2) očkováno kličkou
 - 3) stafylokoková čára
 - 4) disk BH (bacitracin pro hemofily)
 - 5) disk V+K (vankomycin a kolistin pro meningokoky)
- na celé naočkované ploše pátráme po hemolytických streptokokích (bezbarvé) a po stafylokokích (spíše bílé či zlatavé)

Vyhledávání respiračních patog. (2)

bacitracinový disk může být umístěn buďto na stafylokokovou čáru, nebo cca 1 cm od ní, používají se oba způsoby



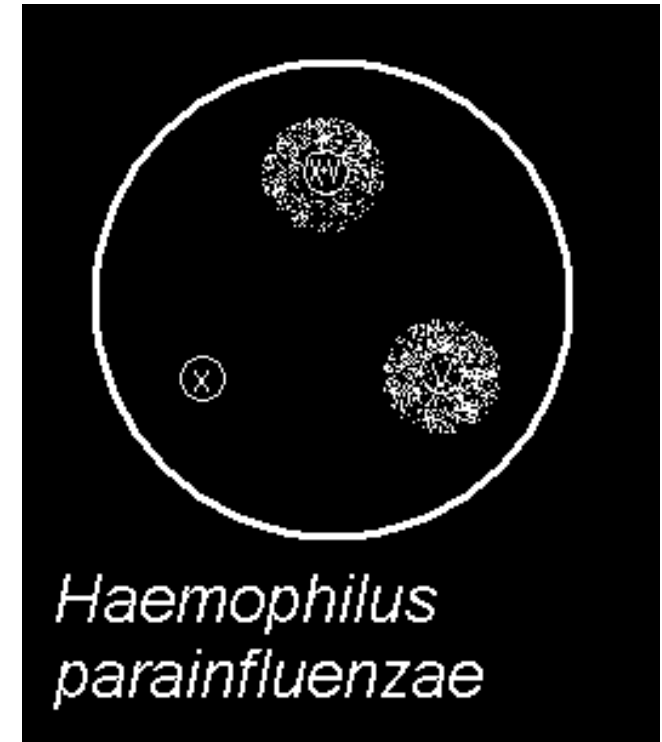
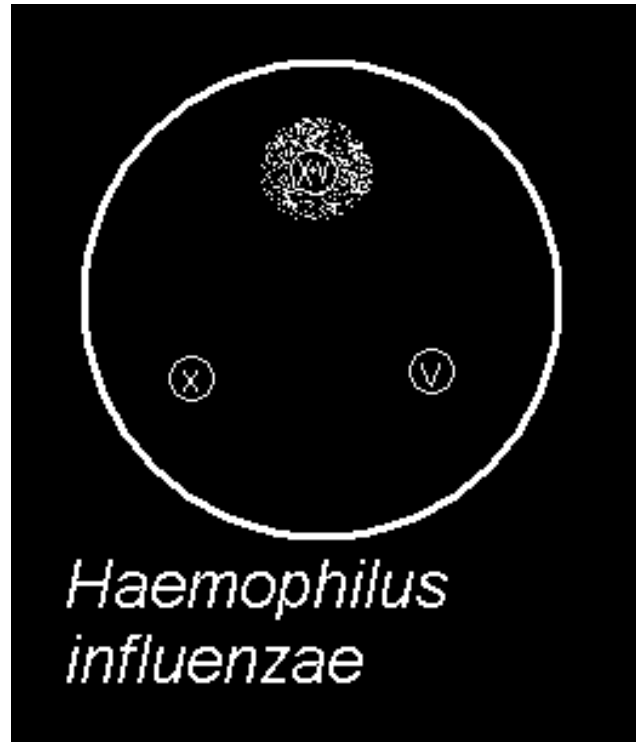
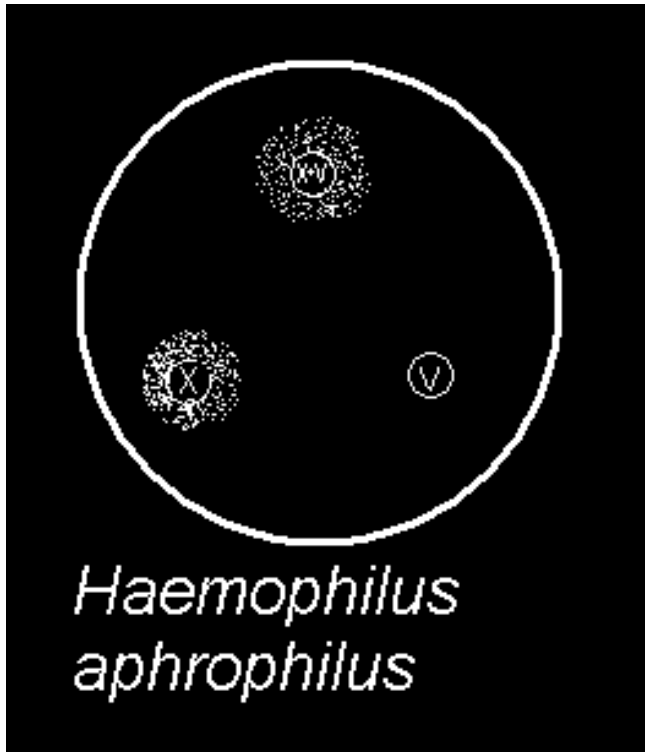
v těchto místech hledáme hemofily



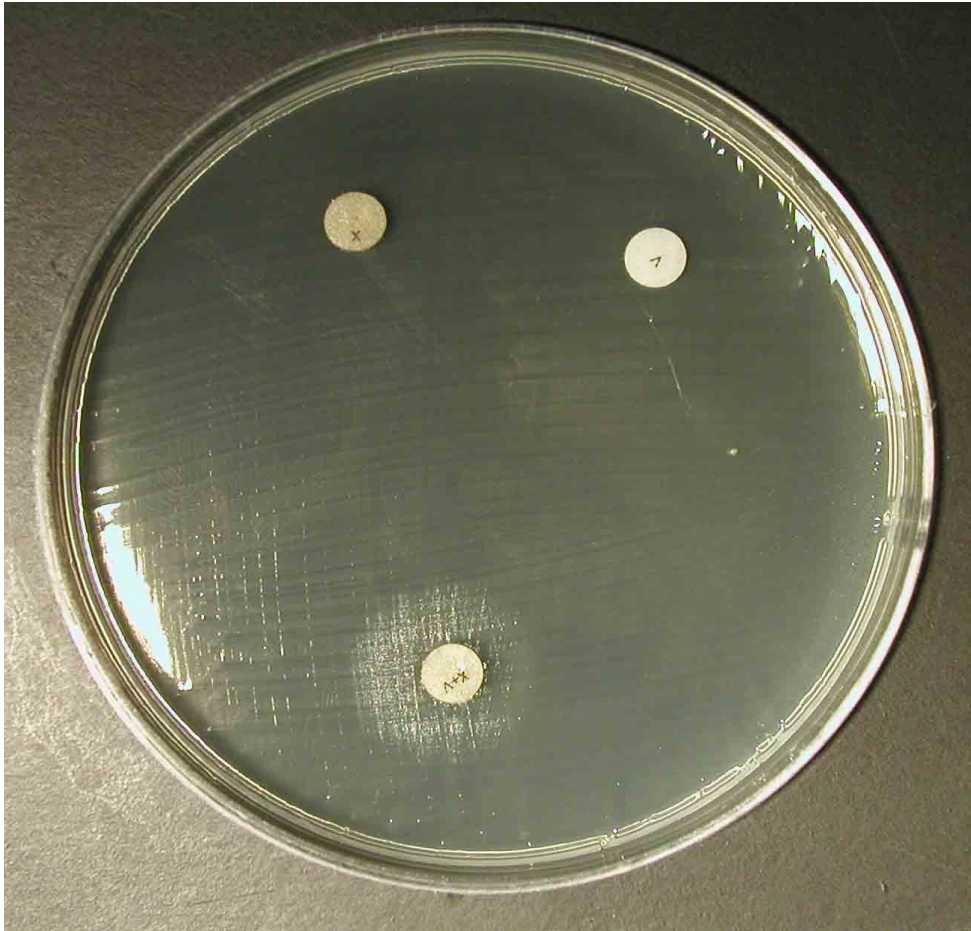
Růstové faktory hemofilů

- **specifické potřeby růstových faktorů hemofilů:**
 - *H. parainfluenzae* faktor V (NAD)
 - *A. (H.) aphrophilus* faktor X (hemin)
 - *H. influenzae* oba faktory (X+V)
- **používáme disky s těmito faktory:**
 - jeden s faktorem X
 - druhý s faktorem V
 - třetí se směsí X a V

Růstové faktory hemofilů (2)



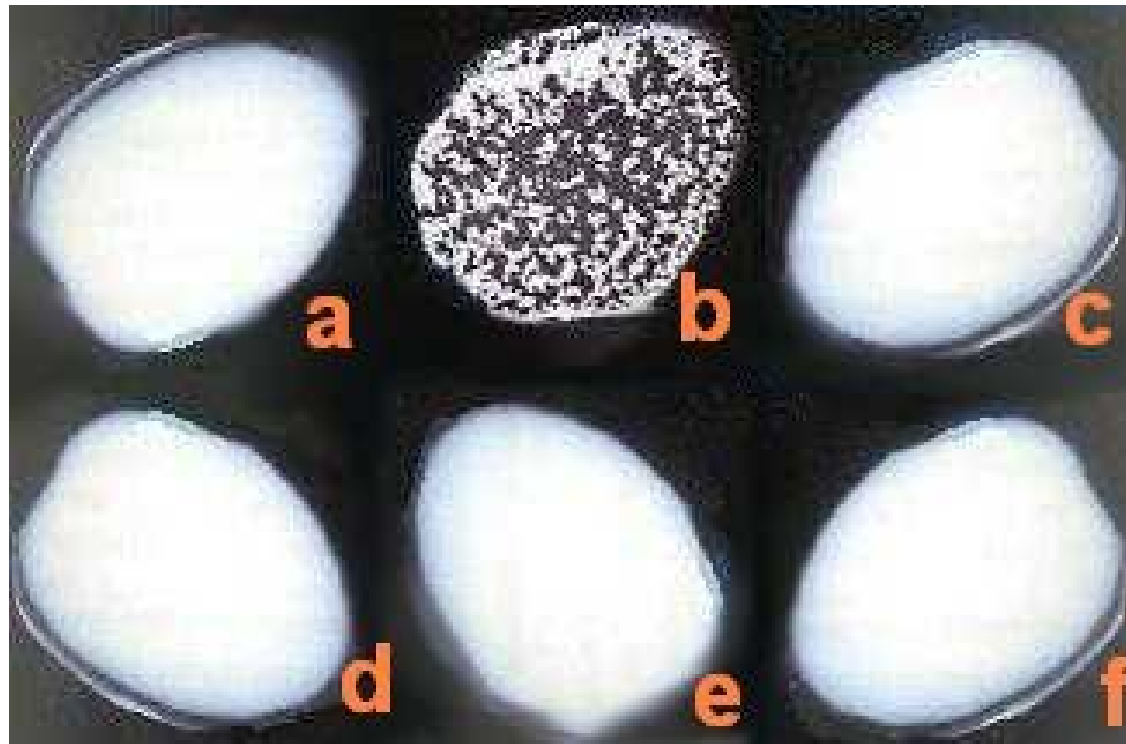
Růstové faktory hemofilů (3)



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

Antigenní analýza hemofilů

- **dnes komerční soupravy pro analýzu**
- dříve se využívalo jevu tzv. koaglutinace se stafylokokem, kdy aglutinát byl hustší díky navázání stafylokoka na F_c konec protilátky proti hemofilovi



Citlivost rodu *Pasteurella* k ATB

- **G– bakterie nejsou citlivé na vankomycin**
- vankomycin lze použít jen u G+ (všechny streptokoky a většina stafylokoků a enterokoků je citlivá)
- **málo bakterií je citlivých na penicilin**, obzvláště mezi G– tyčinkami
- **kombinace citlivosti k penicilinu a rezistence k vankomycinu** poměrně specifická pro rod *Pasteurella*

Diagnostika GNFB

- **přímé metody**
 - mikroskopie – **G- tyčky, *Acinetobacter* je G- kok**
 - kultivace – **rostou na většině půd vč. KA a ENDO** (nefermentují Glc a většinou ani Lac → tmavé zbarvení kolonií na ENDO je dané případným pigmentem)
 - **biochemická identifikace** – možná, ale je potřeba použít testy, zjišťující aerobní respiraci (ne fermentaci); nutno použít sníženou teplotu a prodlouženou inkubaci
 - antigenní analýza, detekce DNA – rutinně se nepoužívají
- **nepřímé metody** se používají **zřídka**

Diferenciální diagnostika GNFB

- **pseudomonády:**
 - typická **vůně** (mladé kultury)
 - tvoří **pigmenty** (nejčastěji zelené – pigment pyoverdin, někdy modré či rezavé), nejlépe viditelné na MH (na KA a ENDO perleťový lesk kolonií)
 - **OXI+**
- **ostatní nefermentující**, (případně sporné pseudomonády) rozlišíme **biochemicky**
 - např. NEFERMtestem 24 (v kombinaci s oxidázovým testem)

Oxidázový test GNFB

- *Pseudomonas* **OXI+**
- *Burkholderia* většinou **OXI+**
- *Stenotrophomonas* většinou **OXI-**
- *Acinetobacter* **OXI-**

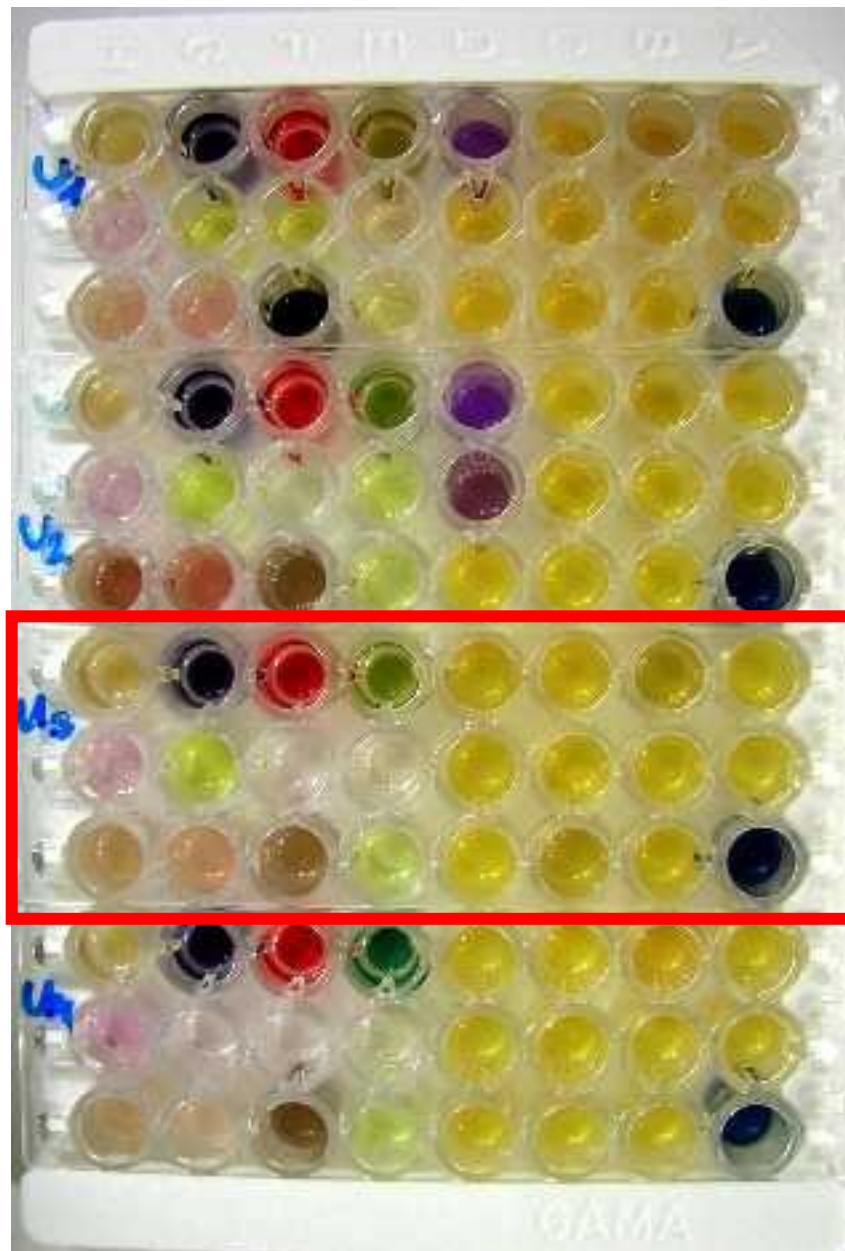


NEFERMtest 24

- **pro biochemickou identifikaci GNFB** užíváme většinou Nefermtest 24 (nebo podobný jiných výrobců)
- **24 reakcí** (trojstrip)
- **kód se tu tvoří jiným způsobem:**
 - první číslice je 0 (OXI–) nebo 1 (OXI+)
 - dalších 6 číslic pochází ze sloupců H až C
 - sloupce B a A se nepočítají (používají se jen pro případné další rozlišení)

NEFERMtest 24 (2)

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



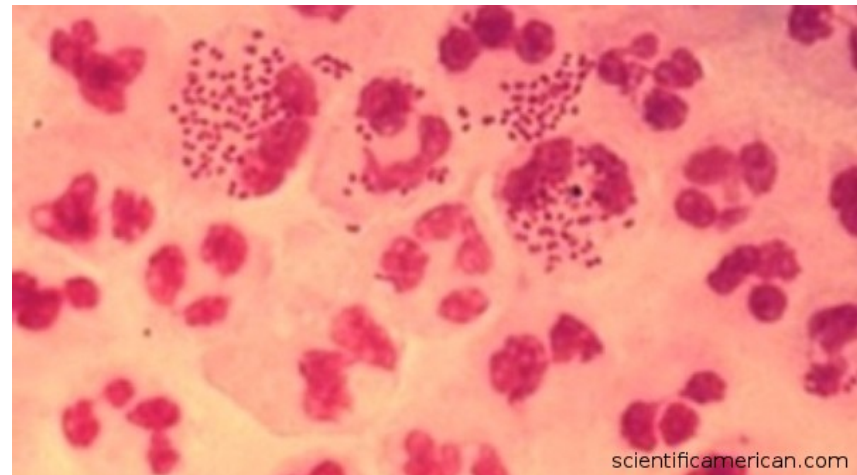
Citlivost GNFB k ATB

- GNFB rostou ochotně na nejrůznějších médiích
- pro testování i léčbu používáme poměrně silná antibiotika, nevhodná pro léčbu infekcí způsobených běžnými bakteriemi
 - **cefalosporiny 3. generace*** (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 betalaktamázy*

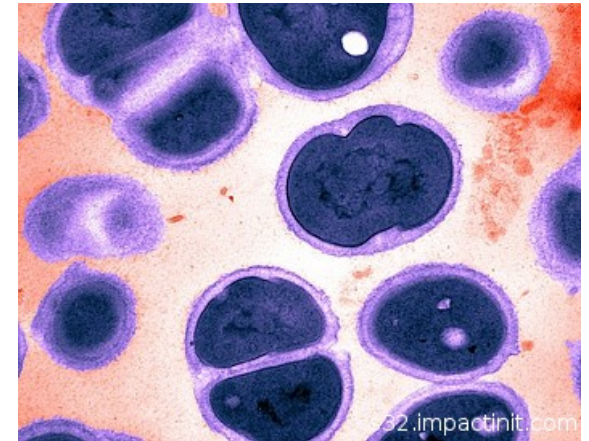
Rod *Neisseria*

- **G– koky až kokobacily, často ve dvojicích**, aerobní, mikroaerofilní (či kapnofilní)
- **KAT+, OXI+**
- **kultivačně poměrně náročné:**
 - ústní neisserie: KA
 - *N. meningitidis*: obohacený KA
 - *N. gonorrhoeae*: ČA



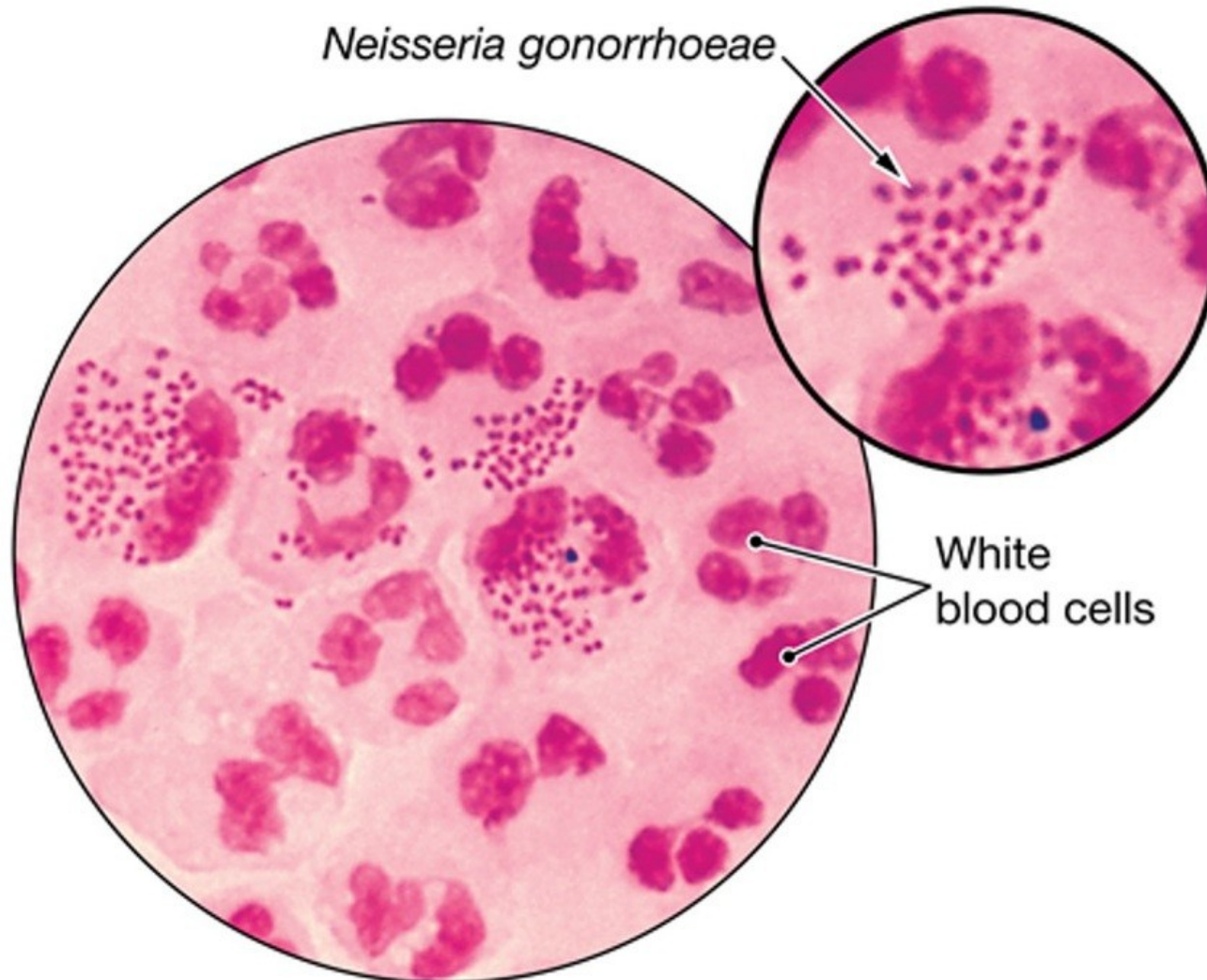
Neisseria gonorrhoeae

- **G– diplokok, tvar kávového zrna**, často intracelulárně (leukocyty)
- **původce kapavky**, infekce nezanechává trvalou imunitu → není možné očkování
- **citlivý na vnější vlivy** (přenáší se pouze pohlavně), nutné **omezit teplotní šok** (předehřáté medium, rychlý transport atp.)
- z důvodu citlivosti se **zasílají výtěry: ústí urethry, cervix** (nikoli pochva!), **rektum** (možný rezervoár infekce), v případě podezření výtěr z **faryngu**
- **kredeizace – prevence novorozenecké keratokonjunktivitidy** (Septonex, dříve AgNO₃)



Intracelulární uložení gonokoků

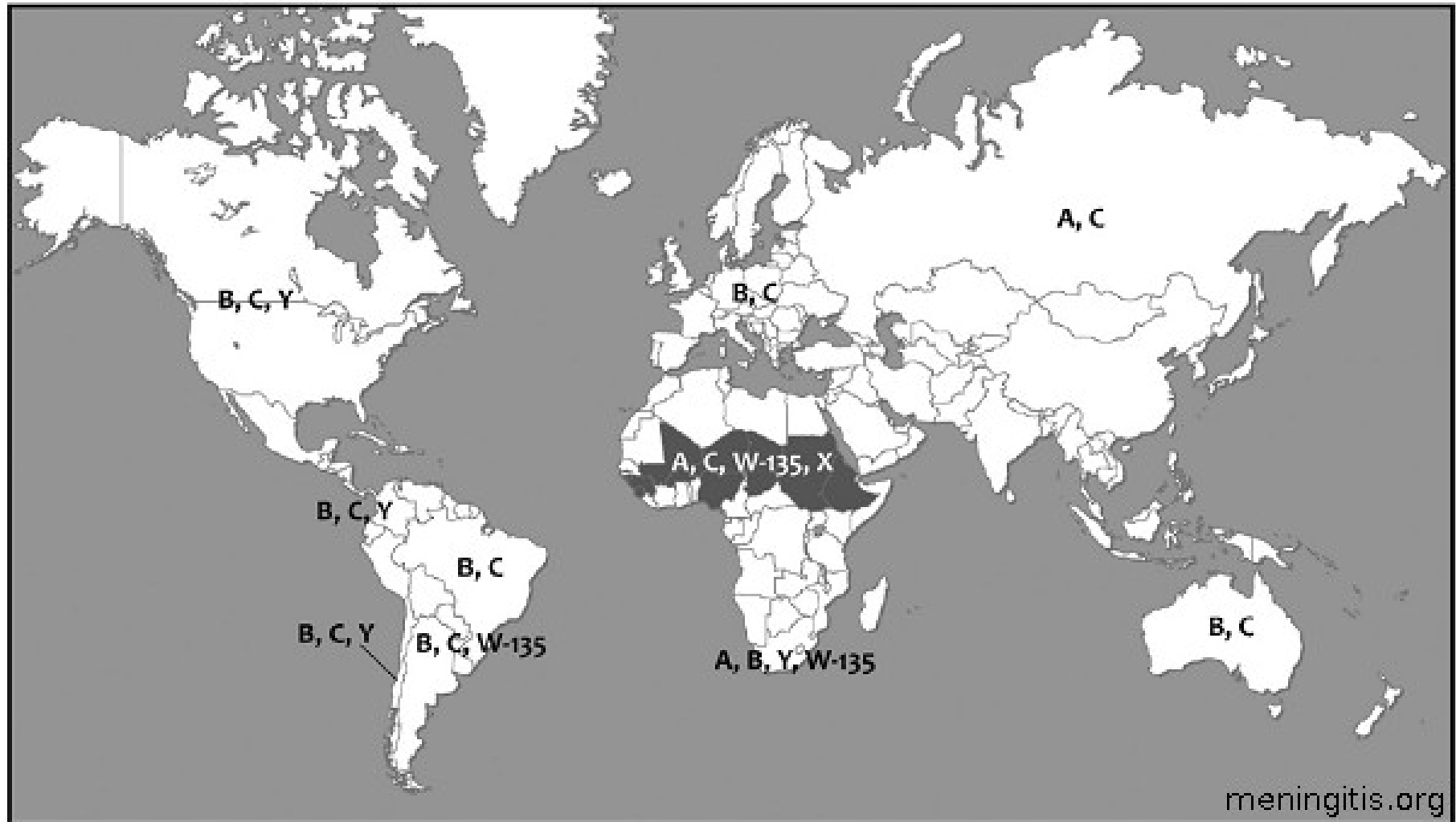
Microscopic View of Urethral Sample



Neisseria meningitidis

- **G– diplokok**, citlivý na teplotu
- **časté bezpříznakové nosičství**, může způsobit faryngitidy, pneumonie, až **meningitidu** a sepsi
- **meningitida málo častá, ale vysoce letální** (nutná kombinace vysoce virulentního kmenu a oslabené imunity)
- **rychlý průběh** (z plného zdraví chřipkovité příznaky, vyrážka, petechie, meningeální příznaky, sepse)
- nejčastější **seroskupiny**: A, B, C, W135, a Y
 - možné **očkování** (v **ČR** nejčastější **seroskupiny B a C**, jinde častější ostatní typy, viz mapa)
 - očkování proti seroskupině B pokrývá $\frac{3}{4}$ kmenů

Neisseria meningitidis (2)



- „meningitis belt“ v Africe

„Ústní“ neisserie

- **běžná mikroflóra dutiny ústní a faryngu**
- **obyčejně nepatogenní**, při poruše imunity endokarditidy, meningitidy
- **koky, kokobacily** (nemusí se jednat o diplokoky)
- kultivace málo náročná, postačí KA
- ***N. lactamica*, *N. subflava***

Srovnání neisserií

	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>
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
„ústní“ neisserie	nejméně choulostivé	roste i na chudém krevním agaru

Rod *Moraxella*

- krátké tyčky, kokobacily, ***M. catarrhalis* diplokok**
- **KAT+, OXI+, INAC+** (indoxylacetátový test)
- sliznice nasofaryngu, spojivkového vaku, genitální trakt
- ***Moraxella catarrhalis*** (dříve rod *Branhamella*):
 - záněty HCD u dětí (sinusitis, otitis media)
- ***Moraxella lacunata***
 - konjunktivitida

Diagnostika G- koků

- u podezření na kapavku **důležité provést správně odběry** (vysoce citlivé mikroorganismy)
 - časté, že patogen nepřežije transport
 - **doporučováno poslat také nátěr na sklíčko z cervixu a urethry** (ne z rekta a faryngu)
- **purulentní meningitida**
 - odebírá se mozkomíšní mok, případně krev na hemokultivaci
 - mozkomíšní mok lze vyšetřit biochemicky, cytologicky a **mikrobiologicky (mikroskopie, přímý průkaz antigenu)**
 - nejdůležitější co nejrychlejší zahájení léčby pacienta!

Kultivace G- koků

- **drobné, bezbarvé nebo nažloutlé kolonie**, rostoucí (podle druhu) na krevním či čokoládovém agaru
- **KA či ČA nezbytný i pro difusní diskový test**

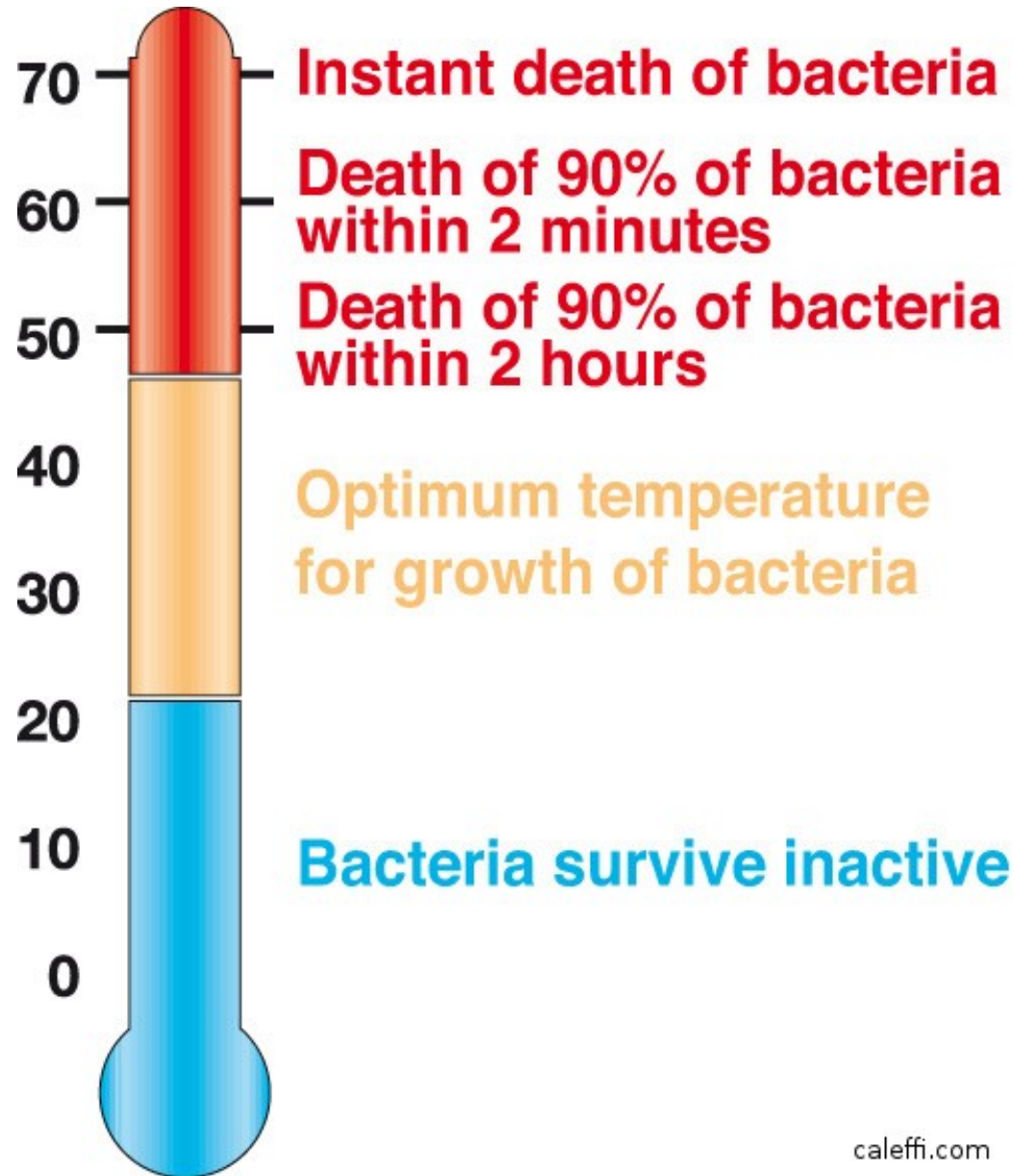
	KA	KA+	ČA
gonokoky	NE	NE	ANO
meningokoky	NE	ANO	ANO
ústní neisserie a moraxelly	ANO	ANO	ANO

Legionella pneumophila

- **kultivačně náročná G- tyčka**, více sérotypů, speciální půda BCYE
- nejčastější **původce legionářské nemoci (pneumonie)**
- **pontiacká horečka** (lehké chřipkové onemocnění s bolestmi hlavy a svalů, **bez postižení plic**)
- **rezervoár ve vodovodech**, klimatizaci, atp. → nutné pečlivé plánování vodovodní sítě
- **přenos inhalací kontaminovaného aerosolu**
- **průkaz antigenu v moči**

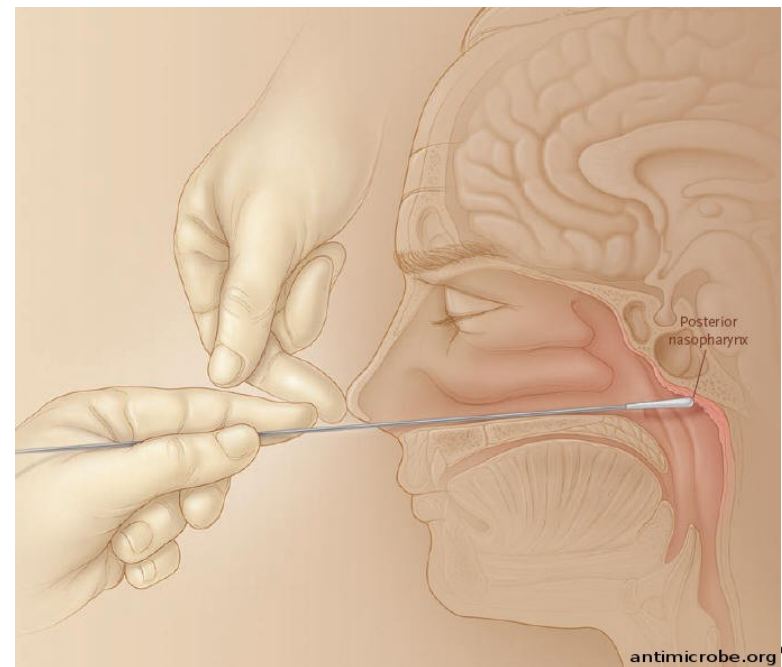


Legionella pneumophila (2)



Rod *Bordetella*

- **G– kokobacily, Bordetova-Gengouova půda**
- **řasinkový epitel HCD, přenos kapénkově**
- ***B. pertussis* a *B. parapertussis***, původci **pertusse** (dávivý neboli **černý kašel**), resp. **parapertusse**
- ***B. bronchiseptica*** (primárně zvířecí patogen, vyvolává respirační onemocnění psů, prasat, atd., ojedinělý přenos na člověka, obtíže podobné pertussi)
- pro diagnostiku se používá **pernasální výtěr**



Rod *Brucella*

- **G– kokobacily**
- **pro člověka patogenní *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* a *B. canis***
- **Bangova choroba** (neboli **brucelóza**, undulující horečka či maltská horečka)
 - místem vstupu nejčastěji poraněná kůže nebo sliznice
 - **intracelulární parazit fagocytujících buněk**, v makrofázích jsou roznášeny po celém těle → **široká škála příznaků** (horečka, zimnice, pocení, únava, myalgie, svalová slabost, nechutenství...)
 - **diagnostika zejména hemokultivace a serologie na specializovaném pracovišti**

Francisella tularensis

- **G– kokobacily, intracelulární parazit**
- **původce tularémie**
 - **primárním rezervoárem hlodavci a klíšťata**
 - **charakteristické fokálním vředem v místě vniknutí do organismu a zvětšením místních mízních uzlin**
 - **podle brány vstupu různá klinická manifestace** (od nejčastější formy ulceroglandulární až po septickou)



Diagnostika „jiných G- tyček“

- **mikroskopie: G – kokotyčky**
- **kultivace:** zpravidla **speciální půdy** (BG pro bordetely, BCYE pro legionely atd.)
- biochemická identifikace: některé znaky mohou být využity
- antigenní analýza: někdy se využívá
- **nepřímé metody:** využívají se, např. aglutinace u tularémie
- **diferenciální diagnostika neprobíhá algoritmicky** (vzorky zasílány na vyšetření přímo s podezřením na legionelózu, dávivý kašel, Bangovu chorobu apod.)

Úkol 1: Mikroskopie suspektních kmenů

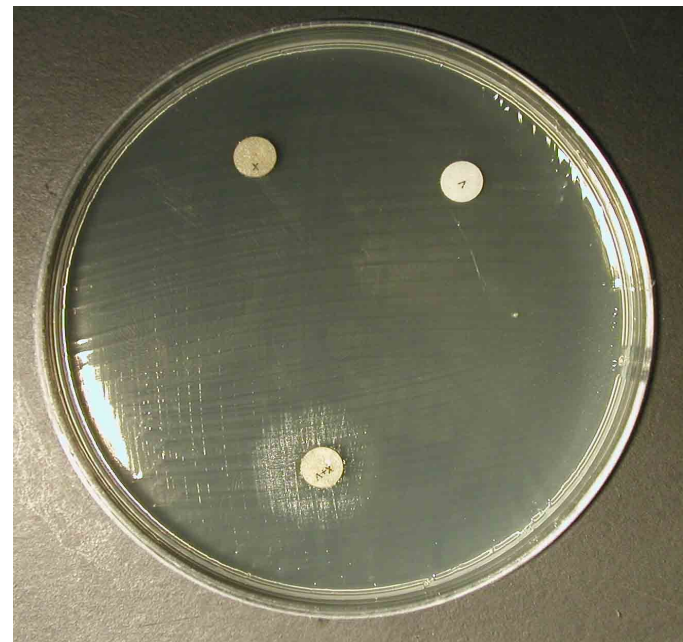
- obarvete kmeny podle Grama a do tabulky vepište výsledky
- kmen, který není G-, nebude studován v úkolech 3 až 5

Úkol 2: Kultivace na agarových půdách

- popište kolonie na KA, pokud na KA nerostou, popište je na KA+ nebo ČA
- popište růst na ENDO
- zhodnoťte nárůst na MH agaru (pigmentace)

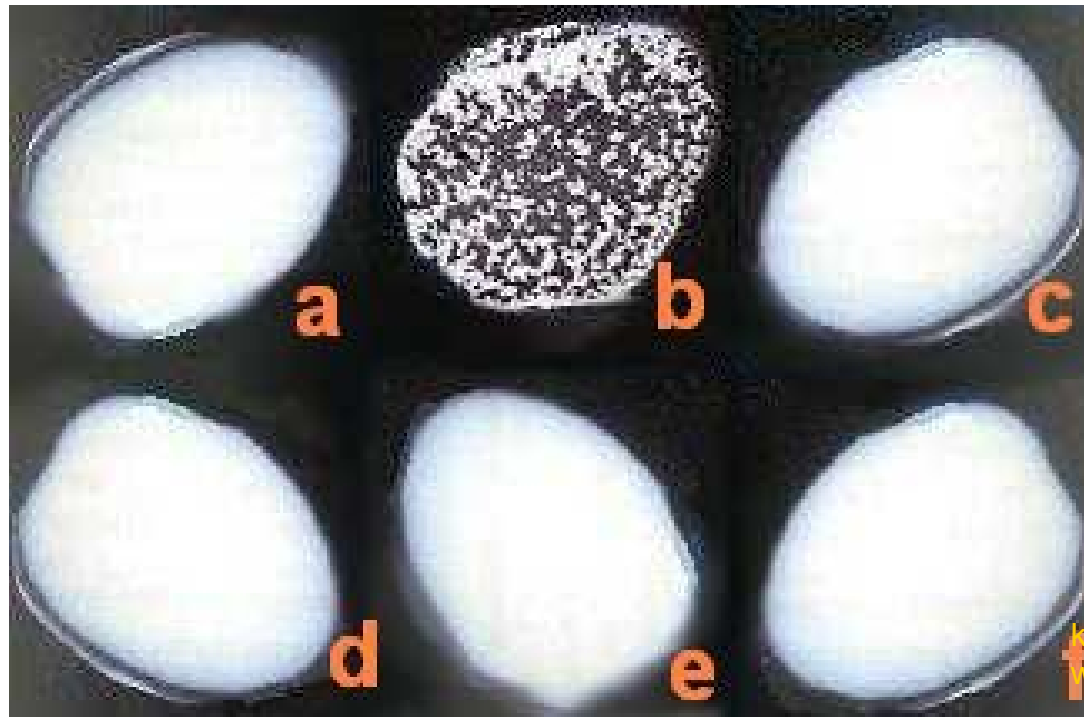
Úkol 3: Identifikace *Pasteurellaceae*

- **úkol 3a: Satelitový fenomén** (zakreslete a popište, jak vypadá satelitový fenomén)
- **úkol 3b: Identifikace hemofilů** podle potřeby růstových faktorů (určete kmeny podle potřeby různých růstových faktorů)



Úkol 3: Identifikace *Pasteurellaceae*

- **úkol 3c: Detekce kapsulárních antigenů *H. influenzae***



- **úkol 3d: Detekce *P. multocida* pomocí typického vzorce citlivosti** (citlivé k penicilinu, rezistentní k vankomycinu)

Úkol 4: Hajnova půda

Úkol 5a: Oxidázový test

- kmen, který fermentuje glukózu (žlutá barva) označte jako „+“;

kmeny nefermentující (červená) jako „-“

- oxidáza:
 - *Pseudomonas* OXI+
 - *Burkholderia* většinou OXI+
 - *Stenotrophomonas* většinou OXI-
 - *Acinetobacter* OXI-
- *Pseudomonas* (pigment, typická vůně, OXI+)

Úkol 5: Základní biochemické testy u G- koků

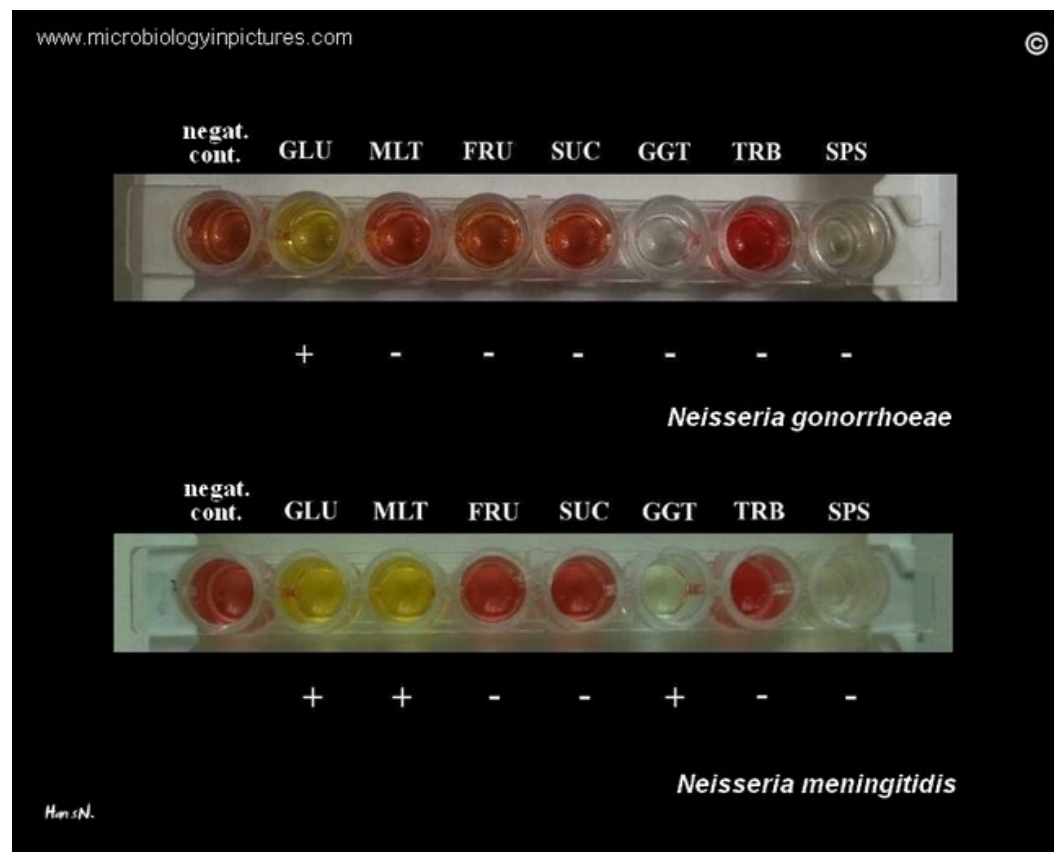
- testy budou prováděny demonstračně na bočním stole
- **úkol 5a: Oxidázový test k odlišení neisserií a moraxel od případných jiných G- koků**
- **úkol 5b+c: Indoxylacetátový test k odlišení *Moraxella catarrhalis* od neisserií**
 - proužkový test, pozitivní je modrozelené zbarvení po několika minutách

Úkol 5b: Podrobné biochemické testování (NEFERMtest 24)

- vyhodnoťte předložené výsledky NEFERMtestu 24
- **kultivace 2 dny při 30 °C**
- **sedmimístný kód:**
 - **první číslice** je 0 (OXI-) nebo 1 (OXI+)
 - **dalších 6 číslic pochází ze sloupců H až C**
 - sloupce B a A se nepočítají (používají se jen pro případné další rozlišení)

Úkol 5b: Diagnostika neisserií a moraxel biochemickými testy

- v našich podmínkách **NEISSERIAtest**
- **povšimněte si slabé biochemické aktivity patogenních neisserií**
- **gonokok štěpí jen glukózu**
- **meningokok jen glukózu a maltózu**



Úkol 6: Testy citlivosti patogenů na antibiotika

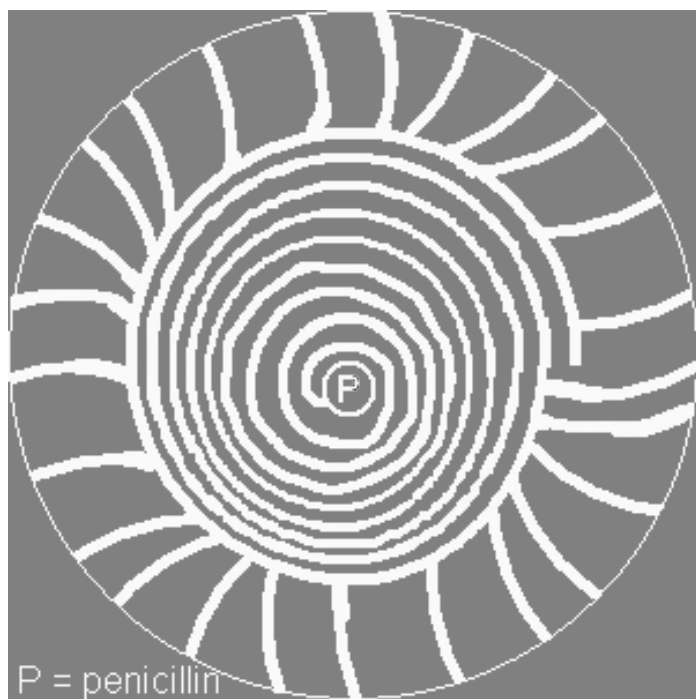
- odečtěte test pro pseudomonádu

Úkol 7: Přímý průkaz antigenů původců meningitid

- **prohlédněte si soupravu** a zapište názvy mikrobů, které mohou být touto metodou diagnostikovány:
 - *Neisseria meningitidis* A (teenageři, batolata)
 - *Neisseria meningitidis* B (teenageři, batolata)
 - *Neisseria meningitidis* C (teenageři, batolata)
 - *N. meningitidis* Y/W135 (teenageři, batolata)
 - *Haemophilus influenzae* b (dříve batolata)
 - *Streptococcus pneumoniae* (senioři)
 - *Streptococcus agalactiae* (novorozenci)
 - (nejtypičtější věková skupina uvedena v závorce)
- **prohlédněte si videoklip** a zapište určený patogen

Úkol 8: Diagnostika bordetel, brucel, legionel a francisel

- **úkol 8a: Kultivační diagnostika bordetel**
 - výtěr je smíchán s kapkou
 - očkován ve směru spirály
 - poté jsou očkovány radiální paprsky kličkou



Úkol 8: Diagnostika bordetel, brucel, legionel a francisel

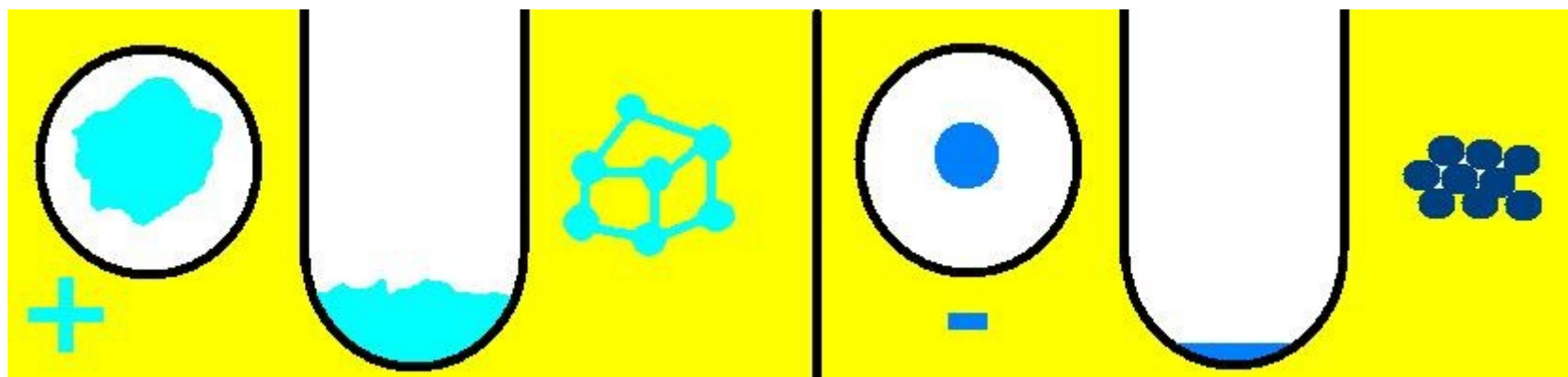
- úkol 8b: Demontrace kultivační půdy na legionely (Buffered Charcoal Yeast Extract)



některé legionely
fluoreskují v UV světle

Úkol 8: Diagnostika bordetel, brucel, legionel a francisel

- **úkol 8c: Průkaz protilátek proti tularémii**
 - **aglutinace je mapovitý povláček** na dně důlku (buňky jsou provázány protilátkami)
 - **negativní reakce je kompaktní pravidelná tečka** (sedimentované bakteriální buňky)



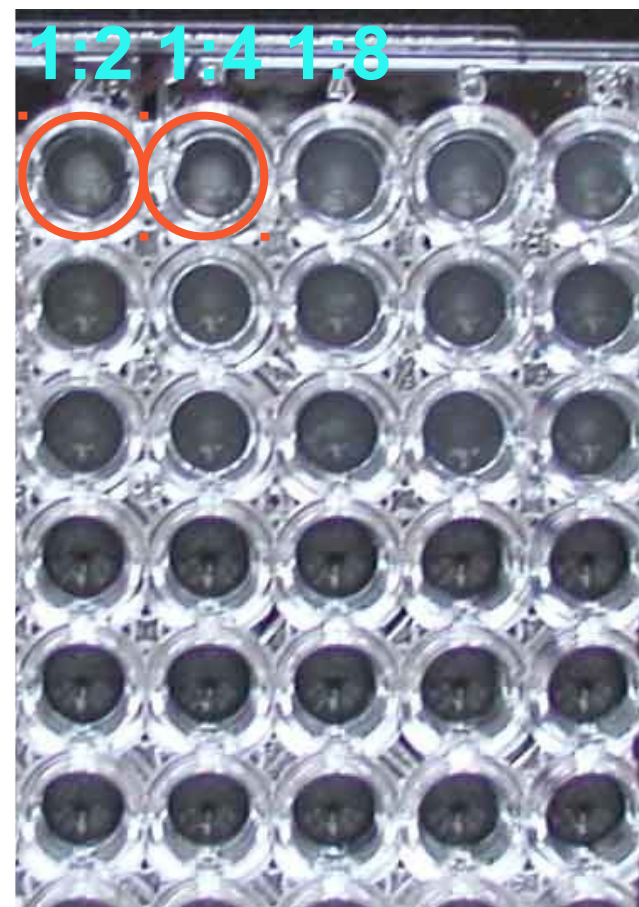
pozitivní

negativní

Úkol 8: Diagnostika bordetel, brucel, legionel a francisel

- **úkol 8c: Průkaz protilátek proti tularémii**

- **1. řada:**
aglutinát je viditelný
v ředění 1:2 a 1:4,
nikoli však již 1:8 a vyšším
titr je 1:4
- **2. řada:**
v žádném důlku
není aglutinace →
žádný titr,
negativní reakce



Úkol 8: Diagnostika bordetel, brucel, legionel a francisel

- **úkol 8d: Diagnostika protilátek proti brucelóze**
 - provedena **ELISA** ve třídách IgG i IgM
 - **pokuste se o závěrečnou interpretaci**
 - **pozitivní IgM → akutní infekce**
 - **pozitivní igG → prodělaná/chronická infekce**

Po tomto cvičení byste měli umět:

- popsat nejdůležitější zástupce čeledi *Pasteurellaceae* a nejvýznamnější zástupce gramnegativních nefermentujících bakterií (GNFB), vč. diagnostických postupů, které vedou k úspěšné identifikaci, vysvětlit co je satelitový fenomén a na základě čeho vzniká
- vysvětlit použití ATB a typické vzorce citlivosti čeledi *Pasteurellaceae* a GNFB, využít specifické růstové faktory pro rozlišení hemofilů
- popsat nejdůležitější zástupce rodů *Neisseria* a *Moraxella*, vč. diagnostických postupů, které vedou k úspěšné identifikaci
- zhodnotit nároky na transport a výživu rodů *Neisseria* a *Moraxella*, popsat „jiné“ G- tyčky, jejich nároky na kultivaci a možné diagnostické metody
- jmenovat původce purulentních meningitid, vč. diagnostických postupů, které vedou k úspěšné identifikaci