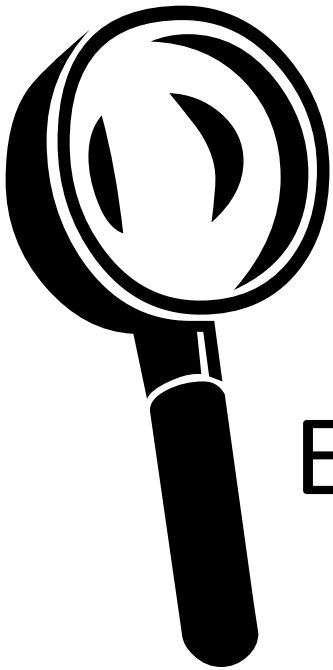


Mikrobiologický ústav uvádí

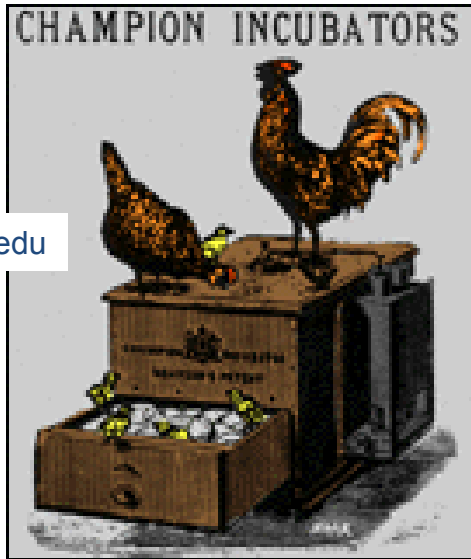
# NA STOPĚ PACHATELE



Díl čtvrtý:

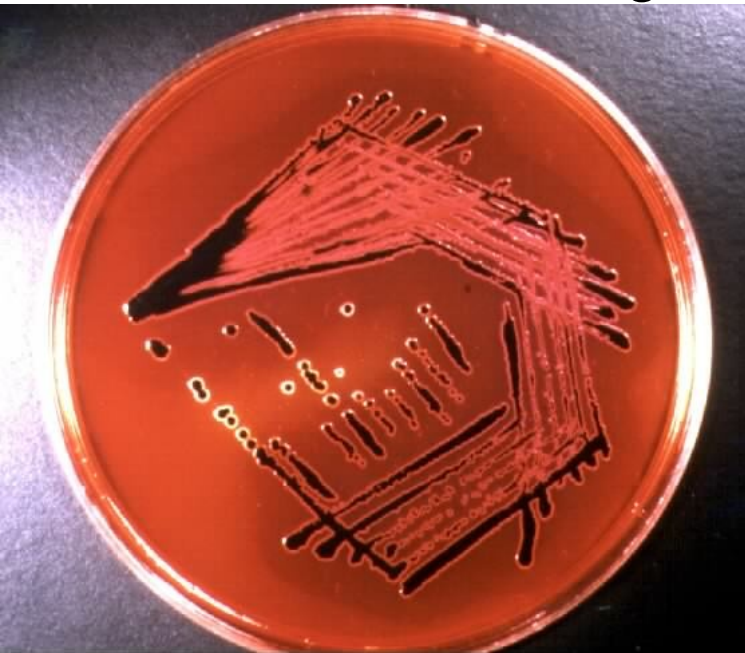
Enterobakterie (a spol.)

# Na začátek báseň...



<http://www.uwec.edu>

Salmonella na MAL agaru



Nemůžem vždy slepici  
kontrolovat stolici.

Jednou projdem drůbežárnou  
a stolici najdem zdárnou.

Přiletí však holub bělý  
zanese tam salmonely.

Odnesou pak vejce

pro cukráře – strejce

Cukrář – strýček nevinný  
nadělá z ní zmrzliny

Mládež sní ji s důvěrou

a všichni se...

# Přehled témat

Klinický popis: *Enterobacteriaceae*

Klin. popis: *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Vibrionaceae*

Obrázky bakterií

Diagnostika enterobakterií

Dg. rodů *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Vibrionaceae*

Klinický popis:

*Enterobacteriaceae*

# Příběh první

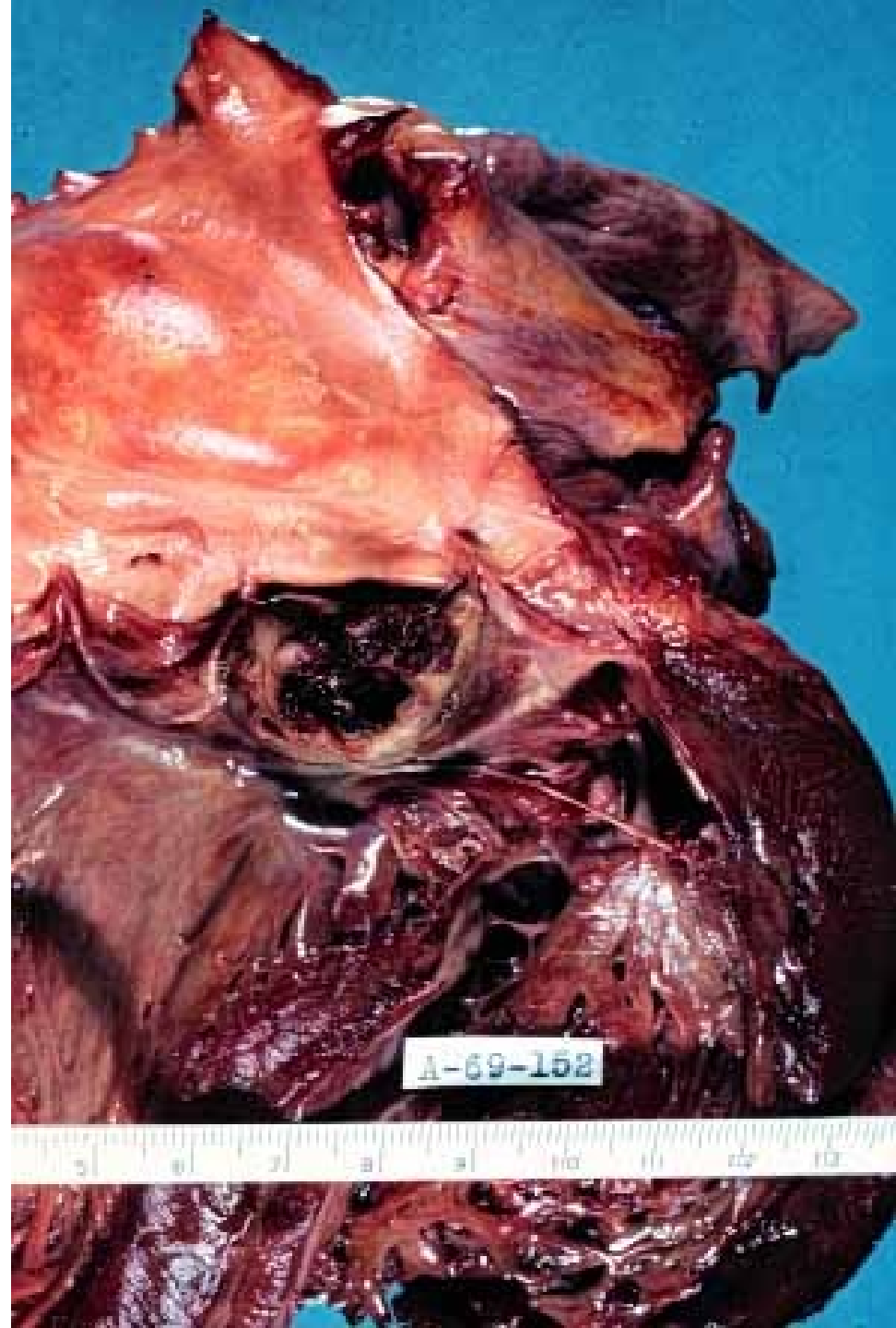
- Slečna Tereza je mlsná. Dnes si po obědě dala krémový zákusek. Odpoledne ji začala zvracet a měla průjem. Navštívila lékaře, ten jí odebral výtěr z řitního kanálu. Za několik dní volali Tereze z územního pracoviště krajské hygienické stanice. Tereza si byla jistá, že za všechno může krémový zákusek. Ukázalo se však, že její podezření bylo falešné...

# Kdo je tedy skutečný viník?



- Bakteriálním viníkem je *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, zkráceně *Salmonella* Enteritidis
- Viník – jídlo nemůže být krémový zákusek! Neodpovídá totiž inkubační doba, které je u salmonelóz zpravidla dva dny, někdy ale i týden
- Viníkem – jídlem se nakonec ukázal být žloutkový věneček, který Tereza zbaštila o dva dny dřív
- Lidským viníkem bude pravděpodobně někdo v cukrárně „U hysterické cukrářky“, kde někdo něco nejspíš zanedbal. Právě teď po tom pátrá oddělení hygieny výživy KHS. Může jít o primární či sekundární kontaminaci jídla.

# Salmonelová endokarditis



# Primární patogeny z řad enterobakterií

- *Enterobacteriaceae* je klinicky nejdůležitější čeleď gramnegativních tyčinek (ale důležitá je i pro ne-klinická odvětví mikrobiologie)
- Nejhorší patogeny způsobují celkové infekce: je to *Yersinia pestis* (způsobuje mor) a tzv. antropopatogenní serovary salmonel (serovary Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B a Paratyphi C – způsobují břišní tyfus – onemocnění s vysokými horečkami a bolestí hlavy)
- Závažné jsou ale i obligátní patogeny působící zpravidla „jen“ střevní infekce. I u nich je však riziko sepse, hlavně u oslabených osob
- Týká se to rodů *Salmonella*, *Shigella* a *Yersinia*



# Mor (*Yersinia pestis*)



# Bacilární úplavice (shigelóza) z hlášení KHS JMK za květen 2008

## Shigelóza (A03)

- Rodinný výskyt – dítě nar. 2005 z Brna, rómské národnosti. První příznaky 10. 5. **Teplota 38 °C, průjem, zvracení.** Hospitalizace na KDIN FN Brno od 12. 5., kultivačně *Shigella sonnei*.  
V epidemické souvislosti hospitalizovány 17.5. a 22. 5. další 3 děti nar. 2003, 2002, 1994. Ve všech případech potvrzena *Shigella sonnei*.

# Poznámka k salmonelám a shigelám

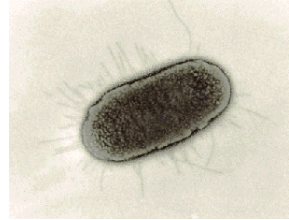
- To, že mezi střevními patogeny jsou rozdíly, ukazuje příklad salmonel a shigel.
- **Salmonely** potřebují vysokou infekční dávku. Musí se tedy pomnožit v nějaké potravíně. Infekce jsou téměř výhradně z potravin.
- **Shigelám** naproti tomu stačí malá infekční dávka, takže se snadno přenesou špinavýma rukama, klikou od záchodu nebo kontaminovanou vodou.
- Existují také **klinické rozdíly** (rozdílný charakter průjmu apod.). Například shigelóza má svůj specifický název – **bacilární úplavice/dysenterie** (neplést s amébovou úplavicí)

# Příběh druhý



- Paní Mokrá je v péči urologické kliniky pro přetrvávající potíže při močení
- Paní Mokrá má podobné potíže opakovaně. Po třech porodech má narušenou svalovinu pánevního dna, léčila se i pro inkontinenci moče. Lékaři ji upozornili, že riziko močové infekce je u ní zvýšené, protože má narušené mechanismy normální obrany proti infekci. Je to trochu bludný kruh, protože opakované infekce stav sliznic dále zhoršují

# Kdo za to tentokrát může?



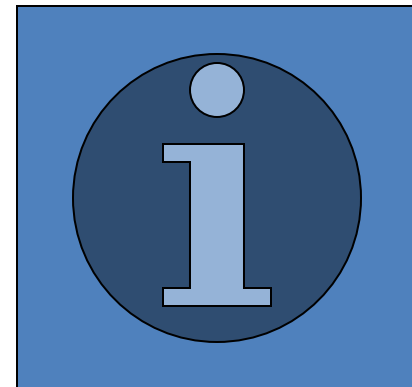
- Viníkem je *Escherichia coli*, respektive její uropatogenní kmen (uropatogenní *E. coli* – UPEC)
- Viníkem by mohla být i kterákoli jiná z podmíněně patogenních enterobakterií (ale i obligátně patogenní kmeny, např. salmonely, se uplatňují)
- *Escherichia coli* je jednou z nejdůležitějších součástí střevní mikroflóry, kde je zdraví prospěšná: produkuje bakteriociny, které nedovolí jiným bakteriím kolonizovat sliznici. *Escherichia coli* dokonce zásobuje tělo vitamíny (zejména E a K).
- *Escherichia coli* byla objevena německo-rakouským profesorem Theodorem Escherichem (zemřel 1911)

# Patogenita *Escherichia coli*

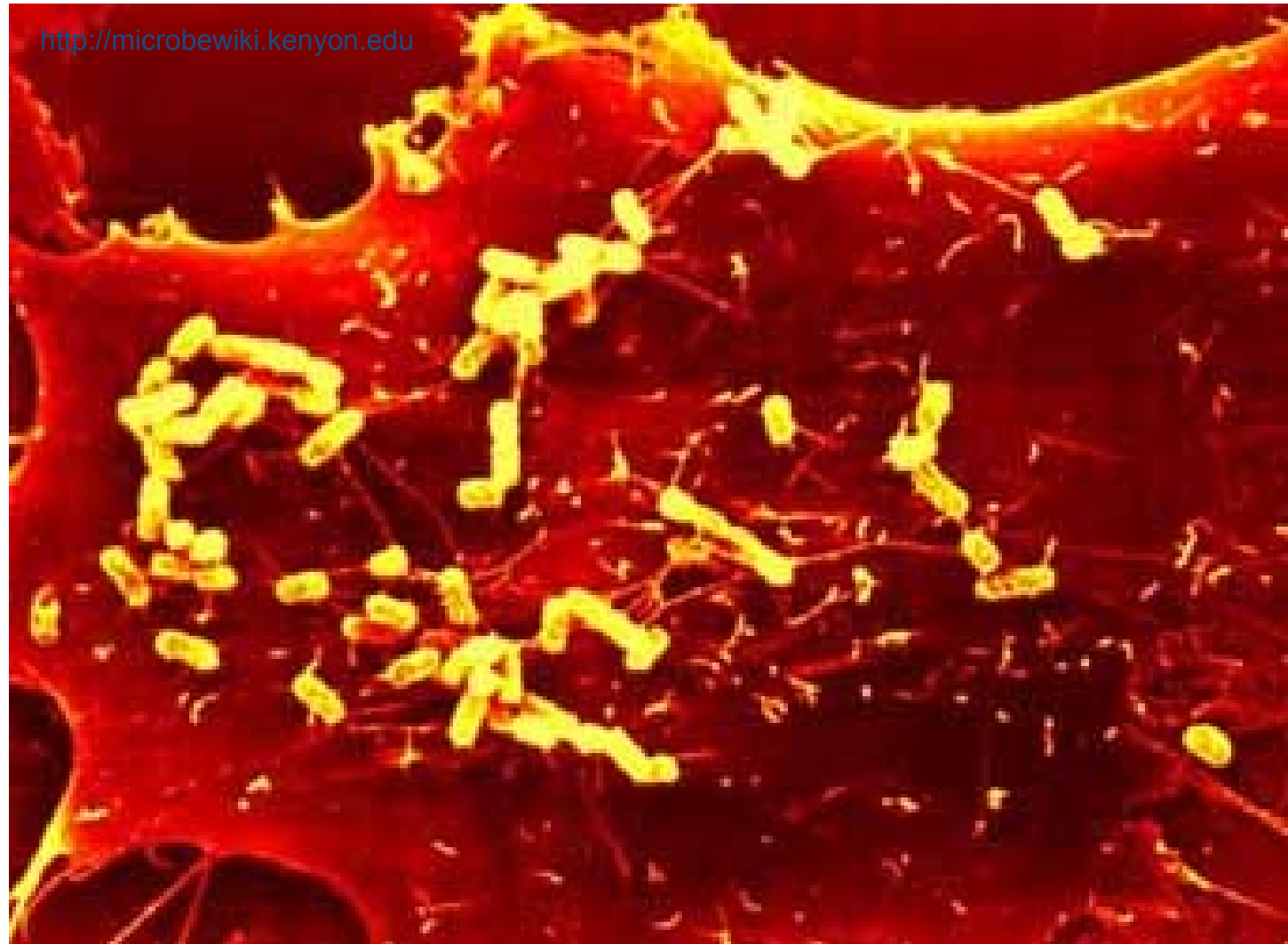
- Uvnitř střeva
  - EPEC (enteropatogenní EC)
  - ETEC (enterotoxické EC)
  - EIEC (enteroinvazivní EC)
  - STEC (shiga-toxigenní EC), tato skupina také zahrnuje EHEC – enterohemorhagické *E. coli*)
  - EAggEC (enteroaggregativní *E. coli*)
  - Kombinace (STEC + EAggEC = kmen O:104H:4, který způsobil těžkou epidemii v Německu 2011)
- Mimo střevo
  - UPEC (uropathogenní *E. coli*)
  - Kmeny způsobující respirační infekce
  - Kmeny způsobující sepse, infekce ran atd.

# Multirezistentní enterobakterie

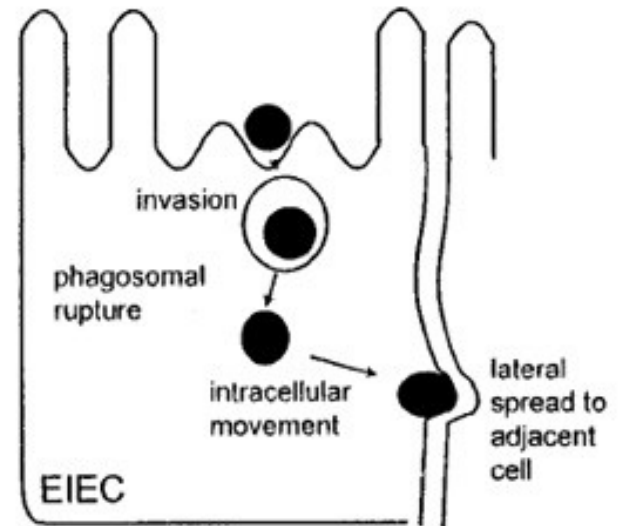
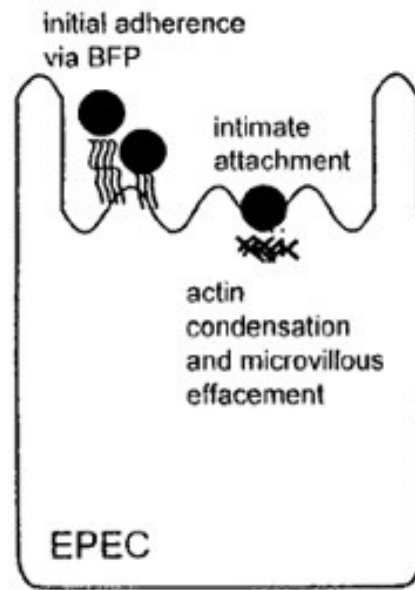
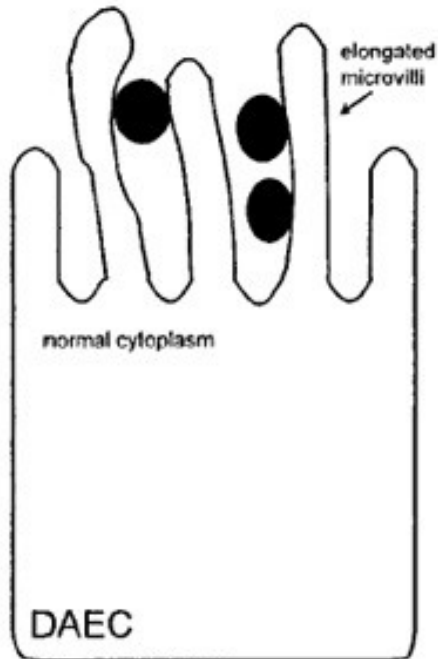
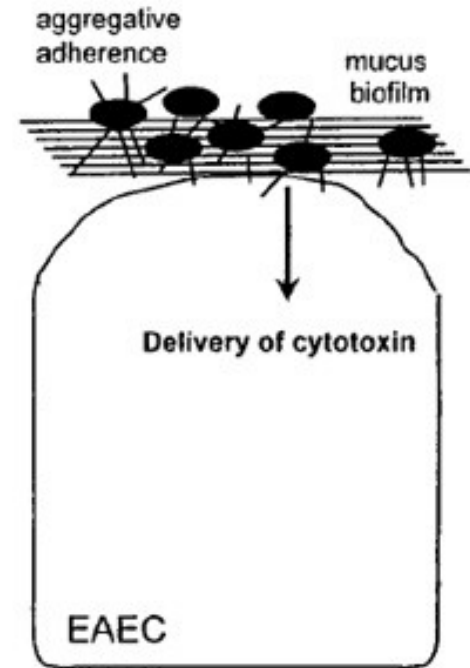
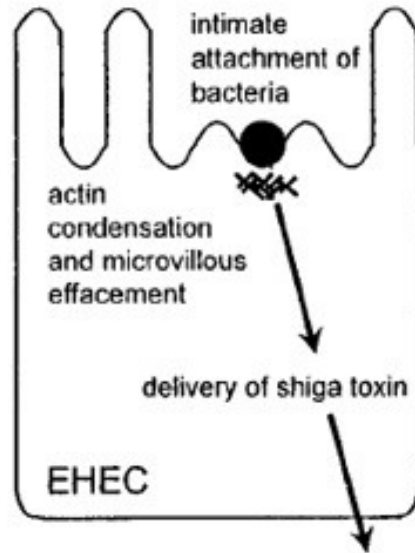
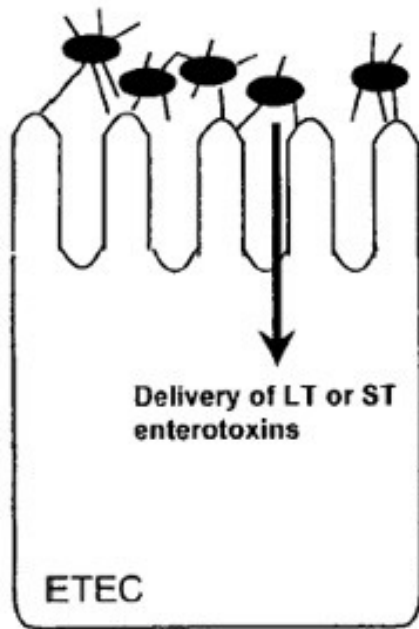
- Problémem moderní doby je přítomnost kmenů enterobakterií, které jsou rezistentní na mnoho antibiotik. Mohou to být kmeny různých druhů. Jde zejména o produkci širokospektrých betalaktamáz typu ESBL, případně ampC.



# Stěna močového měchýře s adherovanými escherichiemi



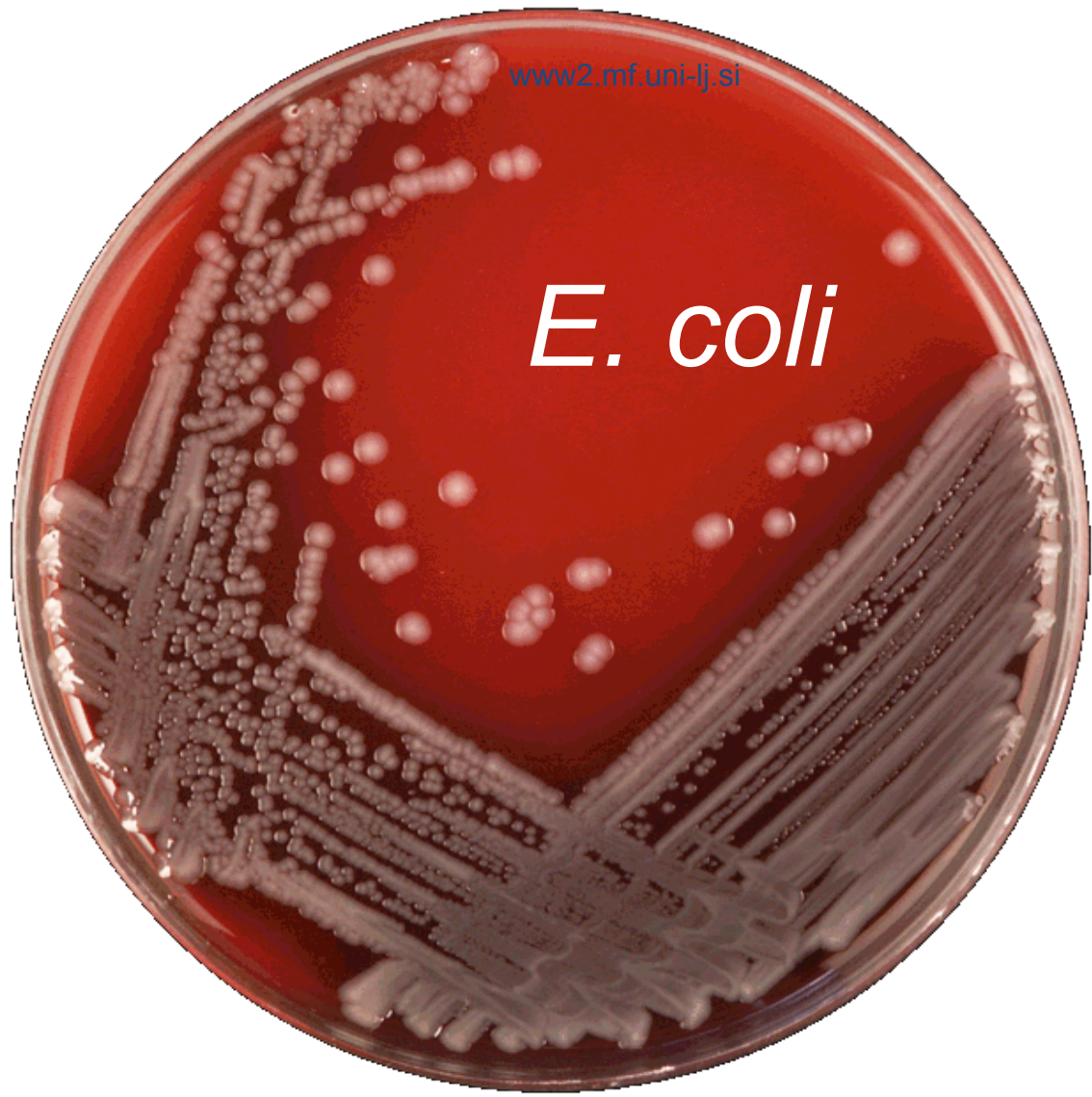




# I korneální vřed může způsobit *Escherichia coli*

[www2.mf.uni-lj.si](http://www2.mf.uni-lj.si)





# Některé další oportunně patogenní enterobakterie

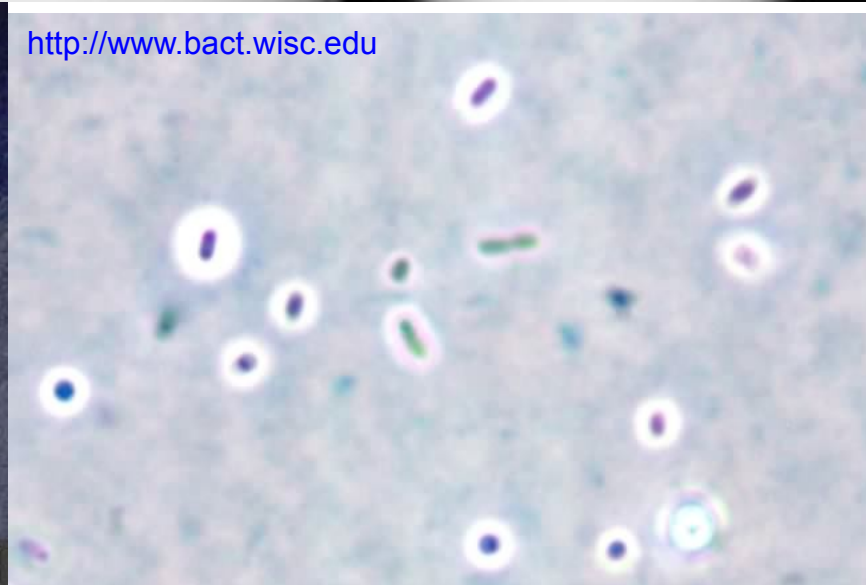
- *Enterobacter, Klebsiella, Pantoea* – často opouzdřené, mukózní kolonie. Zejména klebsiela je častým původcem nemocničních infekcí (dýchací cesty, cystitidy)
- *Proteus, Providencia, Morganella* – proteolytické kolonie (v diagnostice typický zápach jejich kolonií). Občasní původci infekcí močových cest a dalších infekcí
- *Citrobacter* – biochemicky podobný salmonele, ale má pozitivní ONPG test
- *Hafnia* – primární patogen včel

# Co tropí klebsielly...

<http://zdsys.chgb.org.cn>



<http://www.bact.wisc.edu>



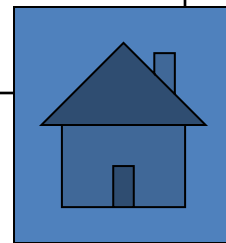
# Přehled enterobaktérií

Červeně pigmentovaný kmen serracie my.opera.com



Příběh	Patogenita	Příklady
–	Systémová	<i>Y. pestis</i> , AP** salmonely
1.	Střevní	ZP* salmonely, shigely, yersinie
2.	Potenciální	<i>E. coli</i> , klebsiely, enterobaktery, protey, providencie, morganely, citrobaktery, serracie a jiné
–	Téměř nulová	Mnoho druhů, například <i>Pragia fontium</i> a <i>Budvicia aquatica</i>

\*zoopatogenení \*\*antropopatogenní



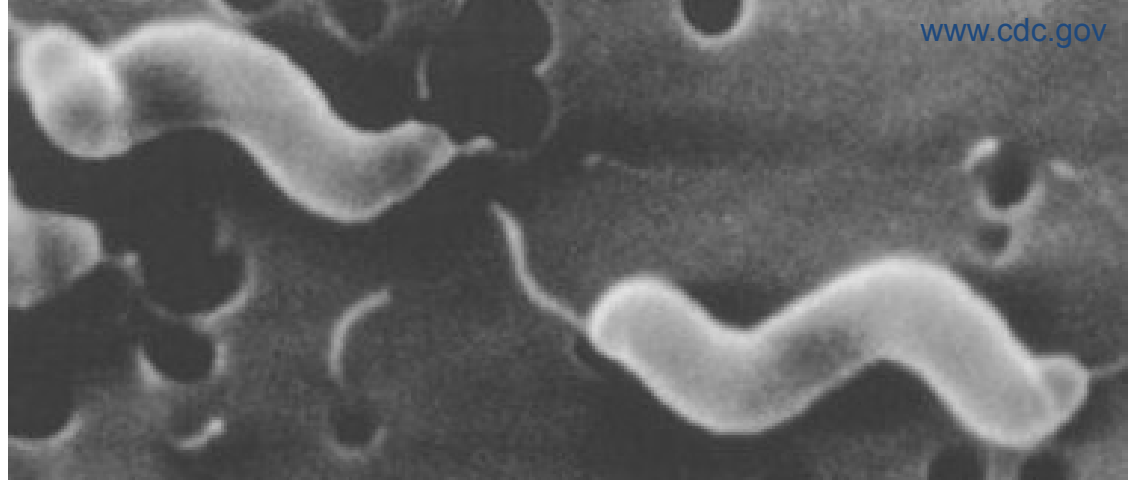
Klinický popis:  
*Campylobacter*,  
*Helicobacter* and  
*Vibrionaceae*

# Příběh třetí

- Student František je častým návštěvníkem fast-foodů. Hlavně si rád a často pochutnává na jídlech z kuřecího masa.
- Proto ani hygienici nepřišli na to, které konkrétní jídlo mohlo za jeho průjmové potíže. František si myslel, že má nejspíš salmonelózu. Hygienici mu však vysvětlili, že salmonelóza se přenáší hlavně z vajíček, kdežto náš viník spíše z kuřecího masa.

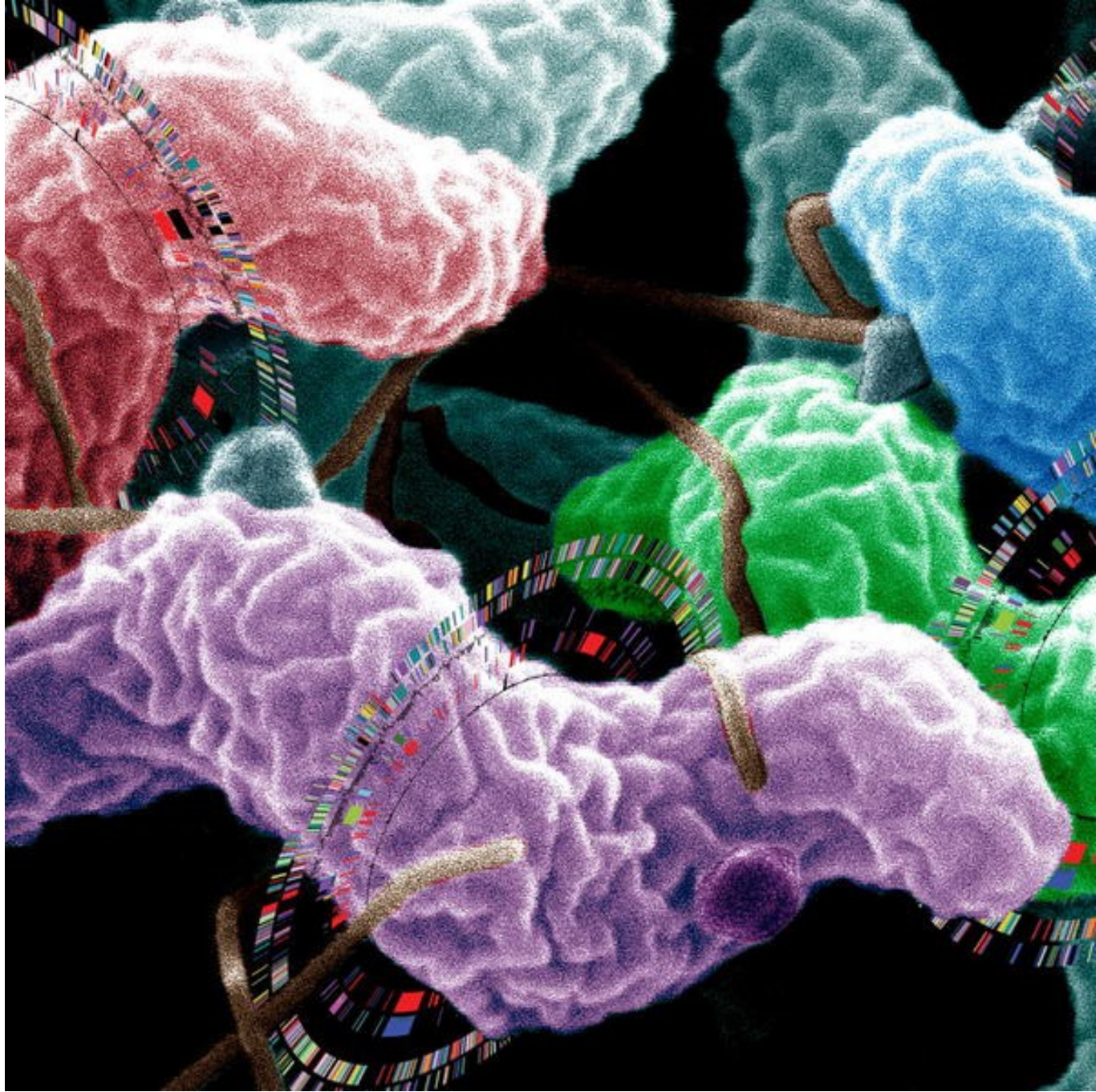


# Viníkem je totiž



- *Campylobacter jejuni*, gramnegativní zahnutá tyčinka. Nepatří mezi enterobakterie, ale kamylobakteri6za je sv6m pr6b6hem a z6vaŹností srovnateln6 se salmonel6zou
- **Počet p6r6pad6** u n6s je v posledn6ch letech p6bliŹn6 stejn6 jako v p6r6pad6 salmonel6zy. T6Źko ř6ci, do jak6 m6ry kamylobakteri6zy skutečně p6r6bylo a do jak6 je jen l6pe diagnostikov6na neŹ d6r6ve

# Kampylobaktery



# Odbočka, ale pro praxi důležitá: Něco málo o odběru stolice

- Zatímco na parazitologii a virologii je nezbytná kusová stolice, na bakteriologii sice není chybou ji poslat, ale není nutná
- Dříve se posílaly výtěry z řitního kanálu na suchém tampónu, nebo takzvané rektální rourky (natíraly se glycerinem, aby odběr nebolel – as. Zahradníček to při svých začátcích ještě zažil, děti ve školce to stejně snášely dost špatně)
- Dnes je metodou volby tampon zanořený do transportního média (nejlépe Amiesova). Je to právě především kvůli kampylobakterům



## Příběh čtvrtý

- Pan Žáha má problém: **pálí ho žáha**. Problémů má více, už také zvracel krev a je pravděpodobné, že má **peptický vřed**.
- Pomalu už neví, jestli je víc doma doma, nebo na **gastroenterologii**, a fibroskopy polyká častěji než své dříve oblíbené utopence.
- Při poslední gastrofibroskopii mu **endoskopicky odebrali dva vzorky** – jeden poslali na **histologické**, druhý na **mikrobiologické vyšetření**
- Obě vyšetření potvrdila totéž: ***zločinec je tam***.

# Tentokrát jen spolupachatel...



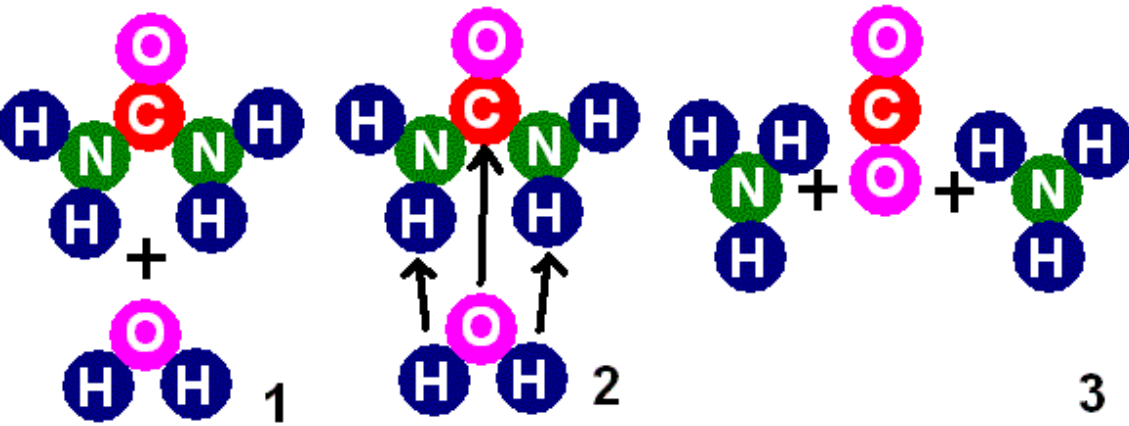
- Peptické (tedy gastrické či duodenální) vředy jsou onemocněním, které vzniká souhrou více příčin. Takovým onemocněním říkáme obvykle multifaktoriální.
- Dodnes se nejen mezi praktickými lékaři, ale i mezi specialisty liší názory na podíl bakterie *Helicobacter pylori* na vředové onemocnění. Jisto je, že jsou i zdraví lidé s helikobakterem, stejně tak je ale jisto, že helikobakter svůj, nikoli nevýznamný, podíl na onemocnění má.

# Jak zločinec přežívá v extrémně nepříznivém prostředí žaludku?

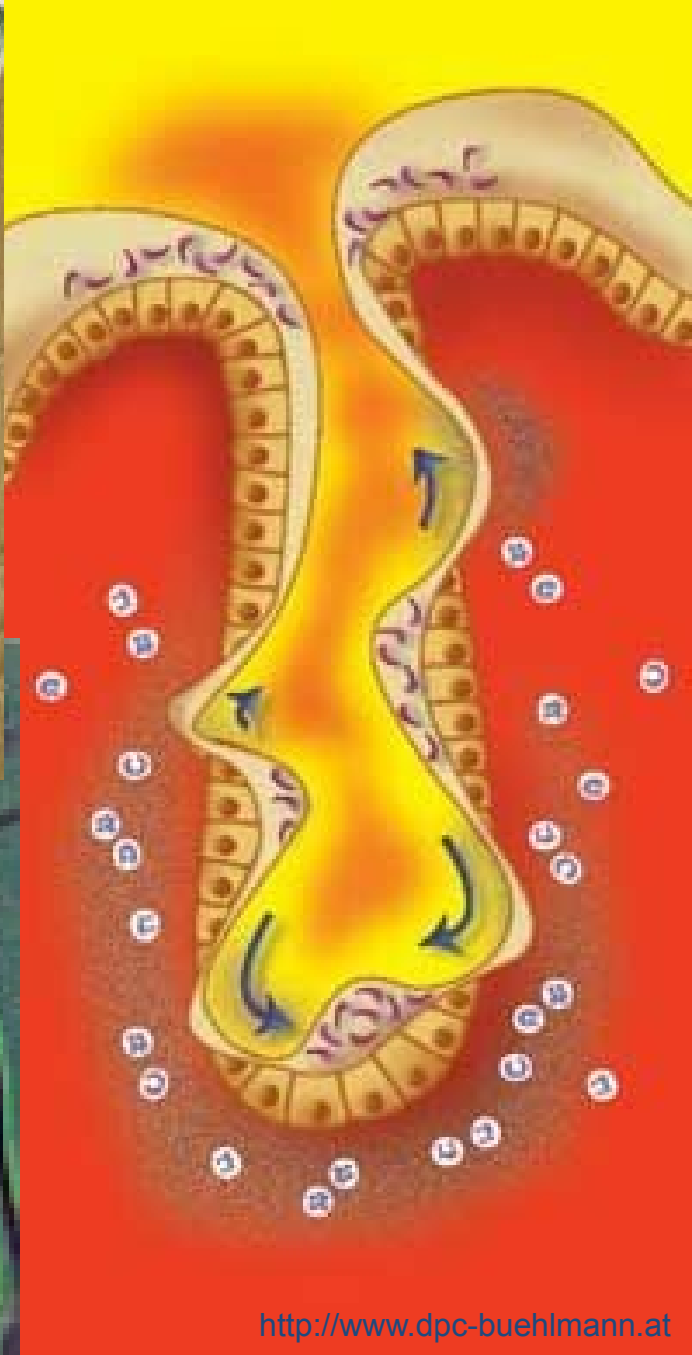
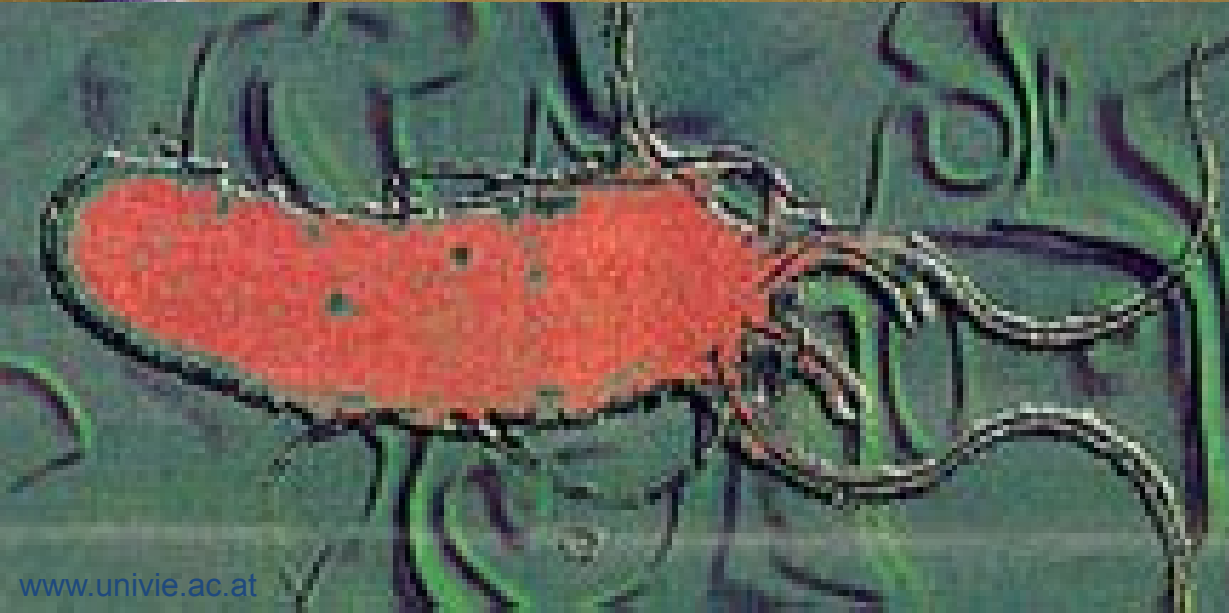
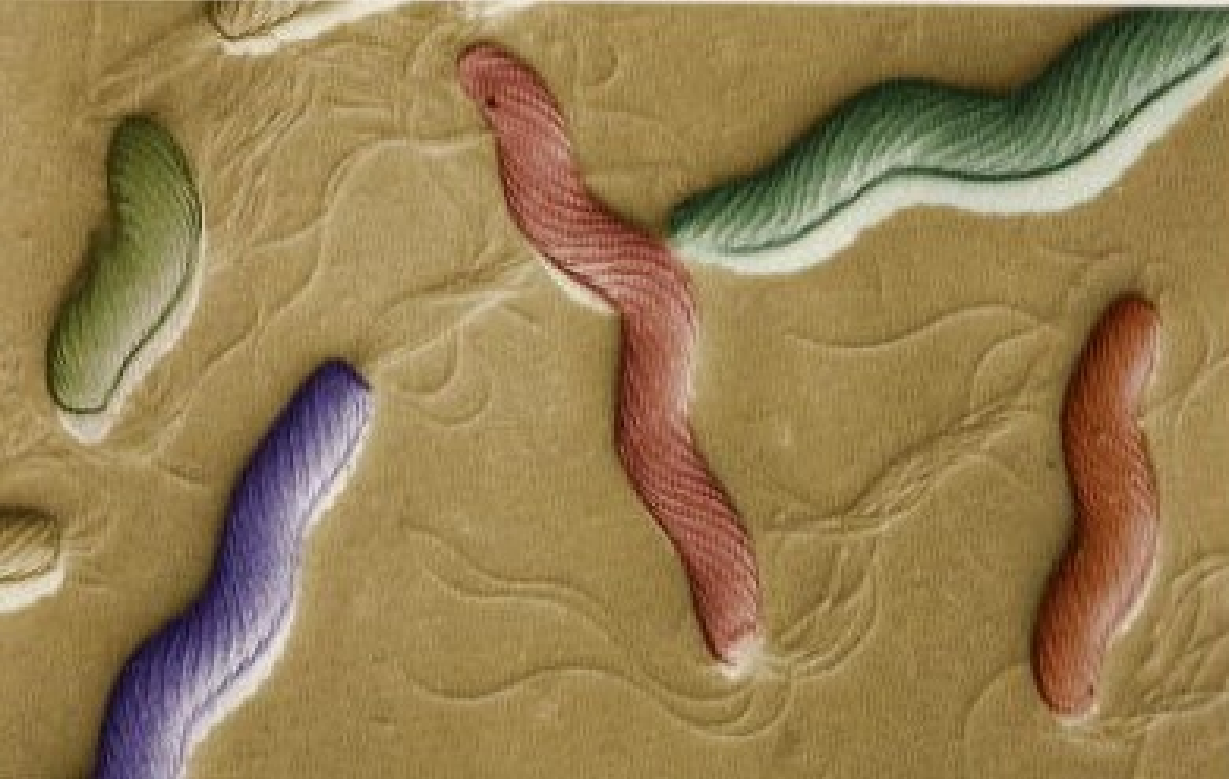
- Upravuje si své mikroprostředí – alkalizuje si ho, štěpě močovinu
- Močovina se rozštěpí na kyselý oxid uhličitý, který vyprchá, a zásaditý čpavek, který zůstane a alkalizuje prostředí
- Štěpení močoviny probíhá podle reakce:



# Ještě jednou štěpení močoviny



(zde místo čpavku NH<sub>4</sub>OH figuruje amoniak NH<sub>3</sub>, proto také do reakce vstupuje jen jedna molekula vody – NH<sub>3</sub> se ovšem jako plyn okamžitě slučuje s další molekulou vody na NH<sub>4</sub>OH)



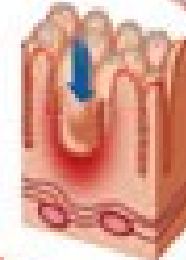


# Komplikace helicobakterového onemocnění

## Helicobacter-Infektion und die Folgen

Kommen Risikofaktoren wie Rauchen, Stress, Alkohol oder Veranlagung hinzu, können sich Magen- oder Zwölffingerdarmgeschwüre entwickeln.

### Magengeschwür



Um sich vor der Magensäure zu schützen, bildet *Helicobacter pylori* das Enzym Urease.

### Gastritis

Dadurch werden die Stoffwechselfvorgänge der Magenschleimhaut gestört. Der Säurehaushalt des Magens gerät ins Ungleichgewicht. Folge ist eine Entzündungsreaktion (Gastritis).



Die chronische Entzündung der Magenschleimhaut durch *Helicobacter pylori* verursacht Gewebeveränderungen, die als Krebsstufen gelten.

### Magenkrebs

Schließlich kann sich Magenkrebs entwickeln.



Schleimhaut (Mucosa)  
Die Schleimschicht-Auflage schützt die Magenwand vor der Magensäure

Verschlebeschicht (Submucosa)

Ringmuskelschicht

Längsmuskelschicht (Bauchfell)

Querschnitt durch die gesunde Magenwand

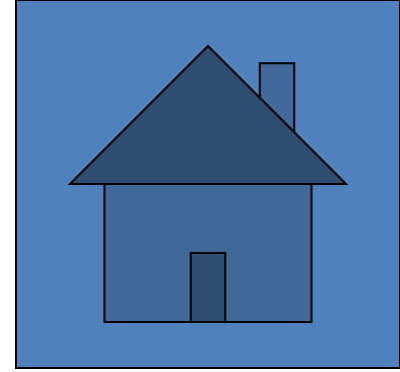
### Therapie

Die Therapie erfolgt durch eine Kombination verschiedener Medikamente.

# Příběh pátý

- Pan Exot miloval exotickou dovolenou. Byl zvyklý pít **vodu z místních zdrojů**.
- A tak se ani nedivil, že dostal **průjem**.
- Tentokrát to ale bylo horší než obvykle. Průjem byl **silný a vodnatý**.
- **Příjem vody ústy nestačil**. Až infusní doplnění chybějících tekutin mu pomohlo.

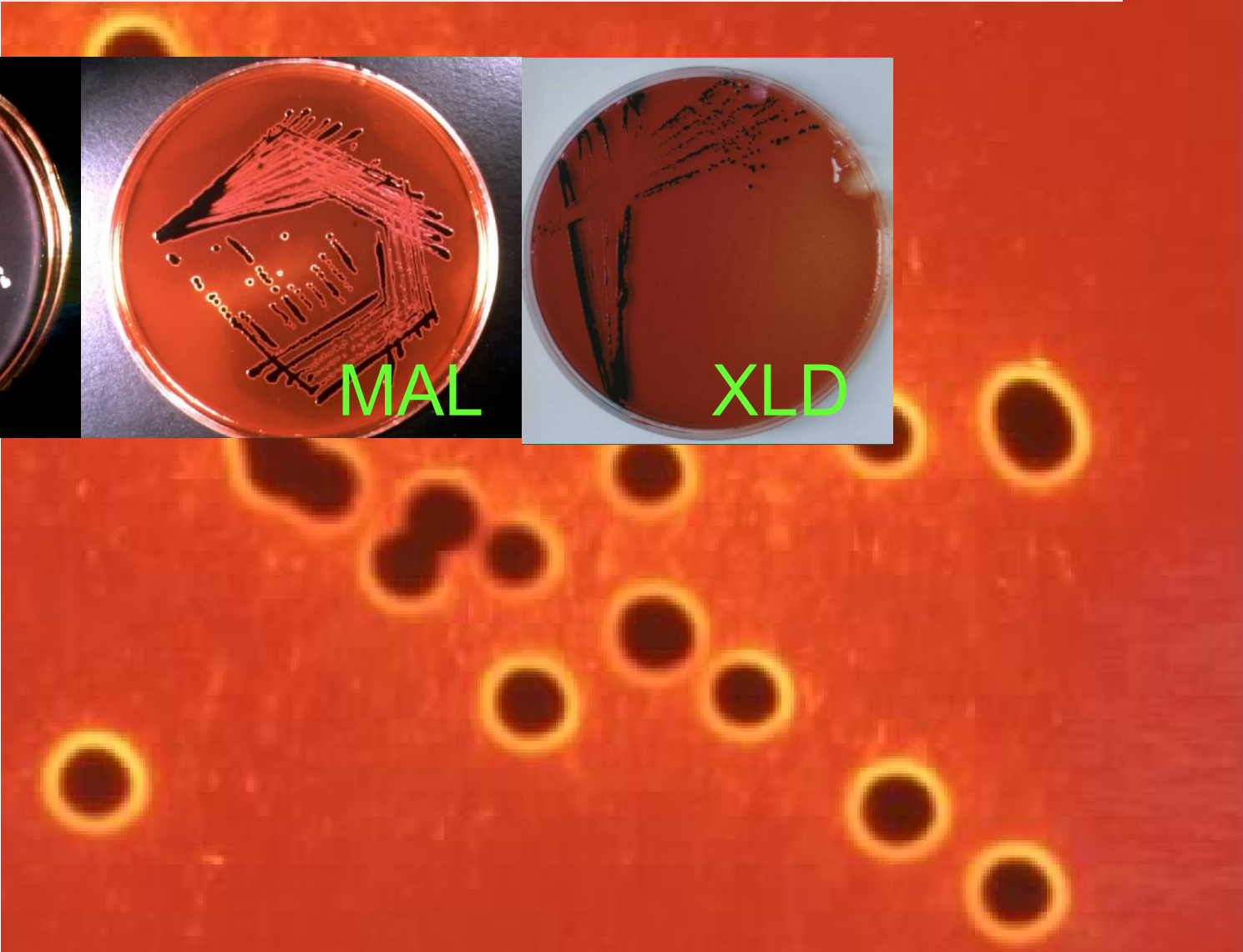
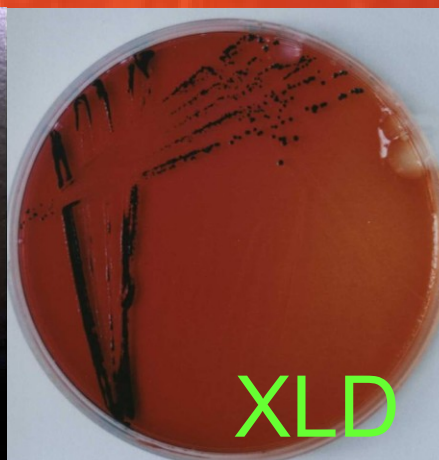
# *Vibrionaceae*



- ***Vibrio cholerae*** způsobuje cholera, těžké průjmové 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
- ***Aeromonas***, druhý významný rod, také způsobuje rané infekce, například při přípravě jídel z ryb a plodů moře.

# Obrázky bakterií

# Fotografie z databáze zločinců: Salmonela

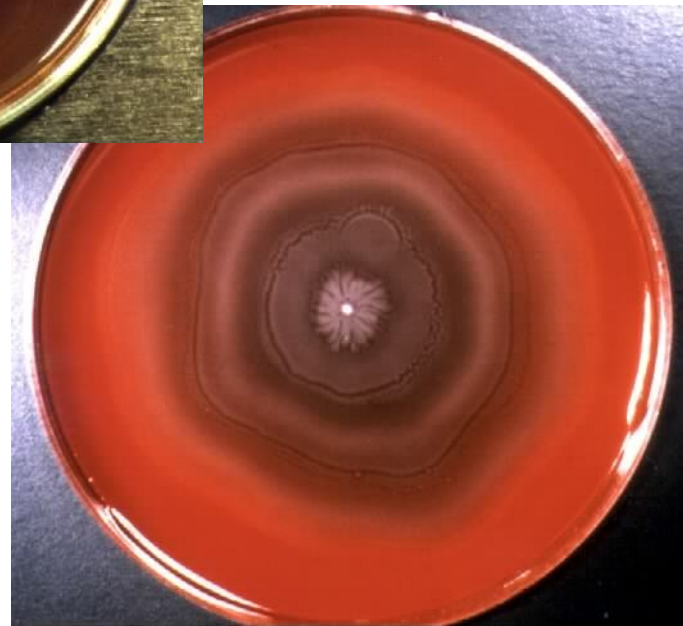


# *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris* (dole)

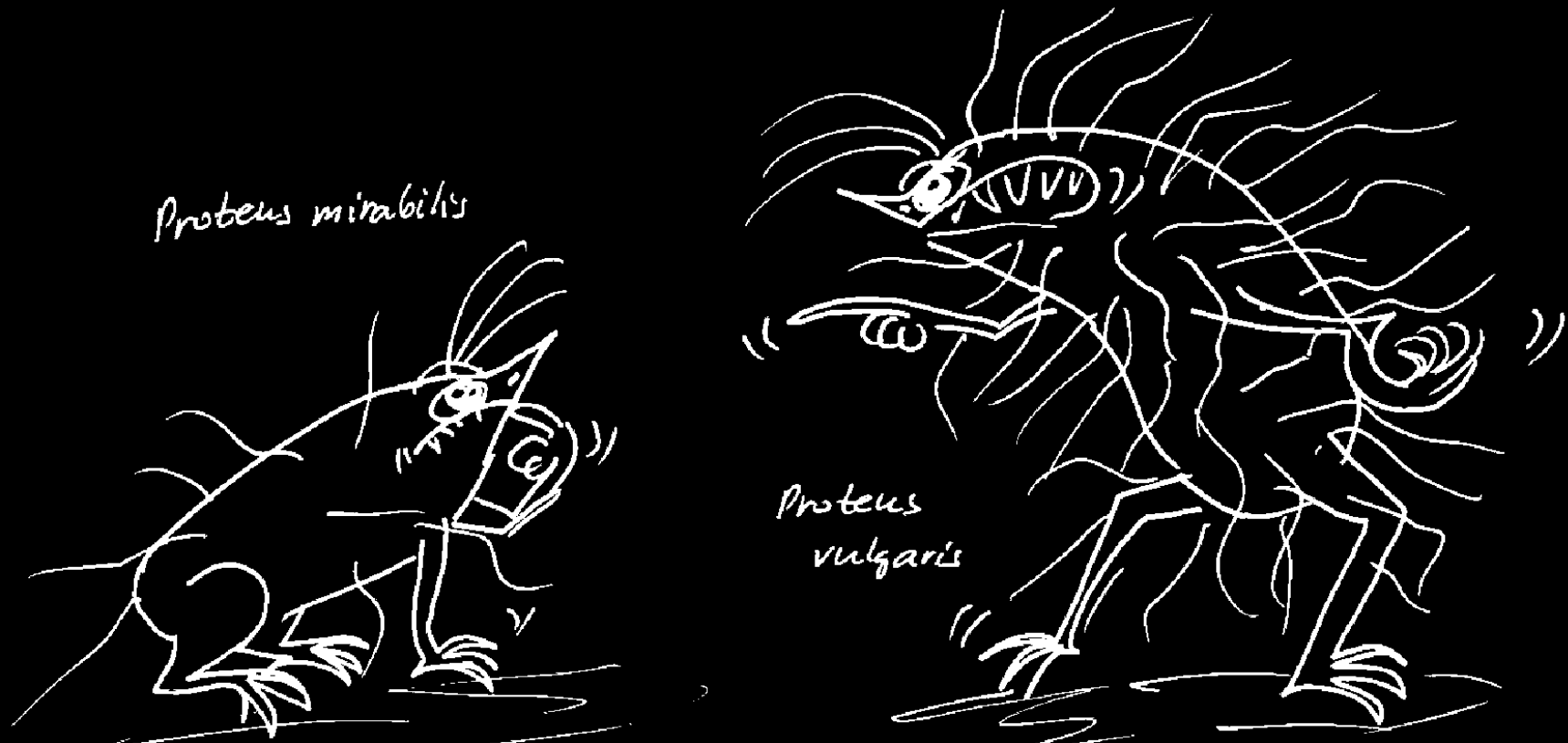


[www.medmicro.info](http://www.medmicro.info)

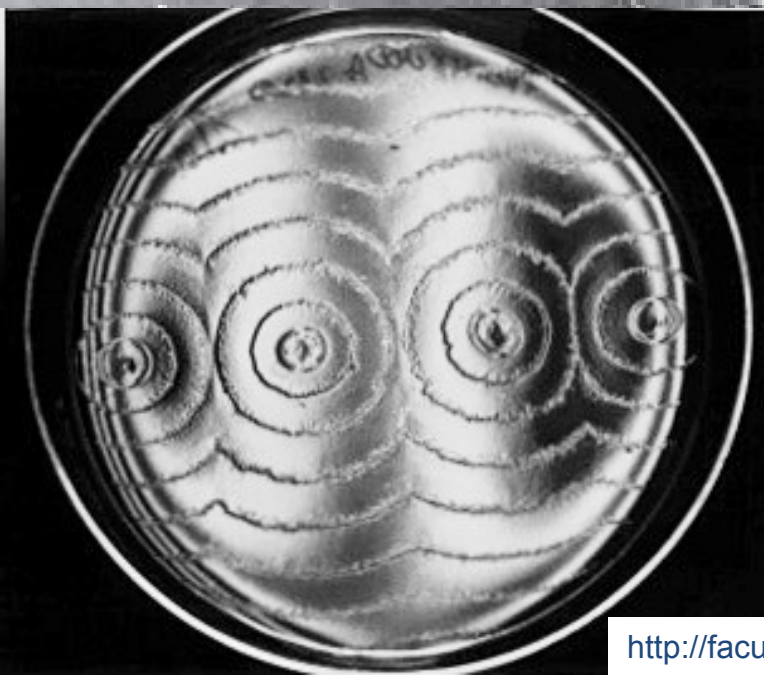
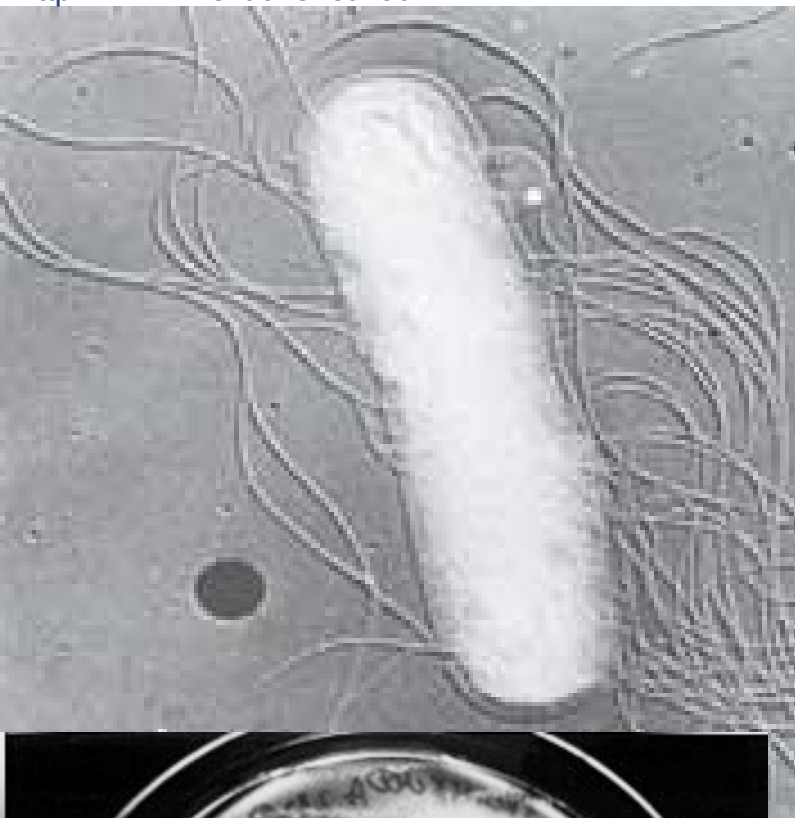
Pro protey je typické, že nerostou jen v místě inokulace, ale šíří se po povrchu agaru do stran (plazivý růst, Raussův fenomén, také fenomén příbojové vlny)



# *Proteus* dle as. Petra Ondrovčíka



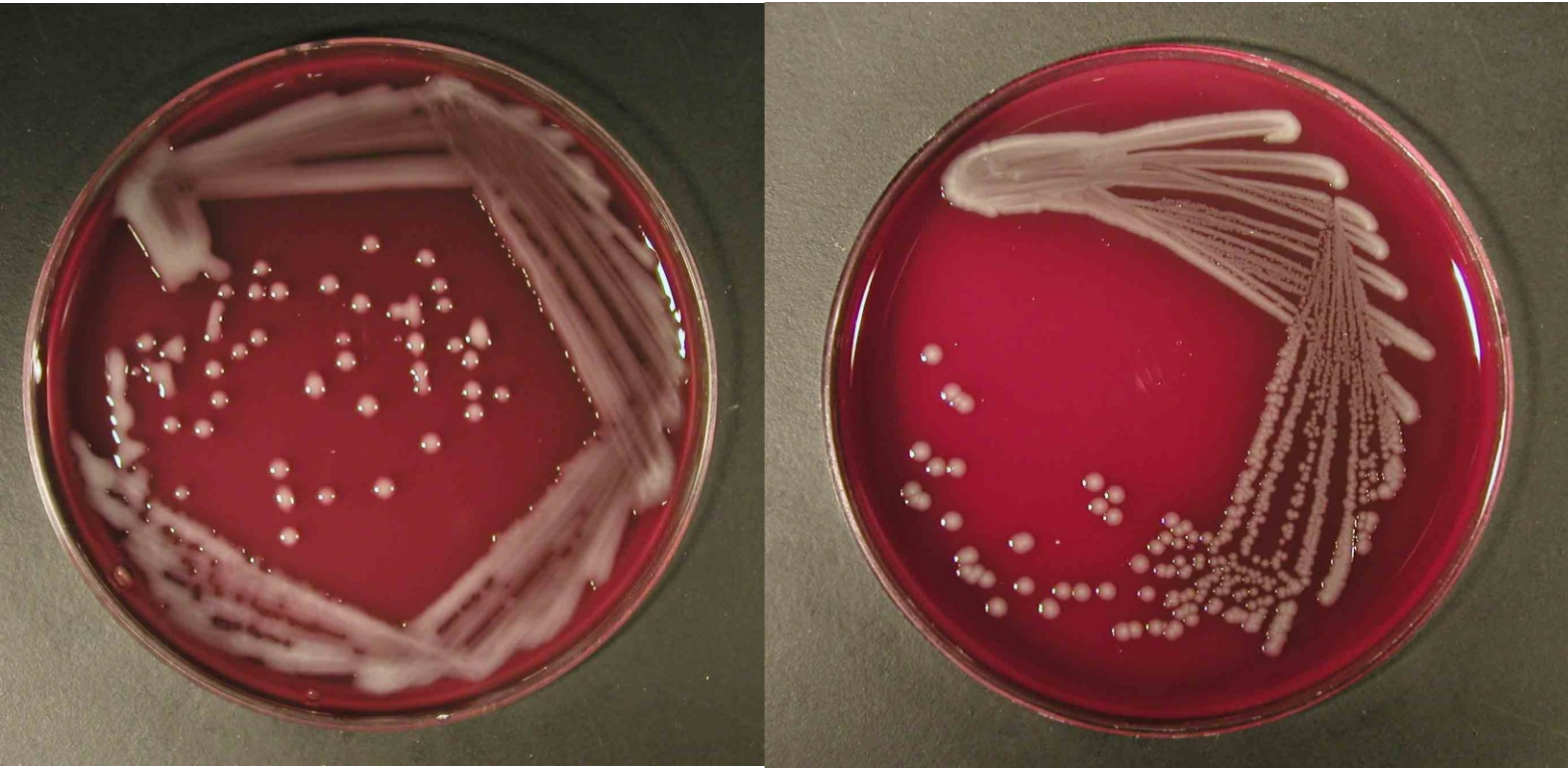
„Je sice pěkné, kolego, že dovedete dekarboxylovat ornitin; mnohem smutnější ovšem je, že se ve většině případů neumíte pořádně plazit!“



*Proteus* – typický  
plazivý růst



# Klebsiely a escherichie



Kolonie klebsiel na KA jsou hlenovitější a bělejší než kolonie *E. coli*...

... i když zrovna tohle *E. coli* je taky poměrně bílé a hlenovité 😊

# Escherichie



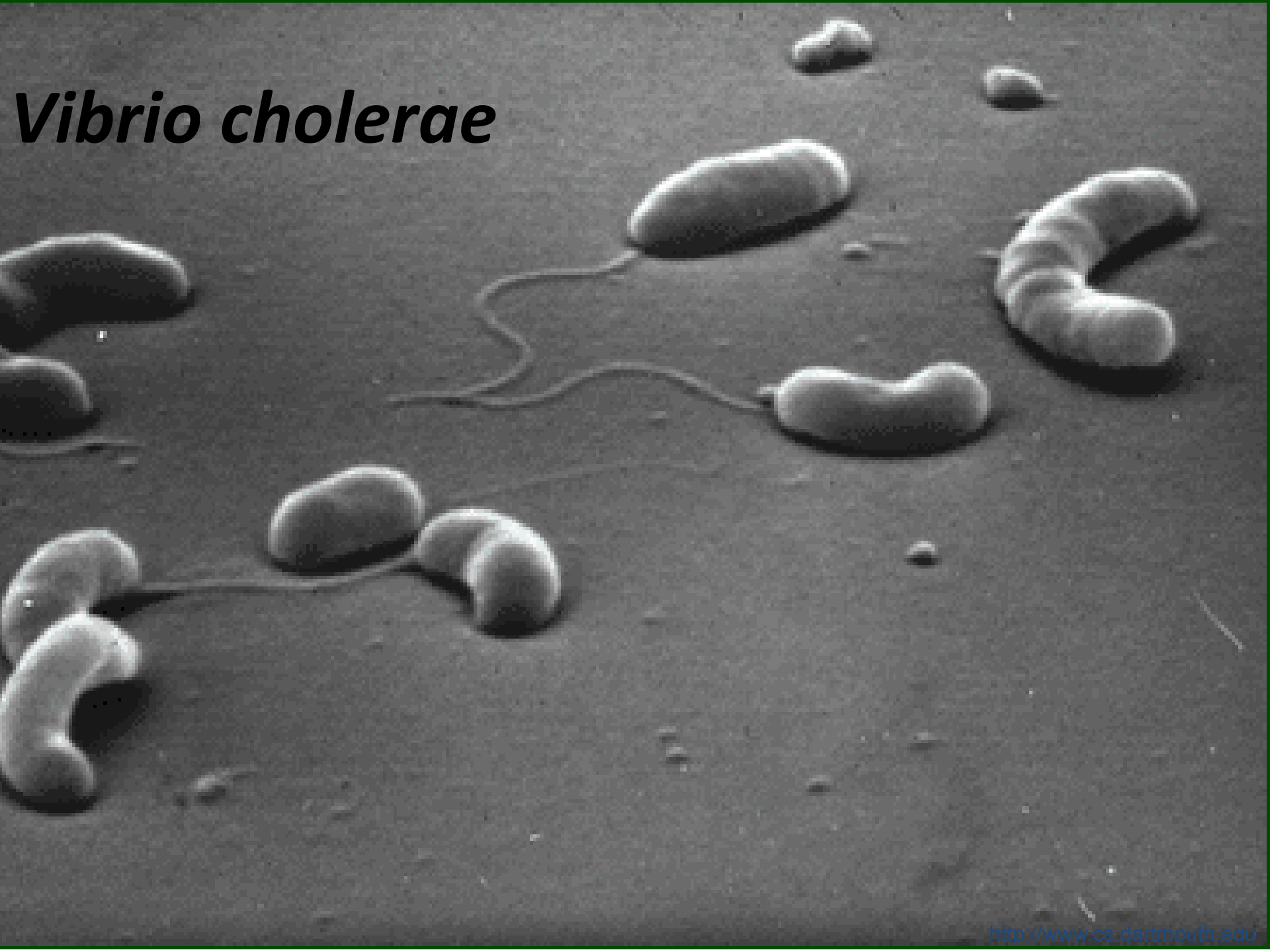
okud escherichie  
na KA hemolyzují  
(a to je dost  
často), uvede se  
to případně do  
výsledku, ale  
nehodnotí se to  
jako zvláštní  
diagnostický znak

# Jeden méně známý helikobakter

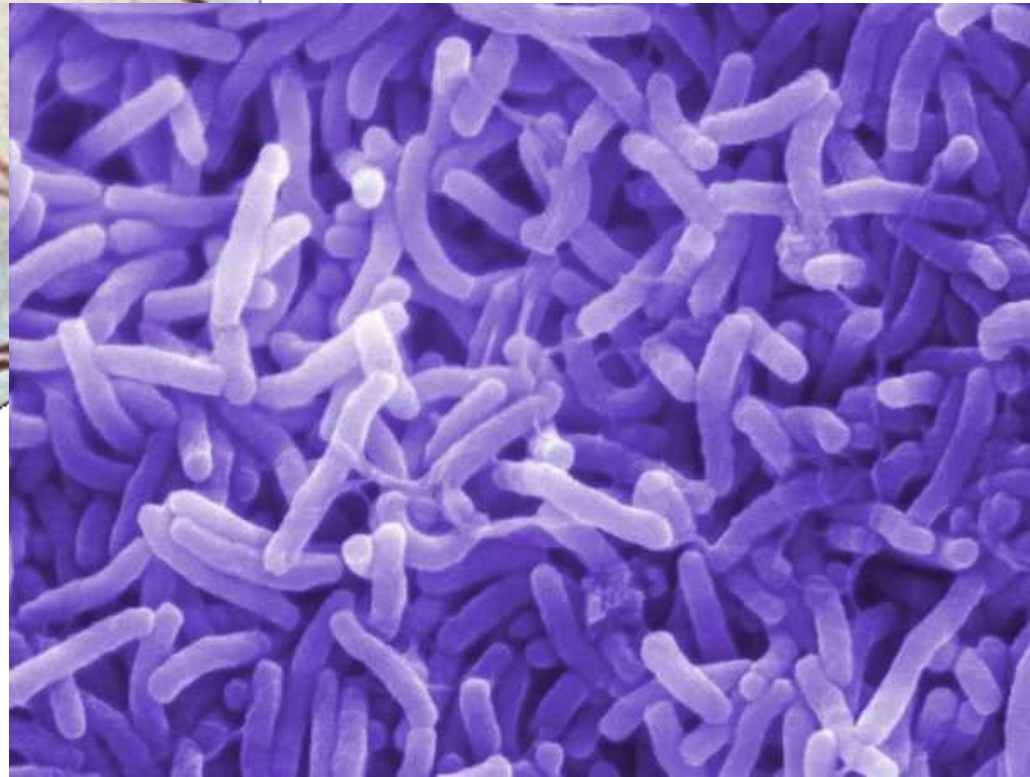
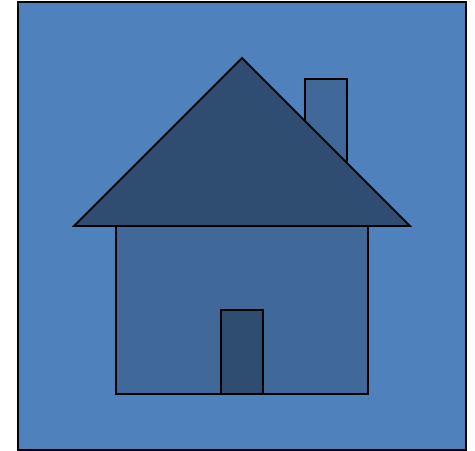
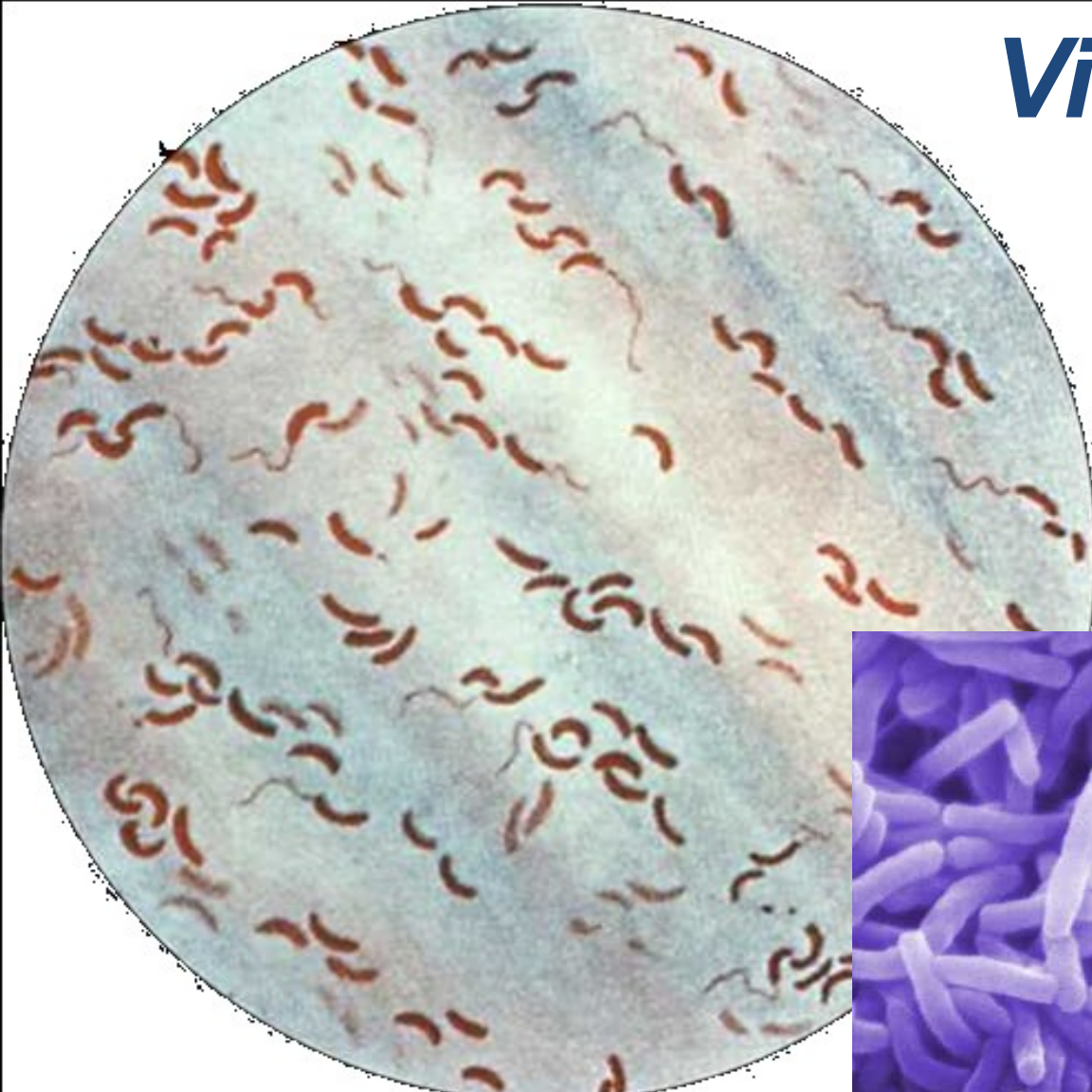
*Helicobacter cinaedi*



# *Vibrio cholerae*



# *Vibrio cholerae*



<http://bepast.org>

# Diagnostika enterobakterií

# Enterobakterie – metody

- Přímé metody
  - **Mikroskopie** – v praxi má malý význam, protože je jich mnoho a v mikroskopu jsou všechny stejné. Nicméně v praxi ji použijeme
  - **Kultivace** – používá se mnoho různých půd
  - **Biochemická identifikace** – velmi důležitá
  - **Antigenní analýza** – salmonely, shigely, EPEC
- Nepřímé metody (protilátky)
  - Widalova reakce u tyfu, protilátky proti yersiniím

# Odlišení od ostatních podezřelých (diferenciální diagnostika)

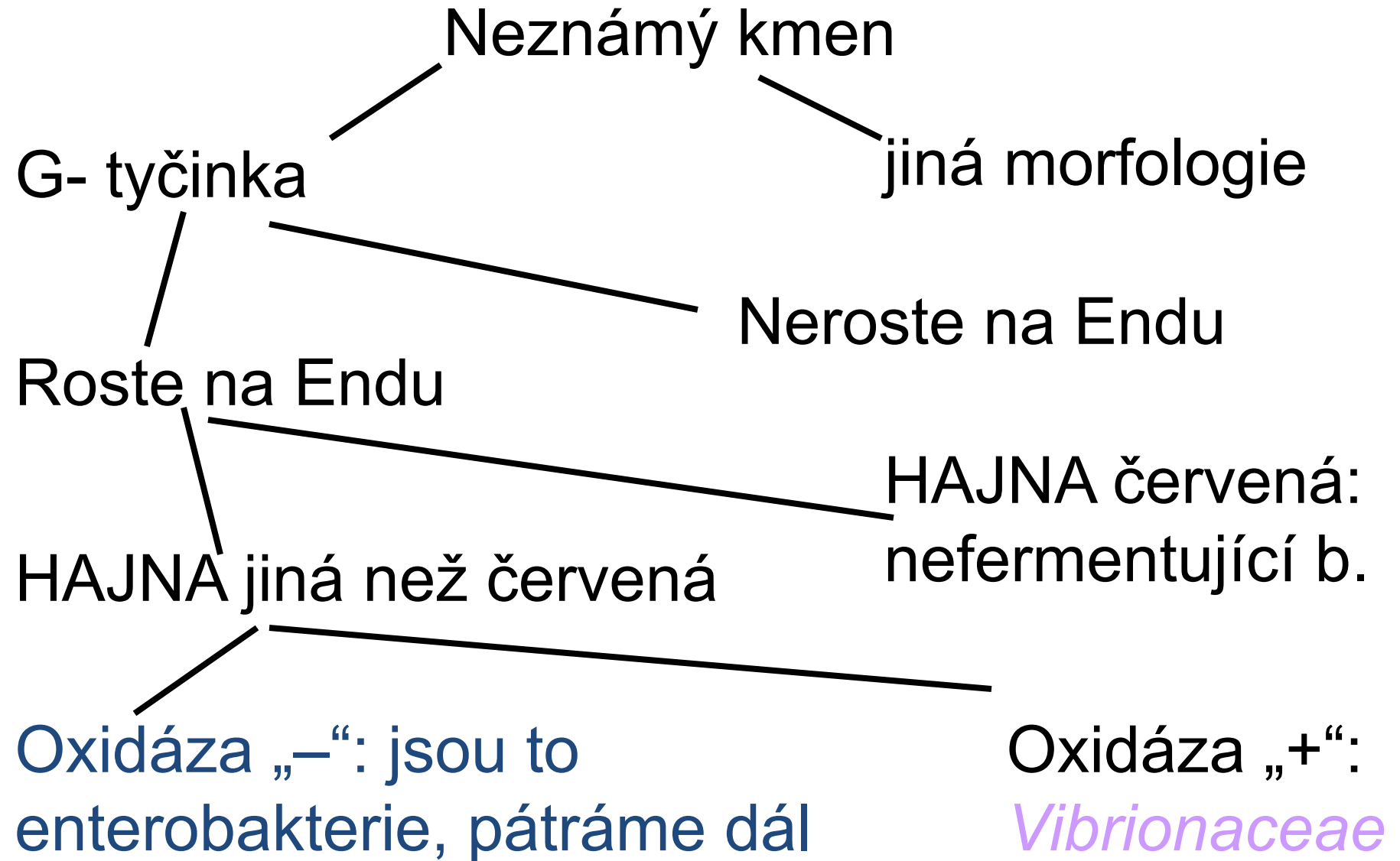
- **Gramovo barvení** odliší gramnegativní tyčinky od ostatních bakterií
- **Endova půda poprvé:** rostou na ní z klinicky významných jen **enterobaktérie**, příslušníci čeledi *Vibrionaceae* a gramnegativní nefermentující tyčinky
- **Nefermentující** odliší to, že nefermentují glukózu (např. Hajnova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



# Gramnegativní tyčinky – vzájemné rozlišení skupin rostoucích na Endově agaru

- **Enterobakterie** jsou oxidáza negativní (s výjimkou rodu *Plesiomonas*, který k nim byl nedávno přiřazen) a vždy štěpí glukózu
- **Vibria a aeromonády** také štěpí glukózu, ale jsou vždy oxidáza pozitivní
- **Gramnegativní nefermentující bakterie** (mohou to být tyčinky, ale i kokotyčinky či koky) nikdy neštěpí glukózu. Oxidázu mohou mít pozitivní i negativní

# Diagnostický algoritmus



# Rozlišení enterobakterií navzájem

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

# Štěpení laktózy

- Laktóza pozitivní bakterie mají na Endově půdě tmavočervené okolí. Laktóza negativní mají okolí bledé.



# Kultivační charakteristika některých enterobakterií

- Na půdě XLD
  - **salmonely** mají bledé kolonie s černým středem (trochu jako malininkaté volské oko s černým žlutkem)
  - jiné bakterie buď nerostou vůbec, nebo rostou málo a v koloniích jiné morfologie
- Na půdě MAL to vypadá podobně, ale některé barvy či velikosti kolonií se mohou lišit od výsledku na XLD
- Na půdě CIN rostou **yersinie** v drobných, tmavě růžových koloniích.



Salmonela na  
MAL agaru

# Biochemické testování enterobakterií

- Pro biochemické testování enterobakterií používáme různé testy. V Česku\* používáme nejčastěji ENTEROtest 16 a ENTEROtest 24. My dnes použijeme první z nich
- 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.

*\*tvar doporučený Ústavem pro jazyk český*

# Antigenní analýza

- Antigenní analýza se v diagnostice 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*

Oba případy jsou demonstrovány příklady



# Aglutinace *E. coli* na průkaz EPEC

- 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.
- **Chápejte: existují stovky serovarů *E. coli*. Zkrátka, výsledek „*E. coli*, EPEC vyloučena“ znamená „je to jeden z těch zbylých asi 200“**

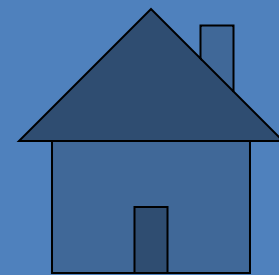
# Aglutinace salmonel

- Při aglutinaci kterékoli pohyblivé enterobakterie hodnotíme dva typy antigenů: tělové, tzv. O antigeny, a bičíkové, tzv. H antigeny (výjimečně i kapsulární K antigeny).
- Tak i každá salmonela má svou specifickou antigenní strukturu. Například salmonela serovaru Enteritidis disponuje tělovými antigeny **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.**

# 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)

# Tabulka zón citlivosti – příklad



Antibiotikum	Zkratka	„C“ je (mm)	„R“ je (mm)
Ampicilin (aminopenicilin)	AMP	$\geq 14$	$< 14$
Cefalotin (CS 1 gener.)	KF	$\geq 18$	$< 14$
Ko-trimoxazol (směs)	SXT	$\geq 16$	$< 13$
Nitrofurantoin (nitrofurán)	F	$\geq 11$	$< 11$
Tetracyklin (tetracyklin)	TE	$\geq 15$	$< 12$
Cefuroxim (CS 2 gener.)	CXM	$\geq 18$	$< 18$
Norfloxacin (chinolon)	NOR	$\geq 22$	$< 19$

*\*platí také pro doxycyklin*

Ani S, ani R → intermediární („I“)

Diagnostika rodů  
*Campylobacter* a  
*Helicobacter* a  
čeledi *Vibrionaceae*

# Diagnostika kamylobaktera

- **Kamylobaktera** si s předchozími bakteriemi nespletete. Neroste na běžných půdách, navíc jde o zahnutou tyčinku
- Jde o stříbřité kolonie s náznakem plazení jako u protea
- Má pozitivní **oxidázový test**

# Několik poznámek k diagnostice kamylobakterů

- Kamylobaktery vyžadují v zásadě čtyři věci:
  - Svoji **černou půdu** – říkáme jí běžně „půda pro kamylobaktery“, název CCDA se příliš nevžil
  - **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

# 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.



AstraZeneca  Hut-Test®

Patient: *EISHANN*

Datum/Date: 2005-09-09

Corpus  Antrum

Befund/Result:

neg:

pos:

⊖

⊕

Ch.-B./Lot:

FJ2809A1

verw. bis/Exp.:

09-2005



Rychlý ureázový test

# Ureázový dechový test (anglicky urea breath test)

- Pacientovi se podá těžkým izotopem uhlíku ( $^{13}\text{C}$ ) nebo radioaktivním izotopem ( $^{14}\text{C}$ ) značená močovina
- U zdravého močovina projde do dolní části trávicího traktu a vyloučí se stolicí
- Je-li přítomen *helikobakter*, rozštěpí se už v žaludku a značený  $\text{CO}_2$  se objeví ve vydechaném vzduchu. Čím více značeného  $\text{CO}_2$ , tím více *helikobaktera*

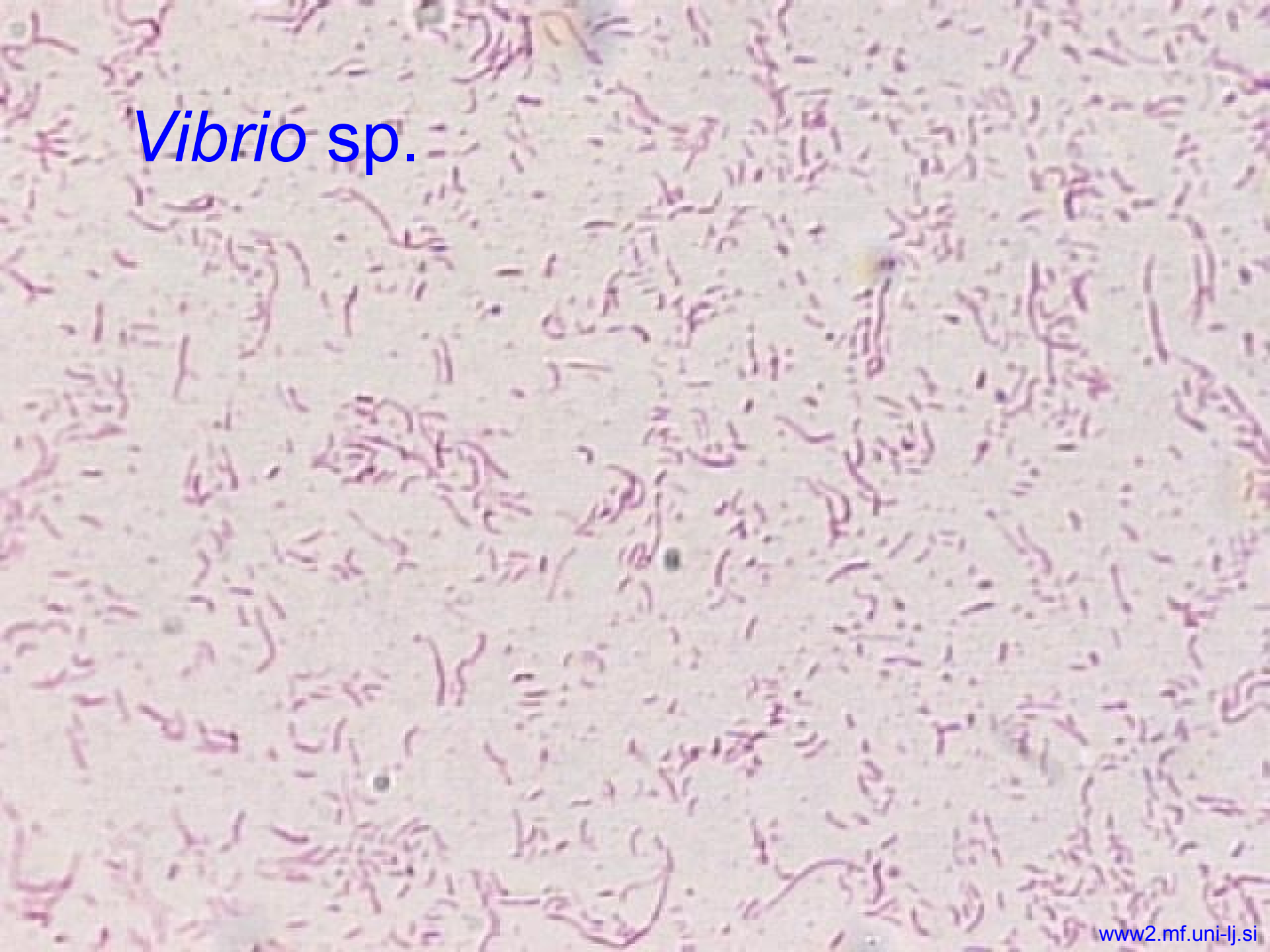
# Diagnostika čeledi *Vibrionaceae*

- Provádí se podobně jako u enterobakterií, ale jsou oxidáza pozitivní.
- **Mikroskopicky** jsou vibria pohyblivé, zahnuté tyčinky
- Používá se také **speciálních půd**, například alkalická peptonová voda a TCŽS (Thioglykolát, cystein, žlučové soli)
- Používá se **obdobných biochemických testů**, jako u enterobaktérií
- Musí se ovšem vybrat **správná matice**

# Diferenciální dg. *Vibrionaceae*

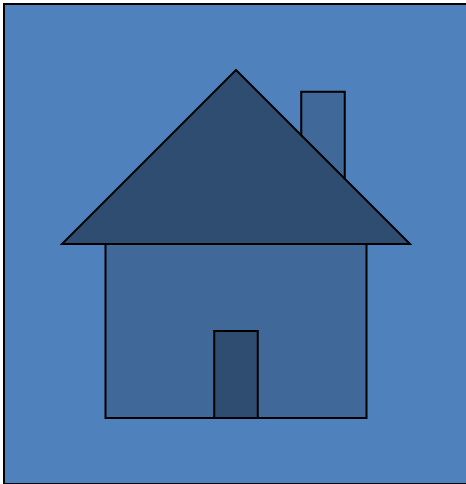
- V **mikroskopii**, *Vibrio* je **zahnutá tyčinka** (podívejte se na obrázek na další obrazovce a zakreslete)
- Pro **kultivaci** používáme **půdu TCŽS** (pevnou půdu) a **alkalickou peptonovou vodu** (tekutá půda)
- Pro **biochemickou identifikaci** používáme týž **Enterotest 16** jako pro enterobakterie, 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.

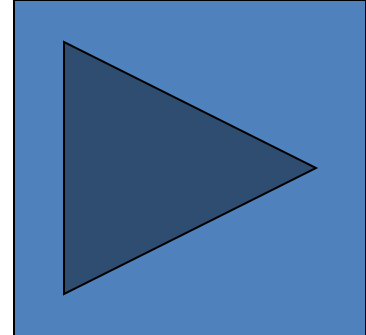


# Konec

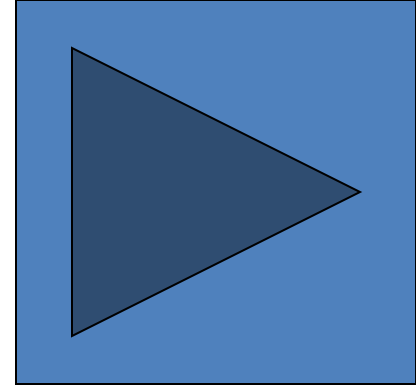
Malováno pomocí protea a  
escherichie



# Bonus: Širokospektré betalaktamázy (ESBL)



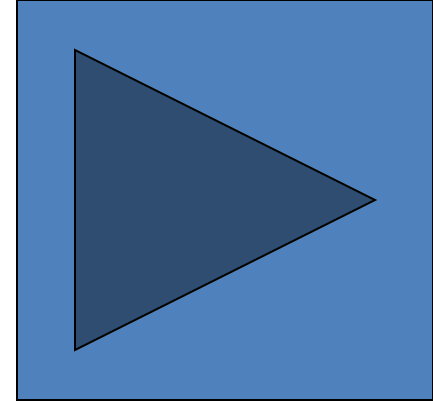
# Betalaktamázy TEM, SHV, CTX apod.



- Vyskytují se především u **enterobakterií**: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, ale mohou být i u nefermentujících tyčinek
- Existuje jich mnoho typů
- Geny pro ně jsou uloženy v plasmidech, mutace jsou časté, vznikají stále nové varianty
- Z betalaktamů zůstávají citlivé karbapenemy

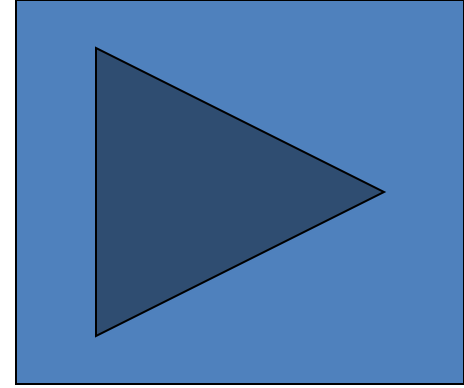


# Metalobetalaktamázy



- Vyskytují se u **G- nefermentujících bakterií**, zejména pseudomonád
- Štěpí i karbapenemy
- Zbývají citlivé monobaktamy (aztreonam)
- U enterobakterií se v poslední době vyskytují podobné **karbapenamázy**. V Brně se aktuálně objevily první takové kmeny – jde o kmeny citlivé většinou pouze na kolistin, případně ani na ten (jde-li o serratie, protey či morganely)

# Induktory a selektory betalaktamáz

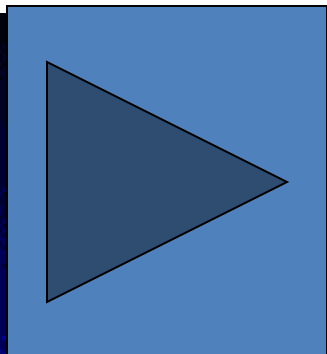
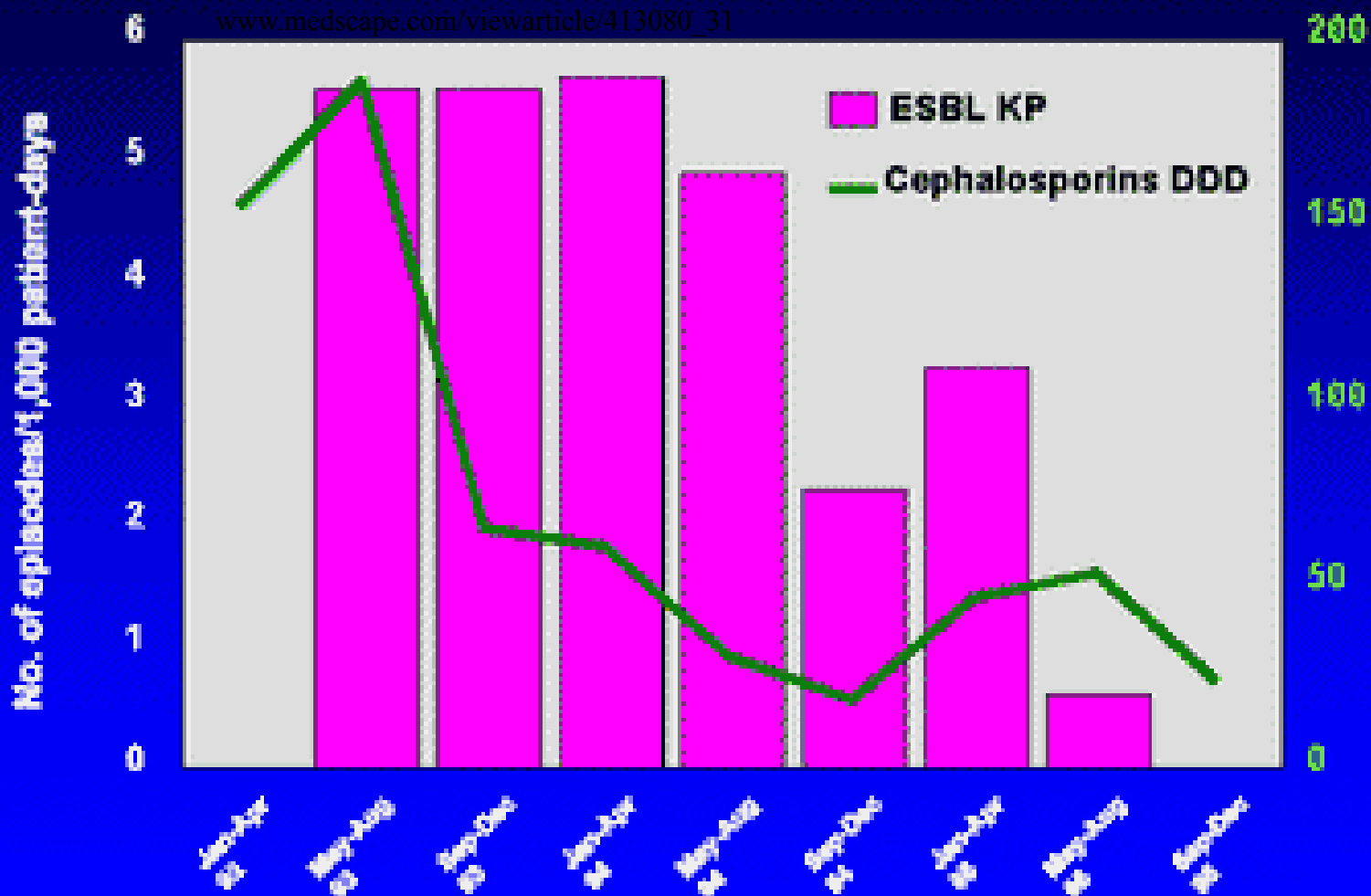


- Tvorba některých betalaktamáz může být **indukována** používáním určitého antibiotika (induktoru). Příkladem induktoru je **ko-amoxicilin**
- Nebezpečnější než induktory jsou však **selektory**: poměrně účinná antibiotika, která vyhubí citlivou část populace, a zůstanou pouze odolné, polyrezistentní kmeny. Příkladem jsou **cefalosporiny třetí generace**. Pokles jejich používání vedl ve všech nemocnicích k poklesu výskytu ESBL pozitivních kmenů.

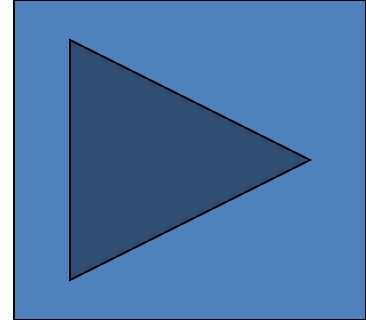
# Spotřeba cefalosporinů a ESBL

## ESBL-KP Incidence Rate and Cephalosporin Use in ICUs

[www.medscape.com/viewarticle/413080\\_31](http://www.medscape.com/viewarticle/413080_31)



# Aktuální situace



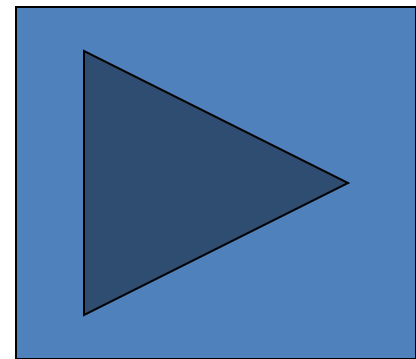
- V nemocnici u sv. Anny jsou bohužel **velmi běžné**. Lokálně se jejich **výskyt na určitých klinikách či odděleních daří omezit**, obecně se však stále vyskytují velmi často
- Časté na **urologii, interně, ARK** – často nozokomiální a chronické (lze se pokusit o přípravu autovakcíny)
- Před několika lety byly vzácné, poté nástup ESBL-producentních klebsiel. Nyní již i *E. coli* a řada dalších enterobakterií

# Laboratorní průkaz ESBL

- **Pomocí čtyř disků:** cefotaximu (1) a ceftazidimu (2), cefotaximu s klavulanátem (3) a ceftazidimu s klavulanátem (4)
- Rozdíl mezi velikostí zóny „nekrytých“ cefalosporinů (1, 2) a „krytých“ (3, 4) musí být **více než 5 mm**

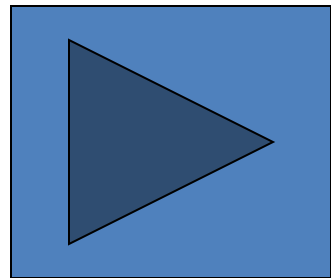


Porovnáváme  
1 s 3 a 2 s 4

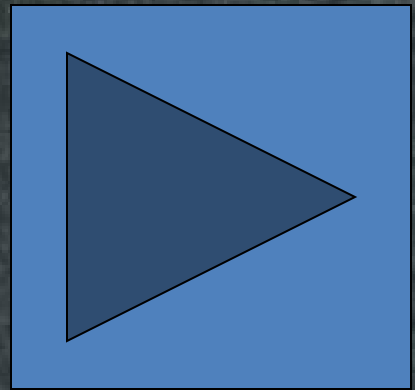
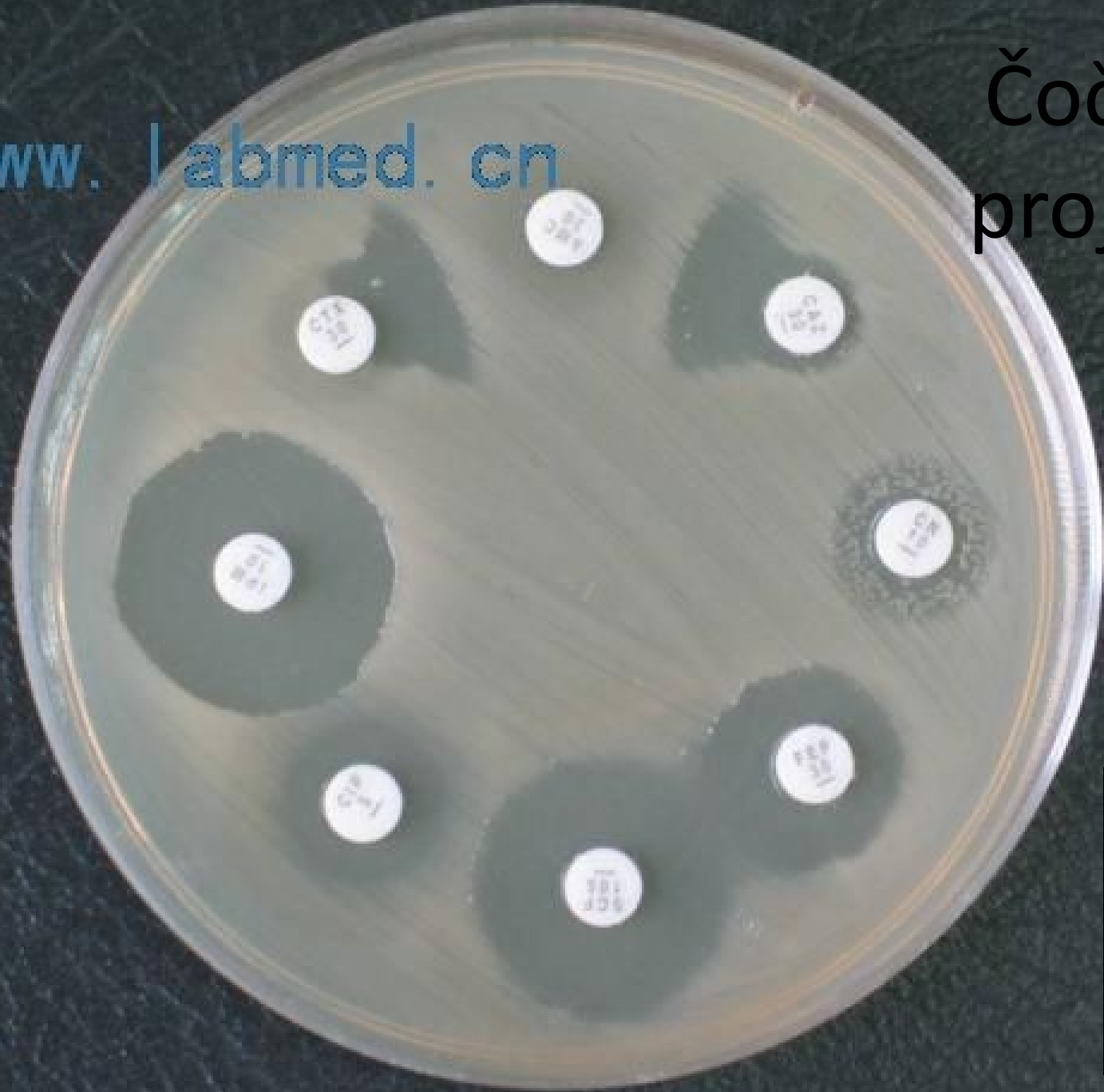


# Zjištění produkce ESBL při běžném testování citlivosti mikrodilučním testem

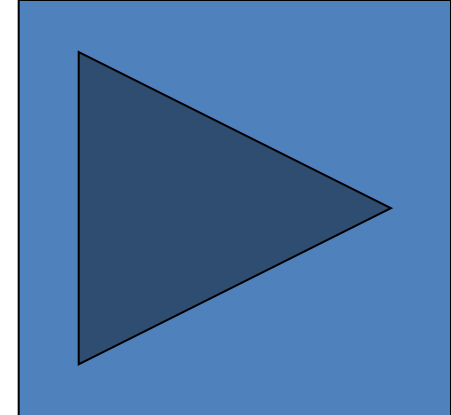
- Testy jsou záměrně uspořádány tak, aby **ko-amoxicilin byl obklopen mohutnými betalaktamovými antibiotiky** (aztreonam, cefotaxim).
- V místě, kam difundoval jak např. aztreonam, tak i kyselina klavulanová z ko-amoxicilinu, vzniká charakteristické **čočkovité projasnění růstu mikroba**.



# Čočkovité projasnění



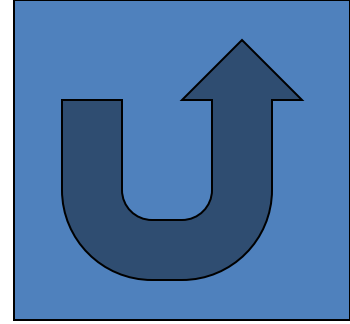
# Terapie



- Meropenem, imipenem, ertapenem
- Aminoglykosidy – jsou-li citlivé
- Případně další (chinolony, colistin)
- Cefalosporiny 4. generace či laktamáz se nedoporučují, i když jsou in vitro účinné
- Nedoporučují se ani kombinace s inhibitory betalaktamáz, i když i ty se jeví jako účinné
- Náklady na tuto léčbu jdou do desítek tisíců/den



# Prevence



- Obdobná jako v případě MRSA – obecná opatření, vedoucí ke snížení rizika nozokomiálních nákaz
- Cílená léčba neširokospektrými antibiotiky
- Výrazná restrikce používání zejména cefalosporinů III. generace, ale i uvážlivější podávání cefalosporinů II. a I. generace, aminopenicilinů aj.
- Případně screening střevního nosičství (není běžné)