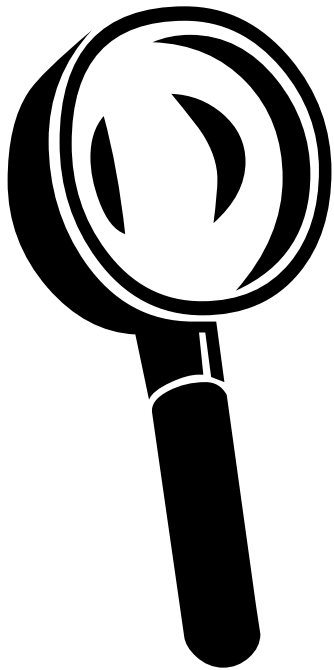


Mikrobiologický ústav uvádí



NA STOPĚ PACHATELE

Díl šestý:

Další gramnegativní koky a tyčinky

Přehled témat

Klinická charakteristika – G– koky

Klinická charakteristika – „jiné G– tyčinky“

Diagnostika G– koků

Diagnostika „jiných G– tyčinek“

Klinická
charakteristika –
G– koky

Příběh první

- Honza byl maminčin 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 druhý

- 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

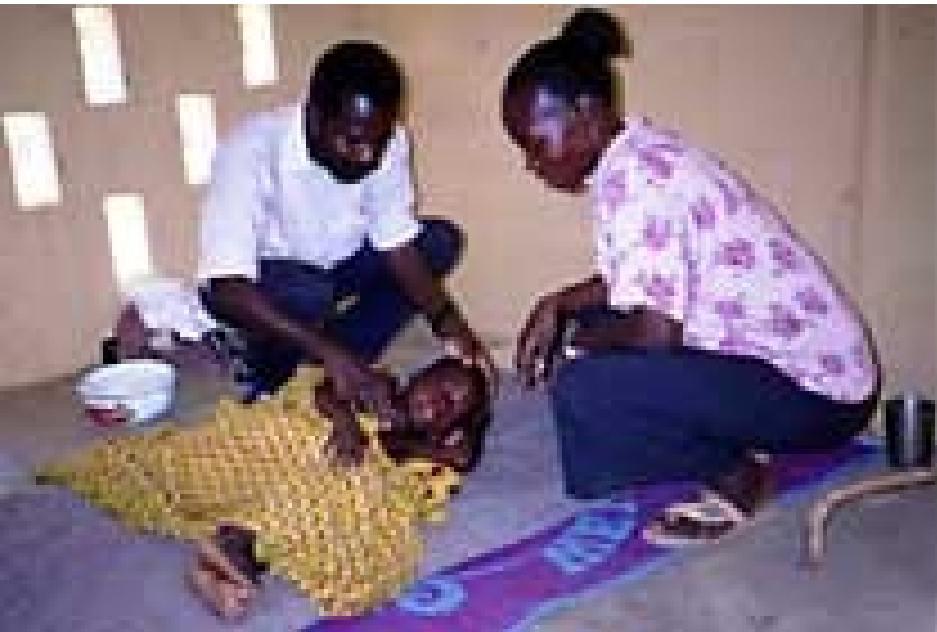
Proč někdy infekce nastane a jindy se nic nestane

- 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 je i dnes **klasický penicilin**. Z dalších léků se použijí cefalosporiny třetí generace (**ceftriaxon** – dobrý průnik do likvoru) nebo další antibiotika

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 třetí

- 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*

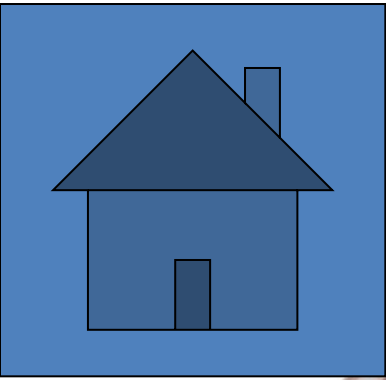


Photo Inst. for Microbiology



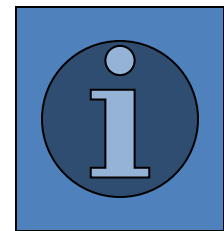
Klinická
charakteristika –
„jiné G- tyčinky“

Příběh čtvrtý

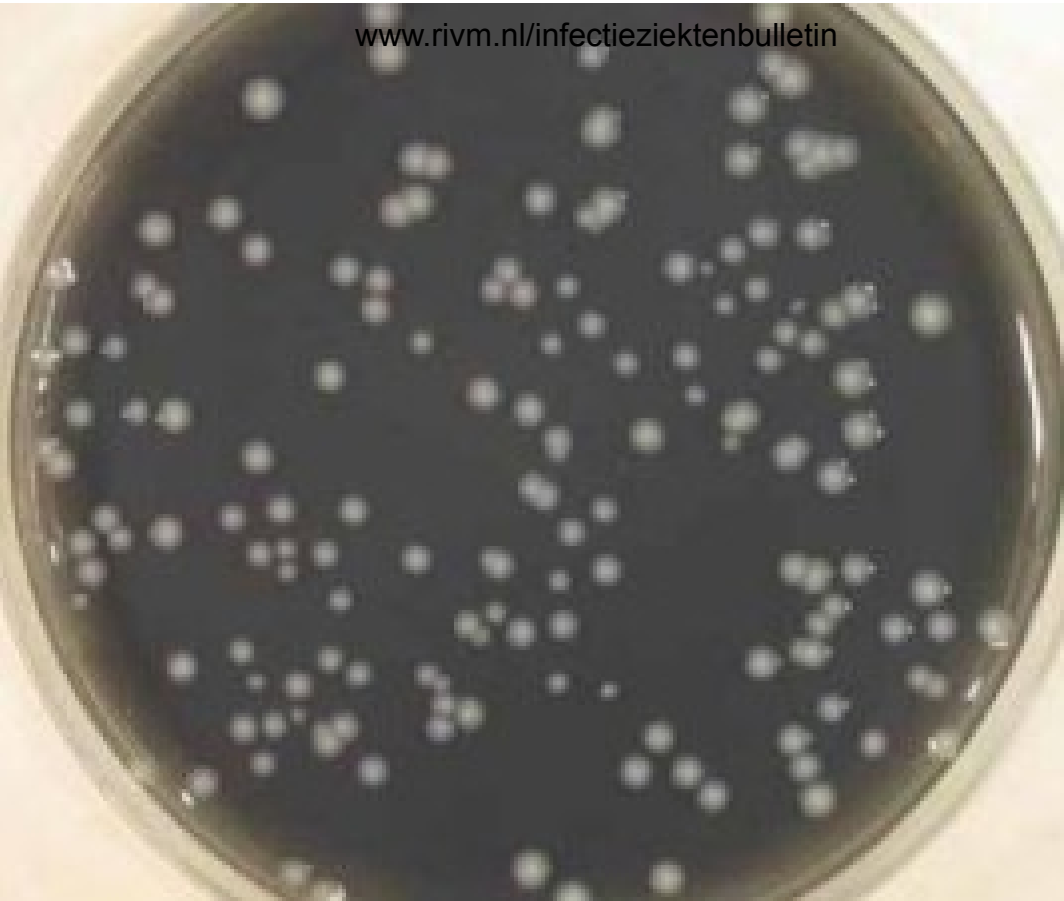
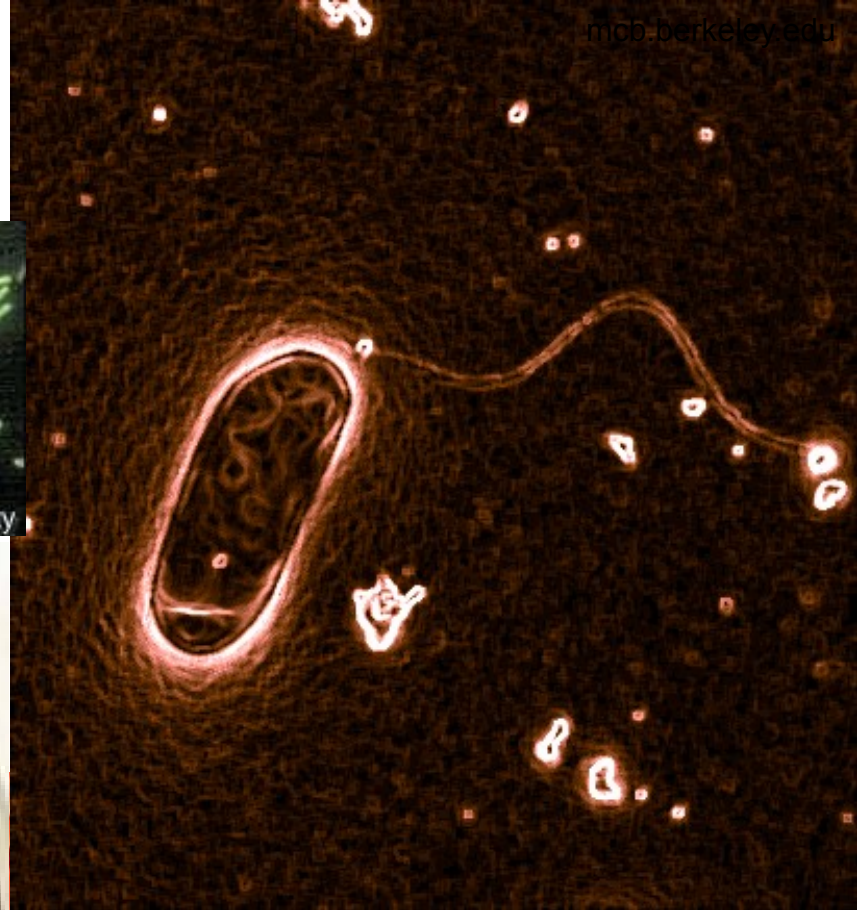
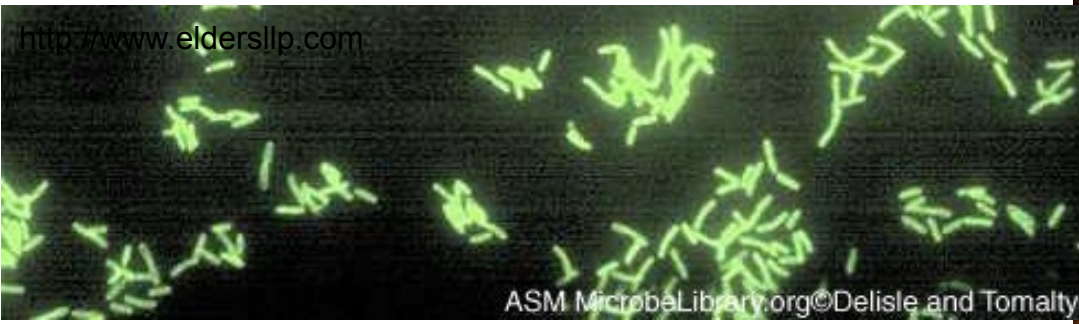
- Toho dne bylo v nemocnici velké hemžení: další tři pacienti, všichni **senioři**, onemocněli, a u všech to bylo totéž – **problémy s dechem a horečka**
- Po důkladném vyšetření laboratoř našla patogena nejen ve vzorcích od pacientů, ale i ve **vodovodním vedení** nemocnice. Vodovod musel být předělán,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

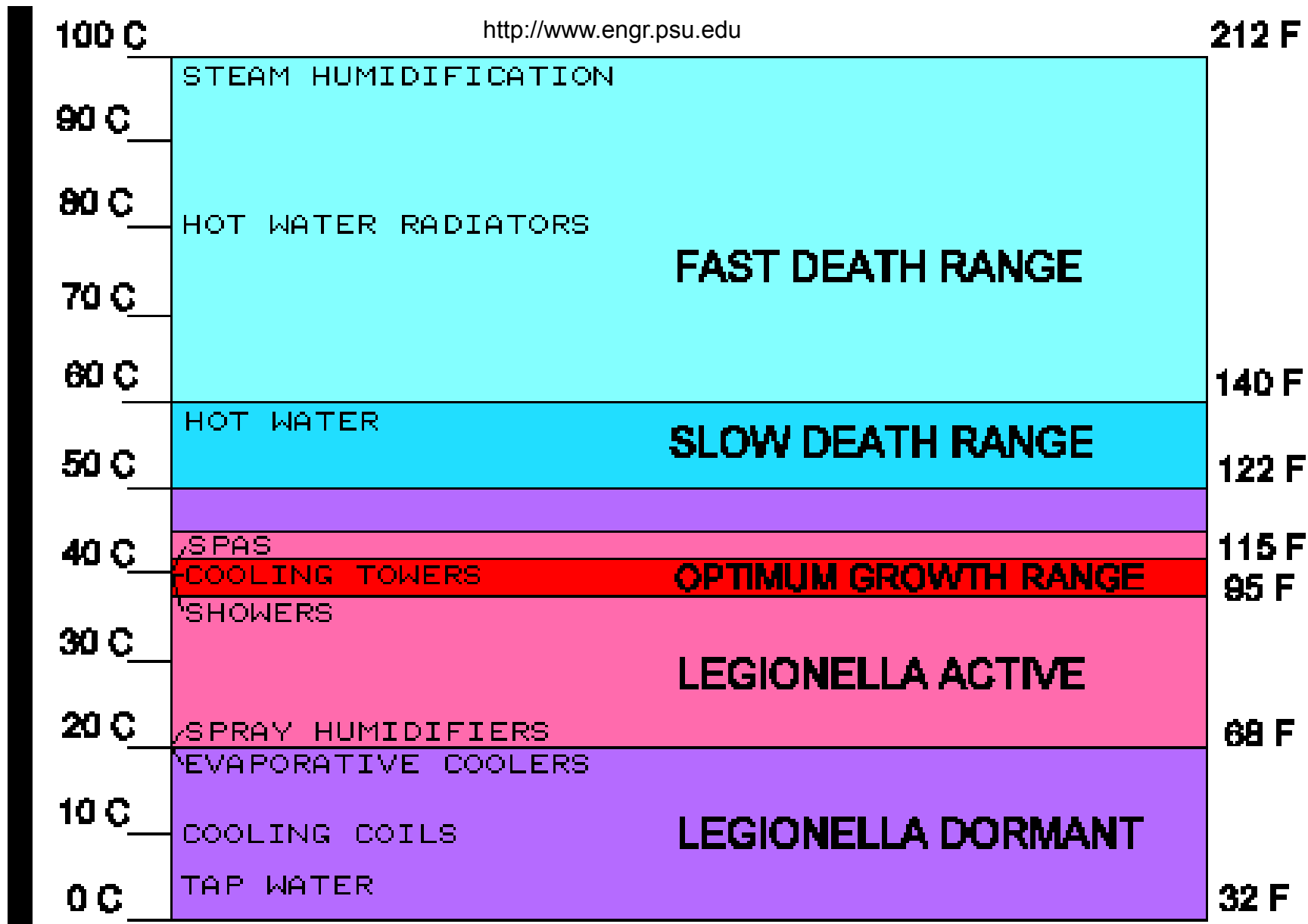


Legionářská
nemoc
(anglicky:
Legionaire's
disease)



Legionella a teplota

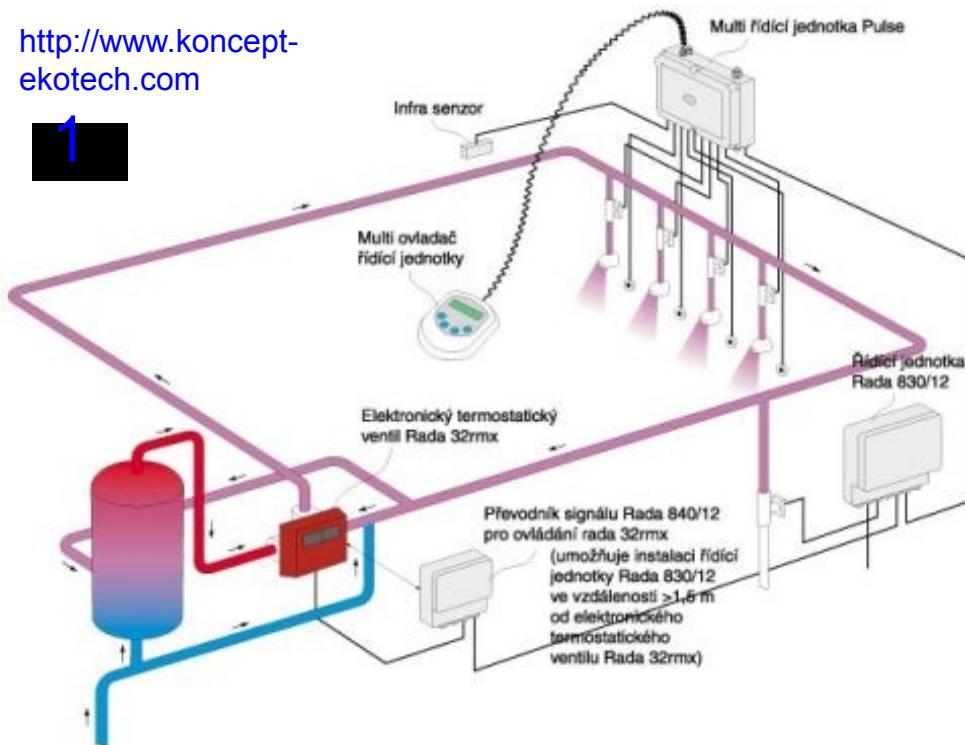
<http://www.engr.psu.edu>



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

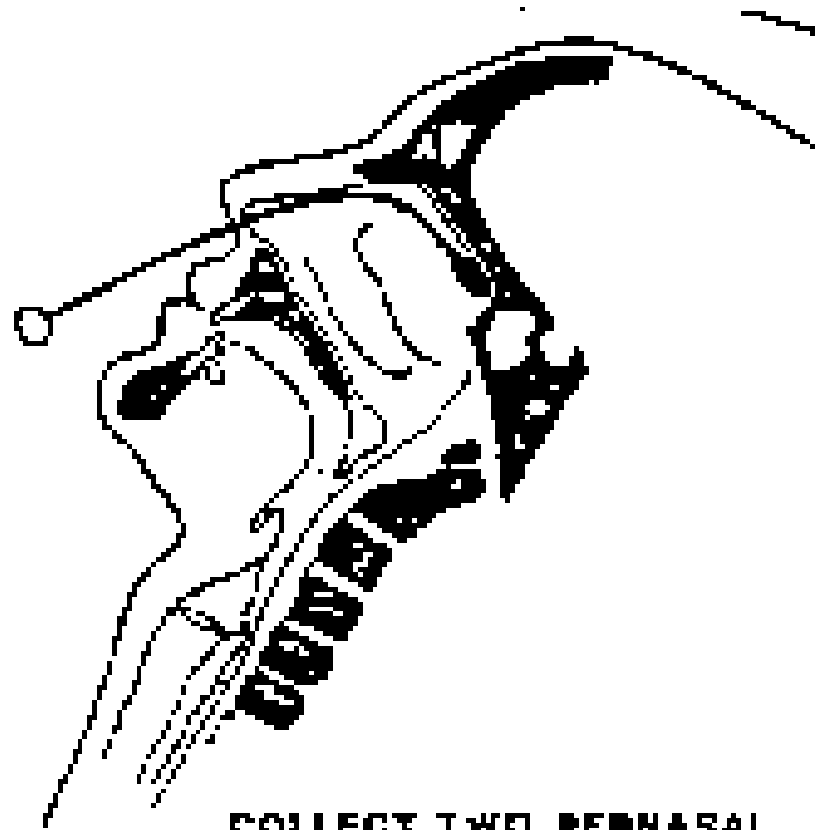


„Další gramnegativní bakterie“

- 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*

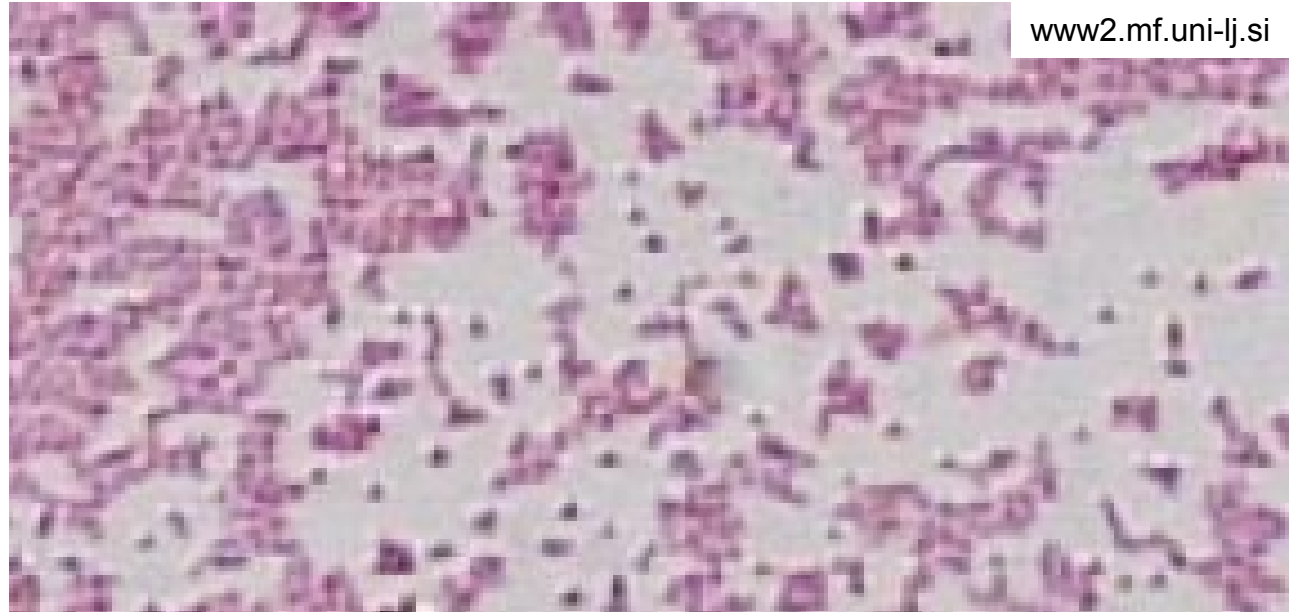
Rod *Bordetella*

- *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

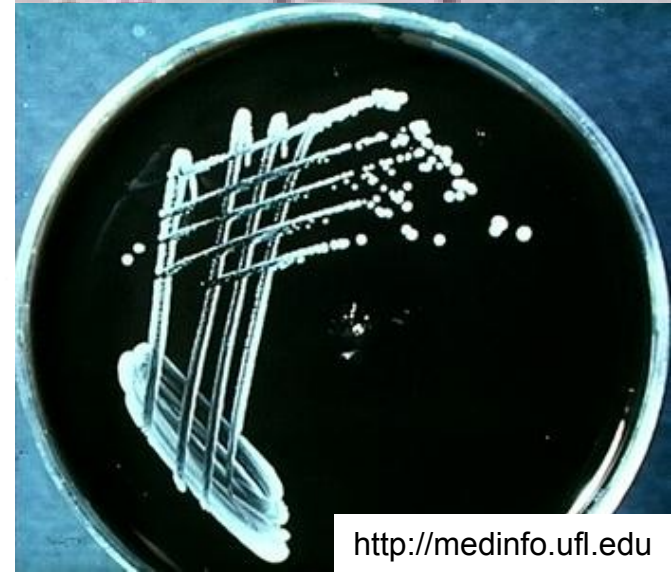
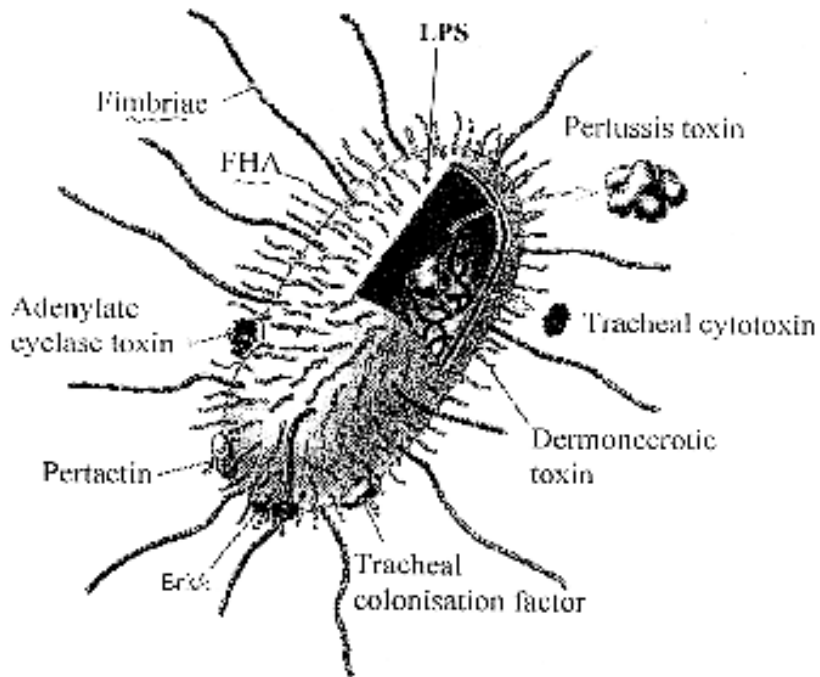
- Small gram negative bacterium
- Many virulence factors

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

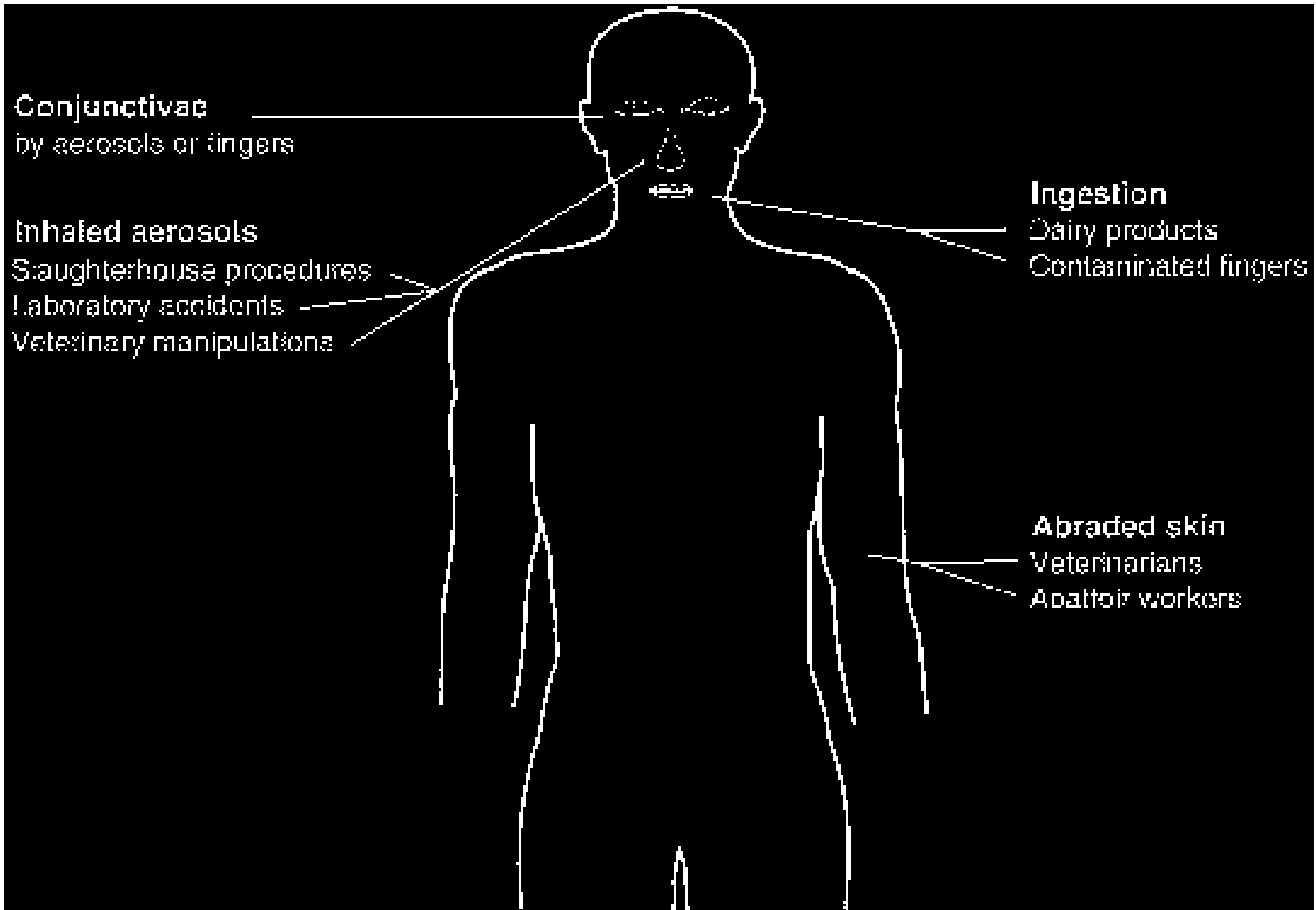
Brucella

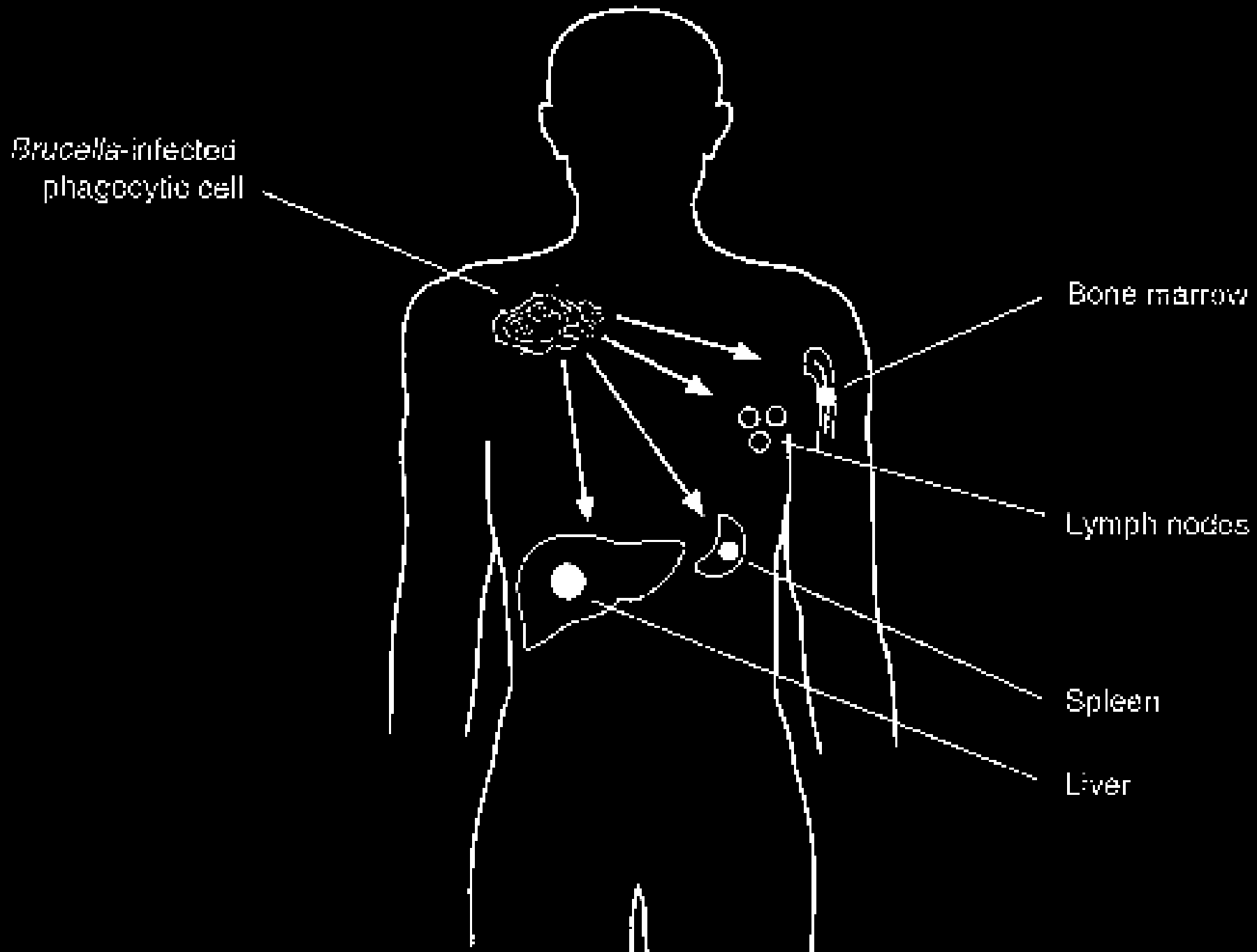


<http://pathport.vbi.vt.edu>

Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

<http://upload.wikimedia.org>



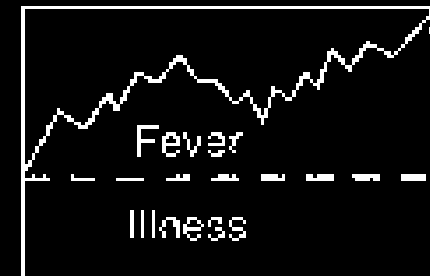


History and Physical Exam

Clinical

Occupation
Raw milk
Fresh cheese
Travel
Symptoms
Signs

Course of disease

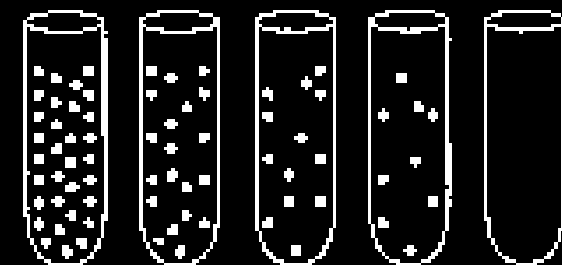


Laboratory

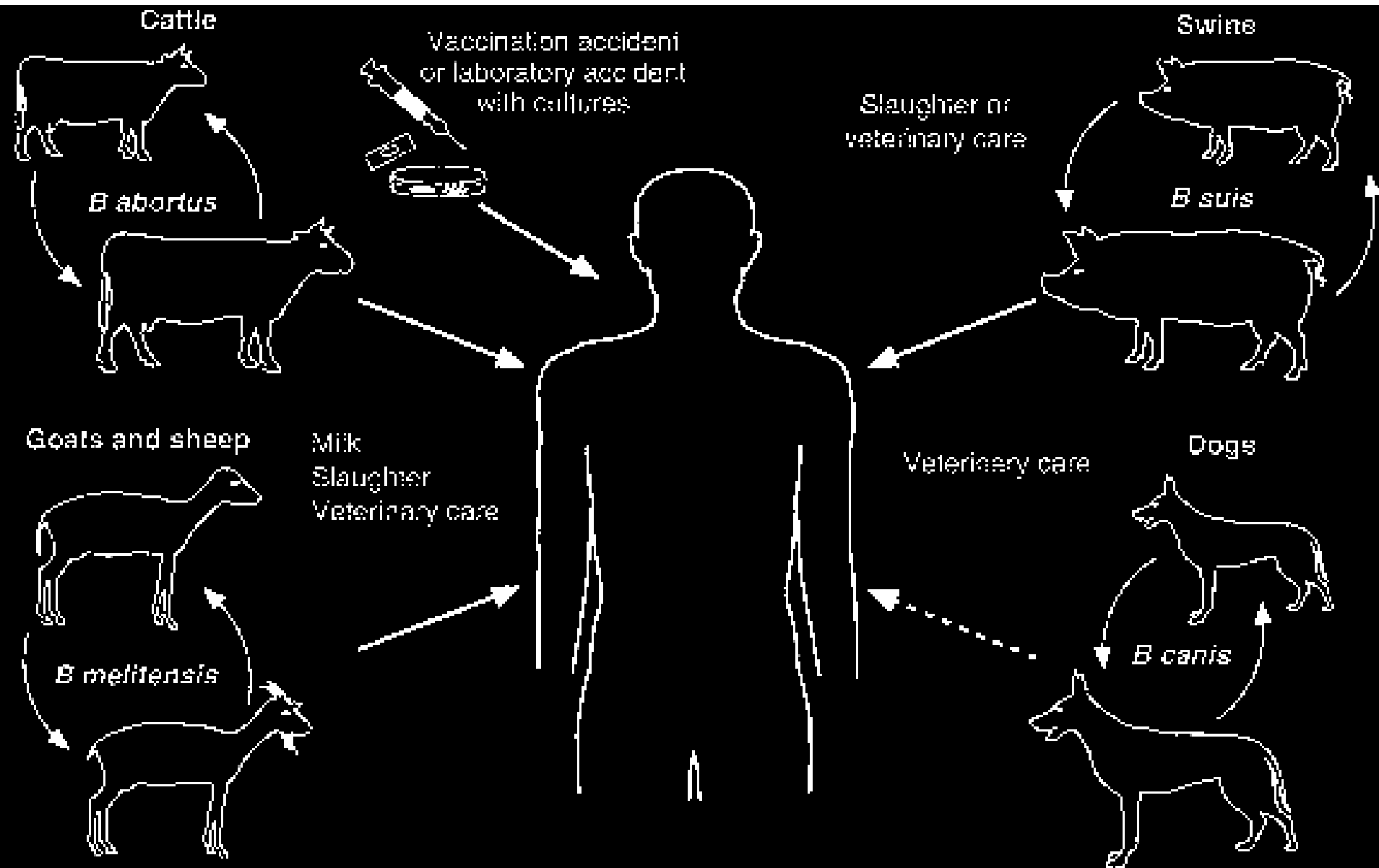
Blood cultures



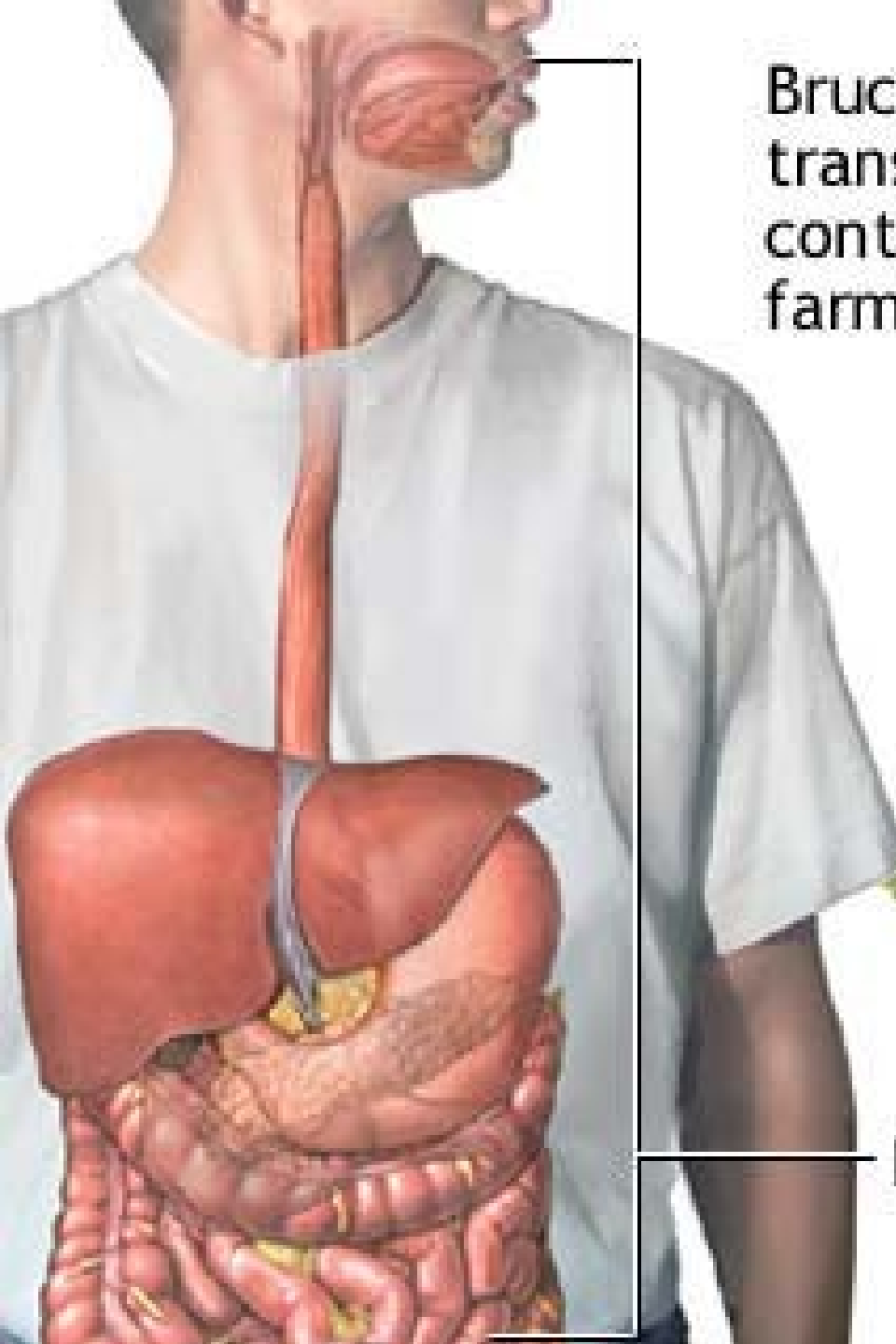
Quantitative serology



Vzpomínka na Brucelly



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



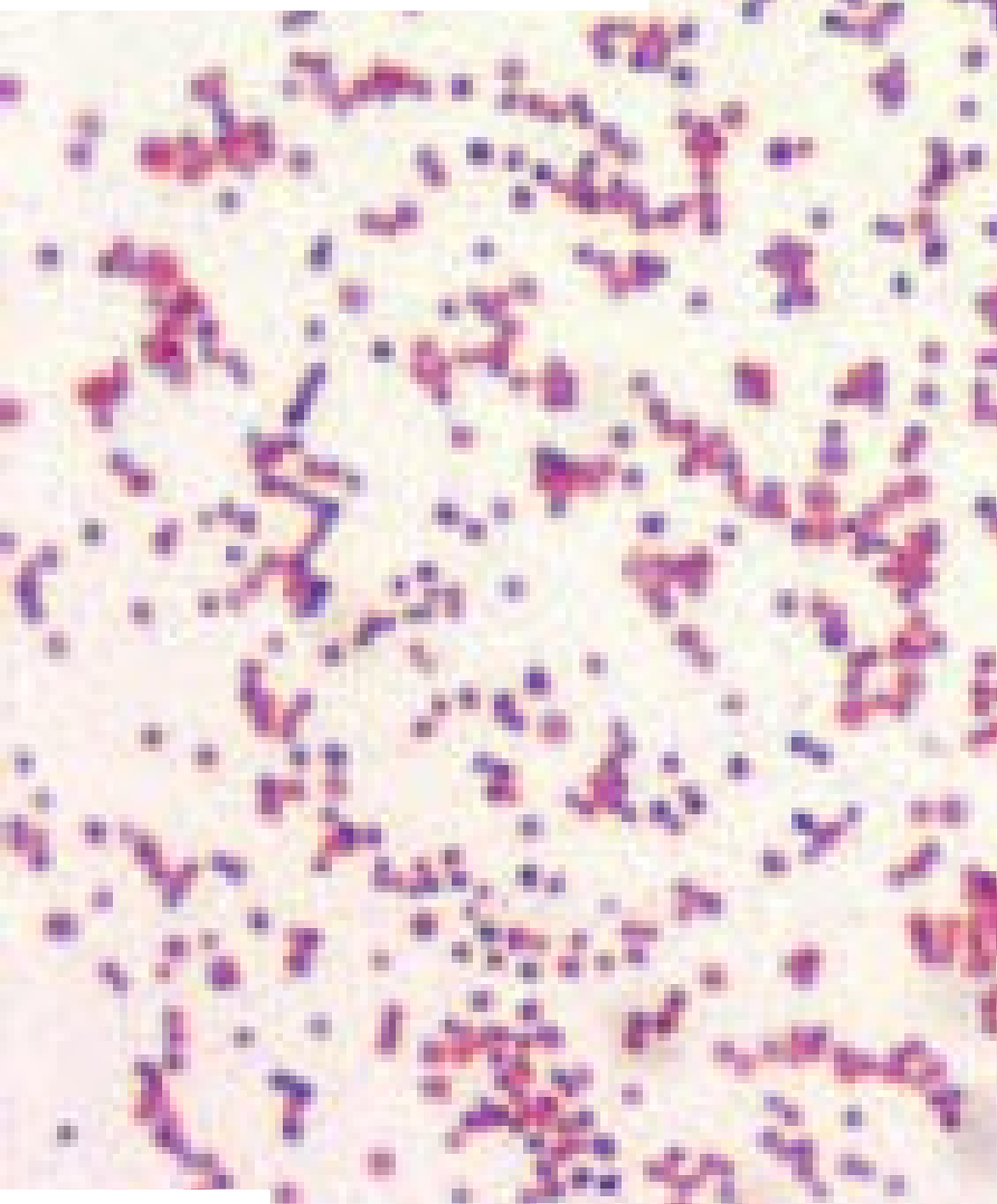
Digestive system

Rod *Francisella*

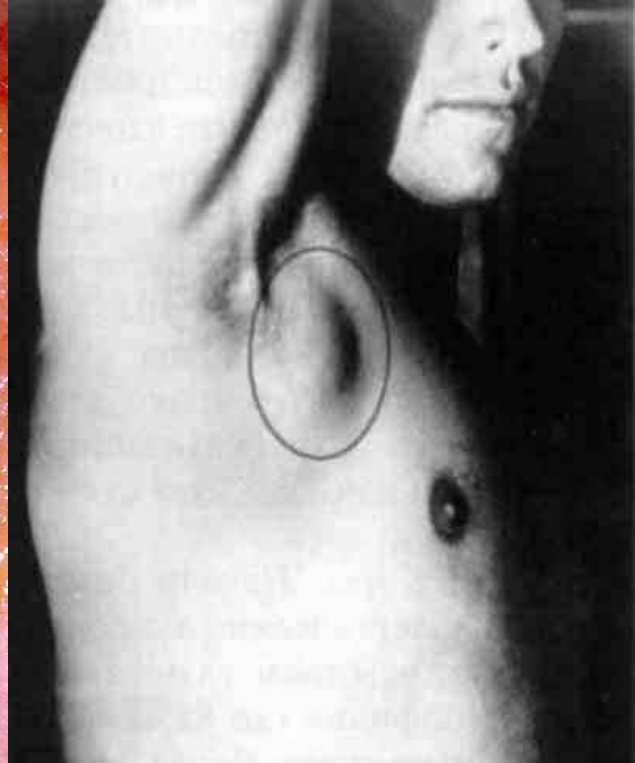
- Nejdůležitějším druhem je *F. tularensis*
- Způsobuje **tularémii** – „zaječí mor“
- **Myslivci**, ale ještě více **kuchaři připravující zvěřinu** jsou v riziku infekce
- Tento organismus může napadat **rány**, ale také je možné jej vdechnout, což vede k **zápalům plic**

Francisella

www.infektionsnetz.at



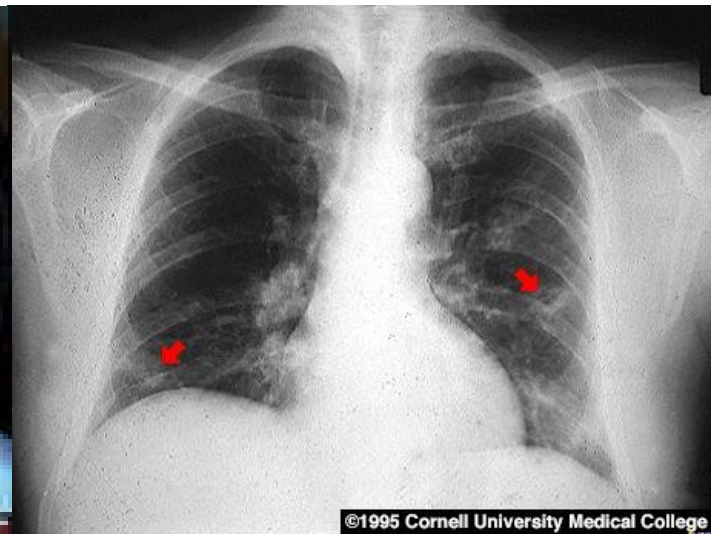
www.wnysmart.org/tularemia



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



www.infektionsnetz.at

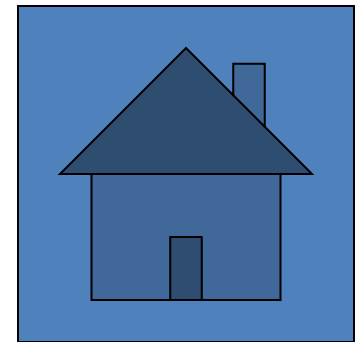


Z hlášení KHS o epidemiologické situaci (září 2008) – I (zkráceno)

- **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 Indonézie – 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

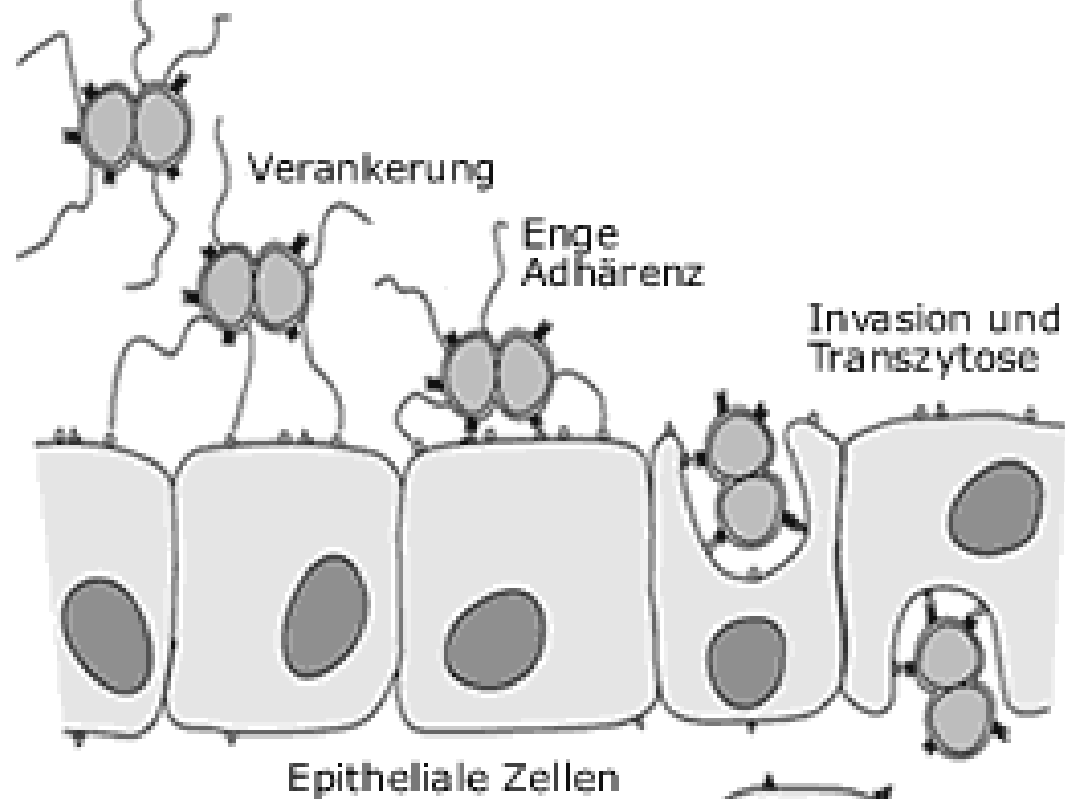
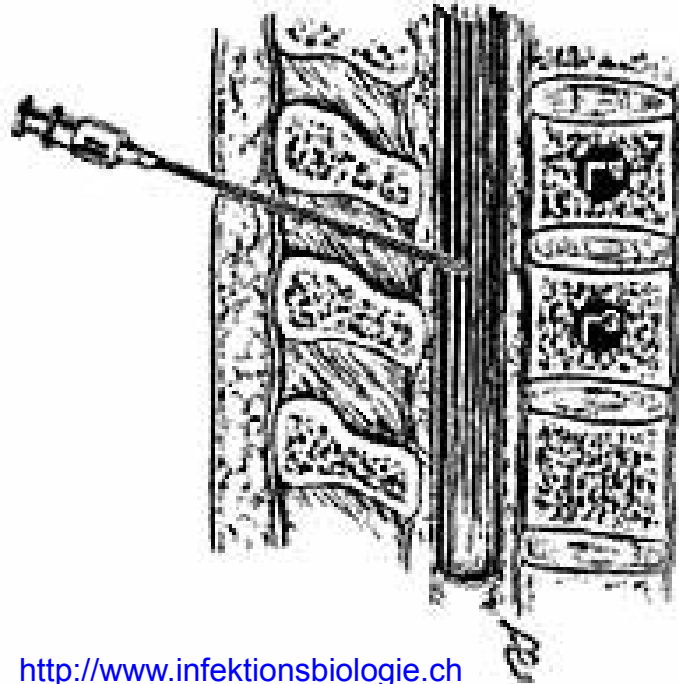
U podezření na purulentní meningitidu se zpravidla odebírá **mozkomíšní mok**, případně také krev na hemokultivaci. Mozkomíšní mok lze vyšetřit biochemicky, cytologicky a mikrobiologicky.

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

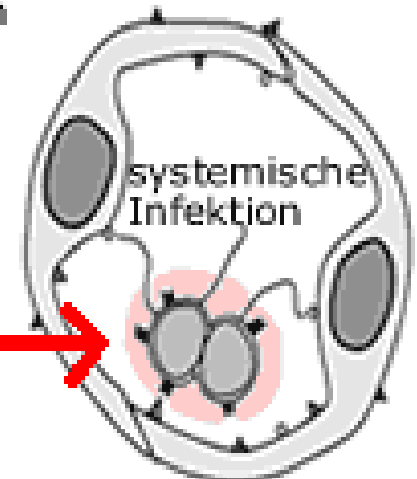
V laboratoři připadají v úvahu dvě **rychlé metody**:

- 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

<http://www.infektionsbiologie.ch>

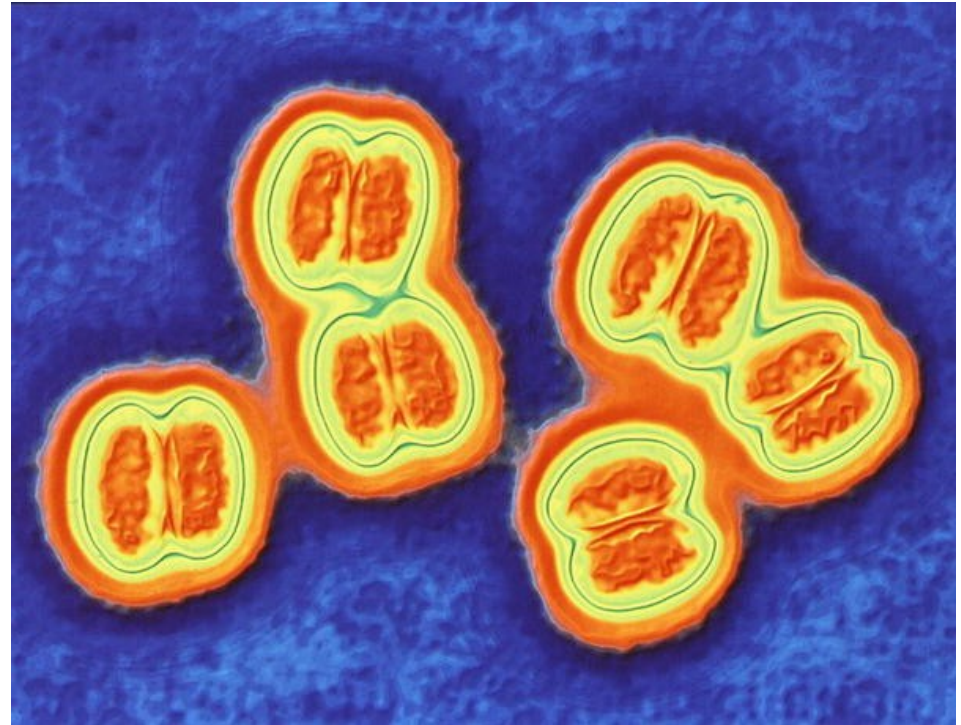
Odběr likvoru

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)



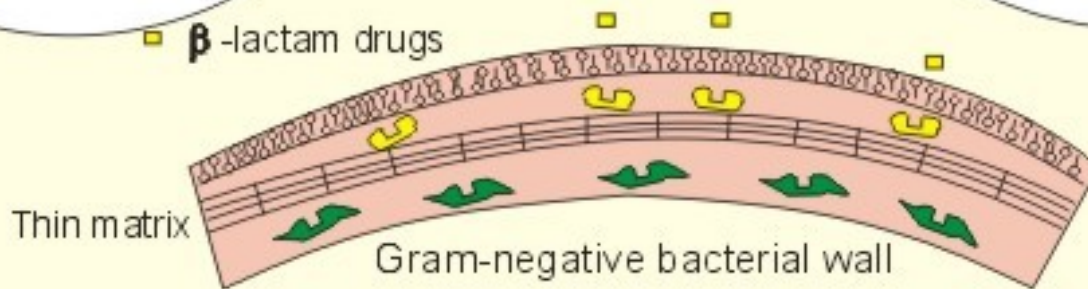
Některé neisserie a moraxelly mohou být protáhlé a může jít o kokobacily až tyčinky (např. Neisseria elongata)

Microscopic Pictures Of Neisseria (Gram-negative Diplococci)

Neisseria Gonorrhoeae

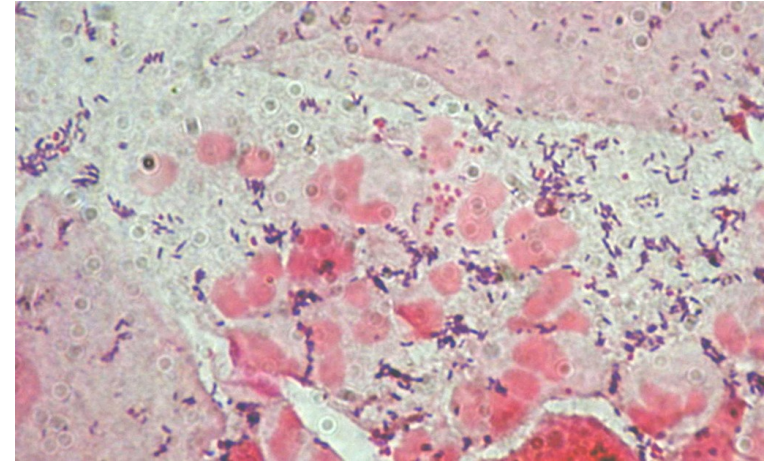
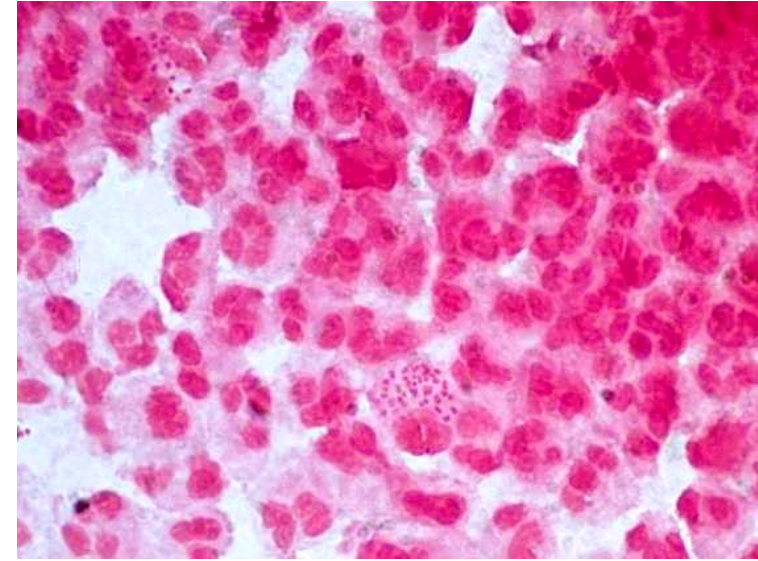
Neisseria Meningitidis
intracellularis in spinal fluid

■ β -lactam drugs



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



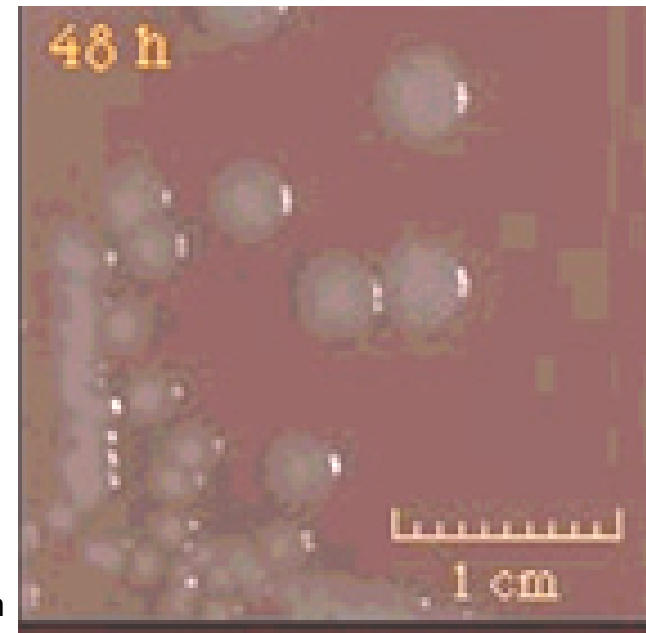
Neisserie a moraxely – charakteristika 2

- **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**



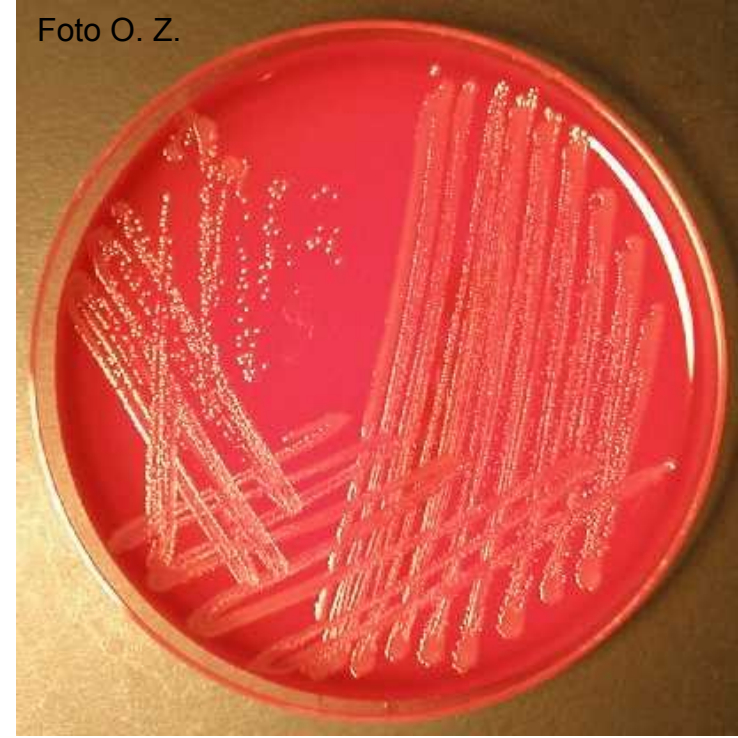
Gonokok →

← Meningokok



Kultivace

Foto O. Z.

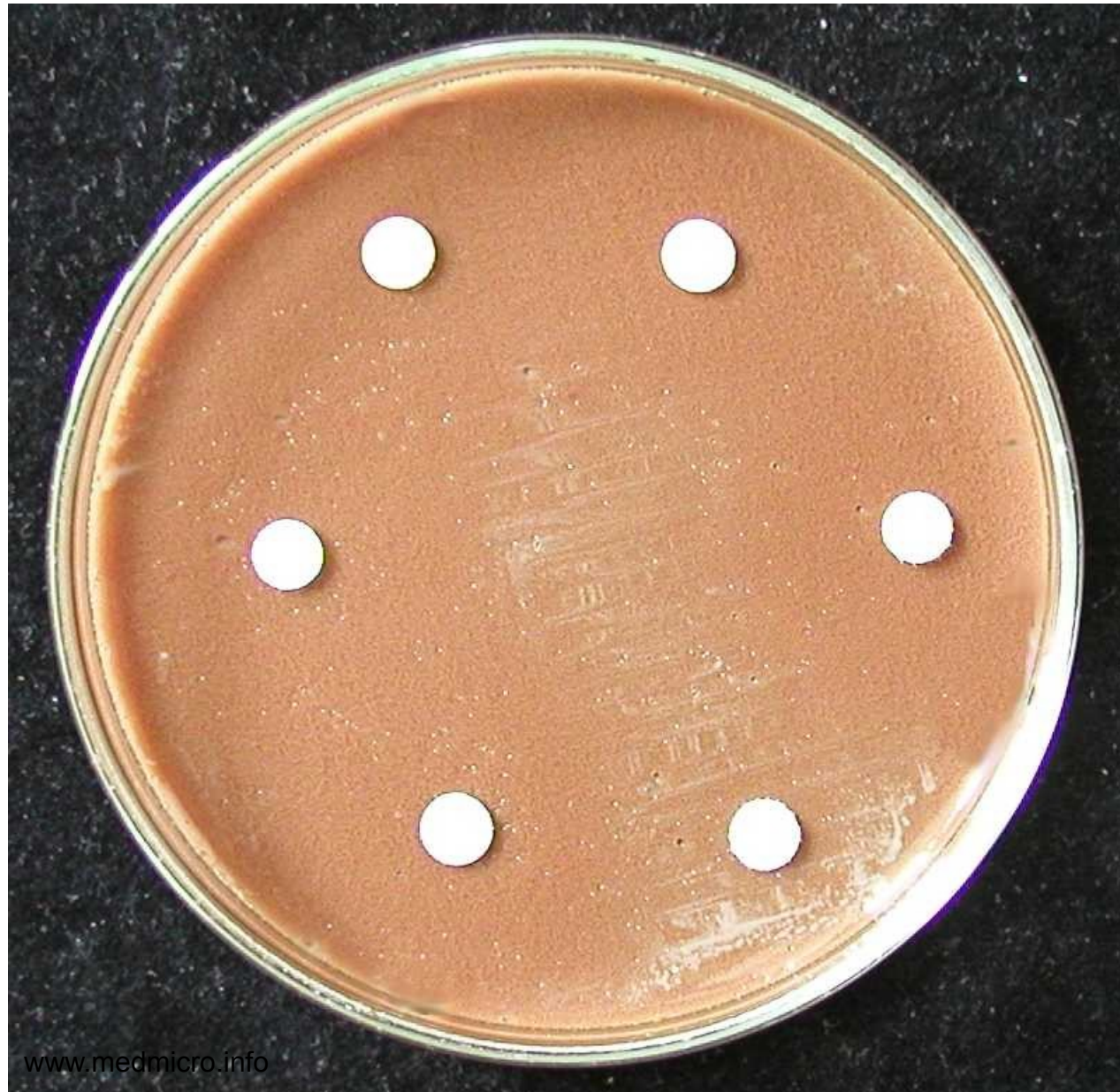


Růst na různých půdách rozliší

- **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

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

Gonokok testování atb citlivosti



Neisserie a moraxely – charakteristika 3

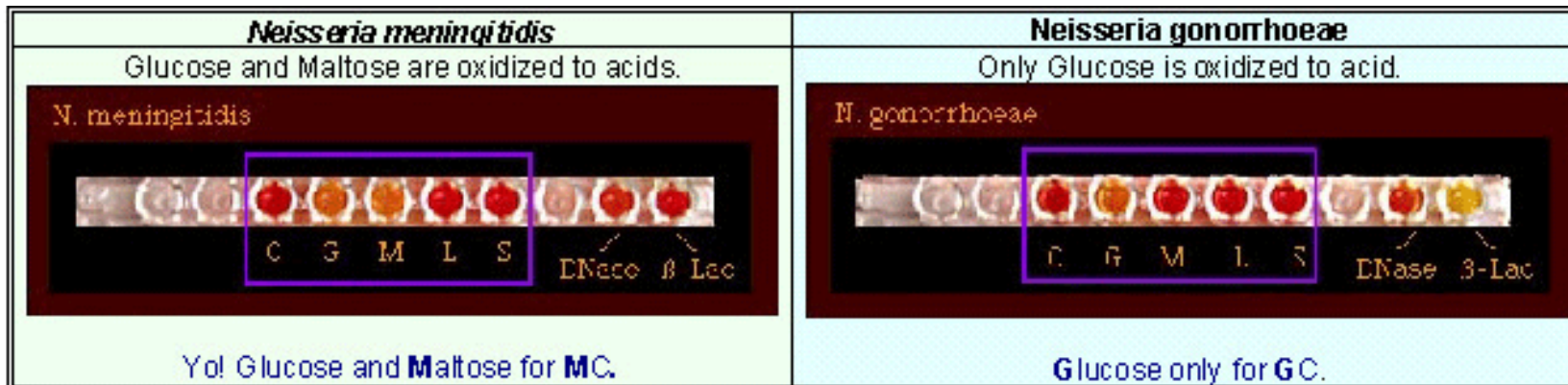
- **Biochemie:** kataláza pozitivní, oxidáza pozitivní; *Moraxella catarrhalis* pozitivní ve specifickém testu, zvaném INAC (indoxylacetátový test)
- **Antigenní analýza:** zpravidla prováděná jako latexová aglutinace, velmi důležitá u meningokoků k určení seroskupiny (kvůli očkování)

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)

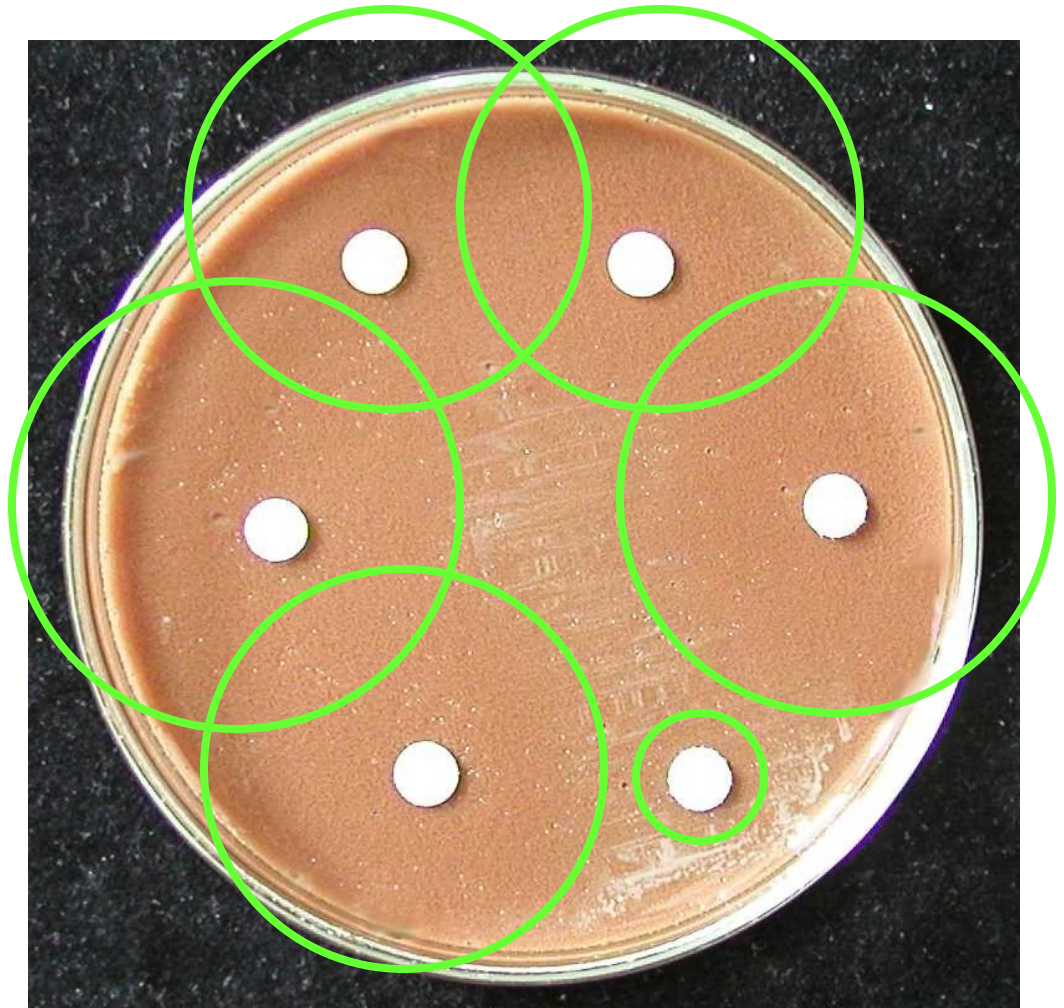
Testování antibiotické citlivosti u neisserií a podobných bakterií

- Antibiotická citlivost se u patogenních neisserií určuje na půdách, na kterých jsou schopny růst, tj. nikoli na MH agaru
- 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



Sada antibiotik proti patogenním neisseriím

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

E-test

www.actu-pharo.com



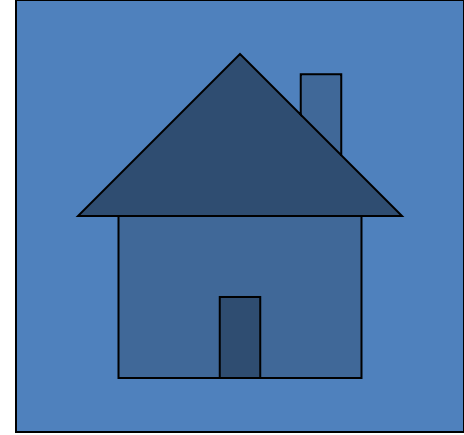
Průkaz antigenu / Antigenní analýza

- 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“

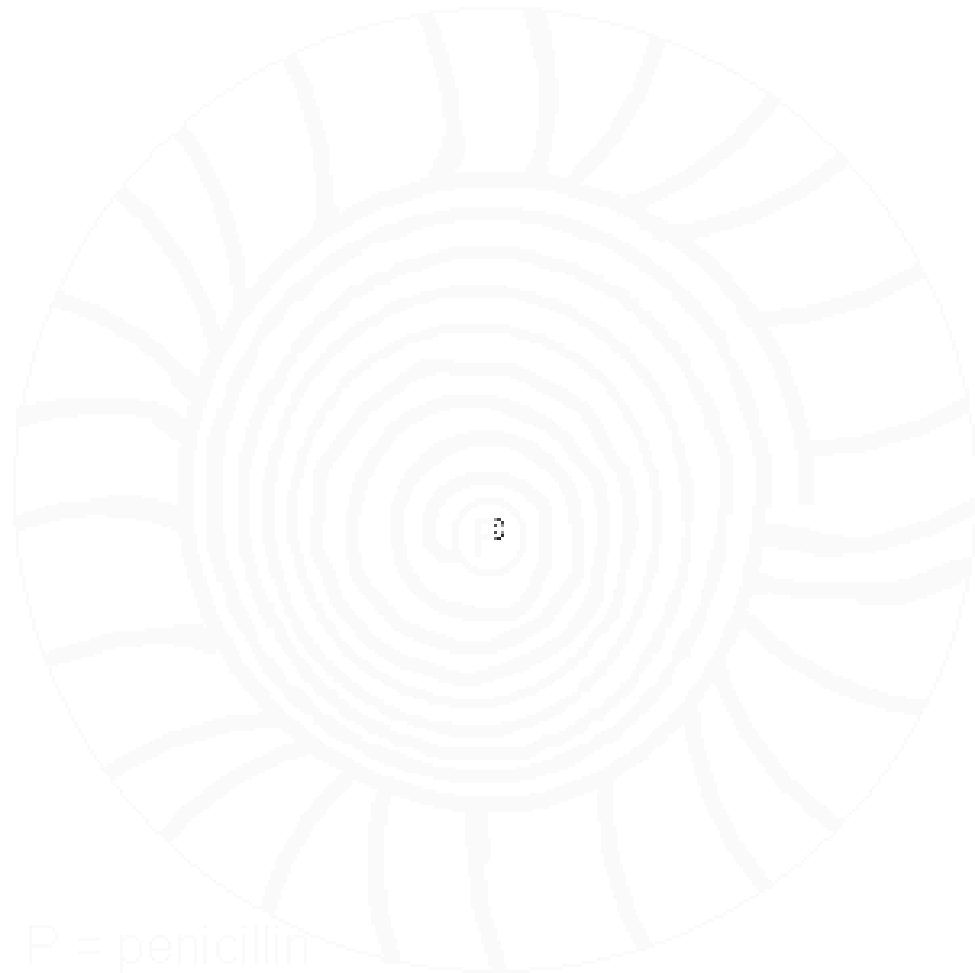
„Další G- bakterie“ – charakteristika

- **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

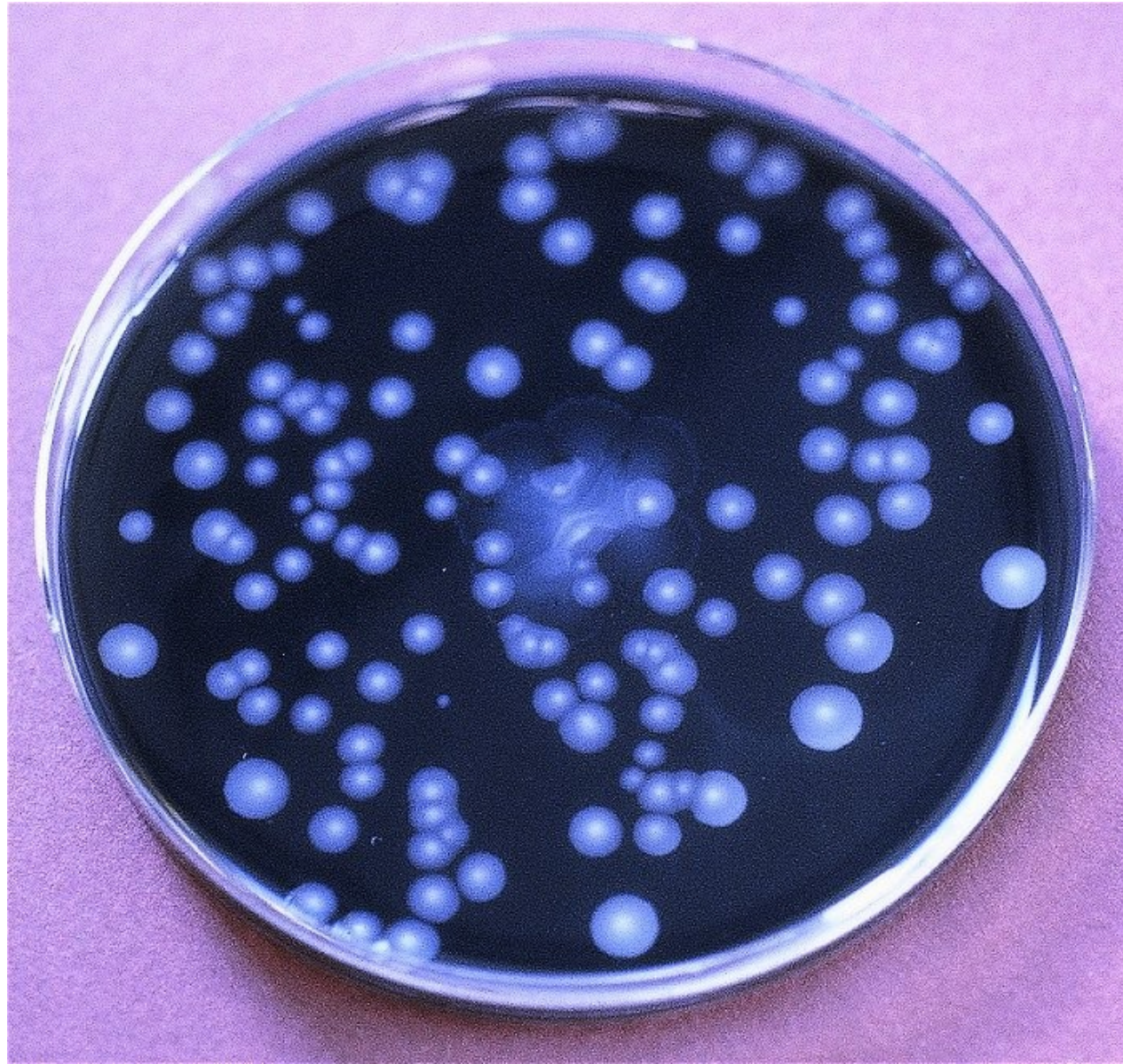
Tento zvláštní způsob se používá proto, že zkušenost ukázala, že zvyšuje záchyt bordetel.

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



BCYE agar pro legionely

Buffered
Charcoal
Yeast
Extract

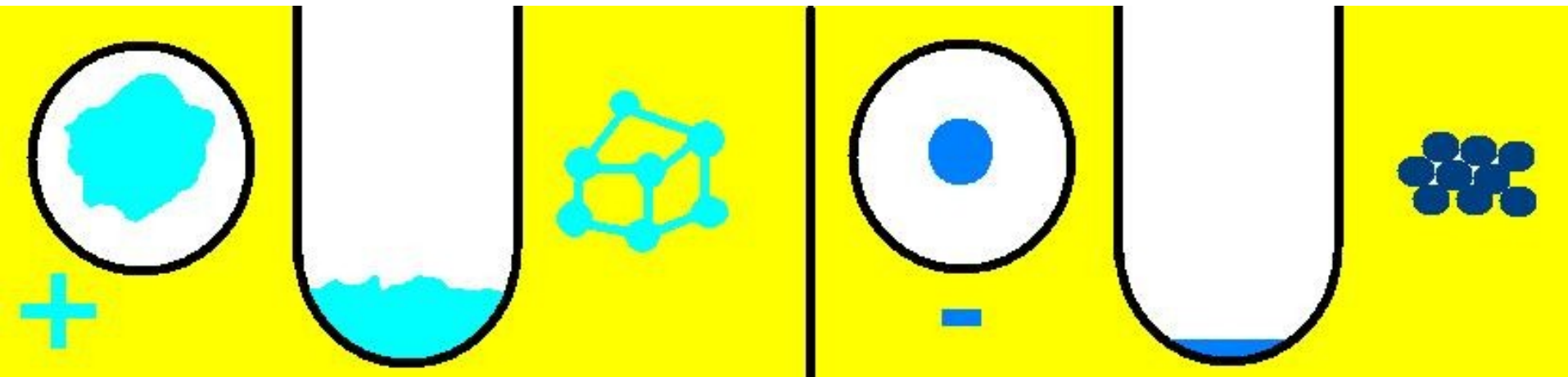
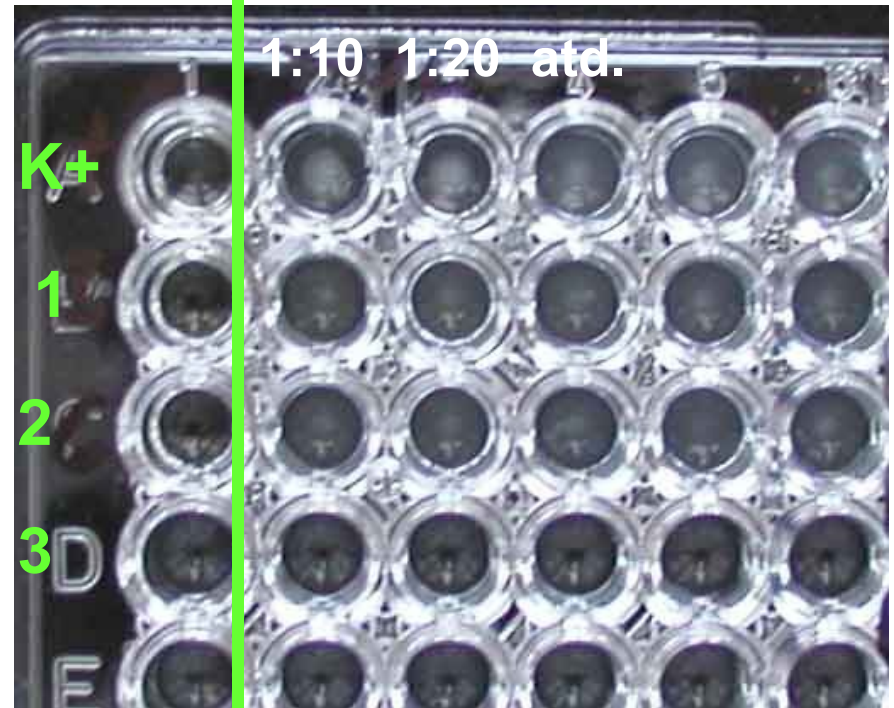


Diagnostika rodu *Francisella*: Odečítání titru

- Spočítá se titr, tedy nejvyšší ředění s pozitivní reakcí

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

www.medmicro.info



Diagnostika brucelózy

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

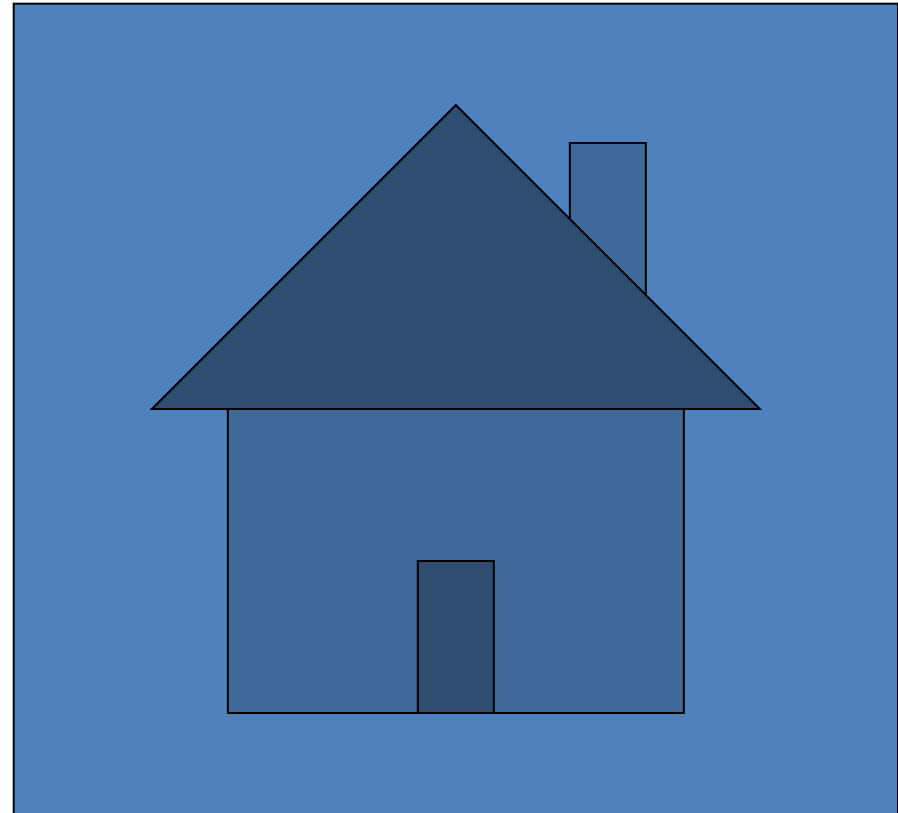


<http://www.rapidtest.com>



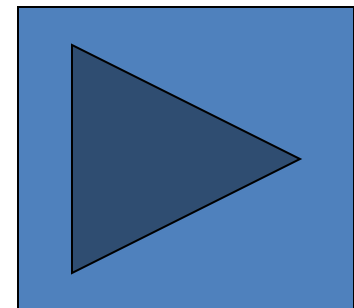
<http://www.rapidtest.com/image.php?p>

Konec



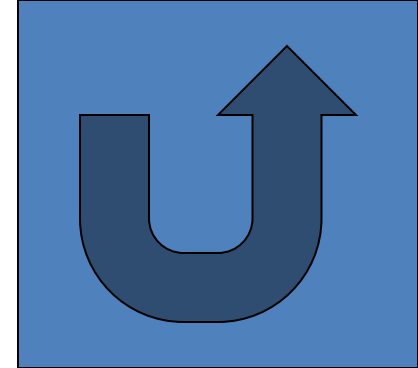
Stavebně technická opatření v prevenci nozokomiálních nákaz

- 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**.