

Gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky

Martin Vrba

OKM

FN Brno

Čeled'

- *Enterobacteriaceae*
- *Vibrio*
- *Pasteurella*
- *Haemophilus*

Čeď *Enterobacteriaceae*

- Gram-negativní nesporeující tyčinky
- Délka 2-3 μm , tloušťka 0,5-0,8 μm
- Fakultativně anaerobní mikroby
- Odolné vůči prostředí
- Biochemicky aktivní
- Komplexní antigenní struktura
 - Tělové O antigeny
 - Bičkové H antigeny
 - Kapsulární K antigeny

Čeď *Enterobacteriaceae*

- Výskyt ve střevě obratlovců
 - Komenzálové
 - Saprophyté
 - Patogeny
- Mimo střevo patogeny
 - Urogenitální systém
 - Dýchací systém
 - Rány
 - Sepse (urosepsy)
 - Meningitidy

Enterobacteriaceae

faktory patogenity

- Endotoxin
 - Ukotven ve vnější membráně, uvolňuje se po rozpadu buňky
- Fimbrie
 - Schopnost adheze
- Exotoxiny
 - Hemolyziny
 - Enterotoxiny

Enterobacteriaceae

laboratorní průkaz

- Mikroskopie
- Kultivace
- Biochemická identifikace
 - Selektivní diagnostické půdy
 - Chromogenní agary
 - Biochemické testy
- Antigenní analýza

Enterobacteriaceae epidemiologie

- Přenos fekálně-orální cestou
- Přenos potravinami
- Endogenní infekce
- Původci nozokomiálních infekcí

Rody

- *Yersinia*
- *Salmonella*
- *Shigella*
- *Escherichia*
- *Escherichia*
- *Enterobacter*
- *Klebsiella*
- *Serratia*
- *Proteus*
- *Citrobacter*

Yersinia sp.

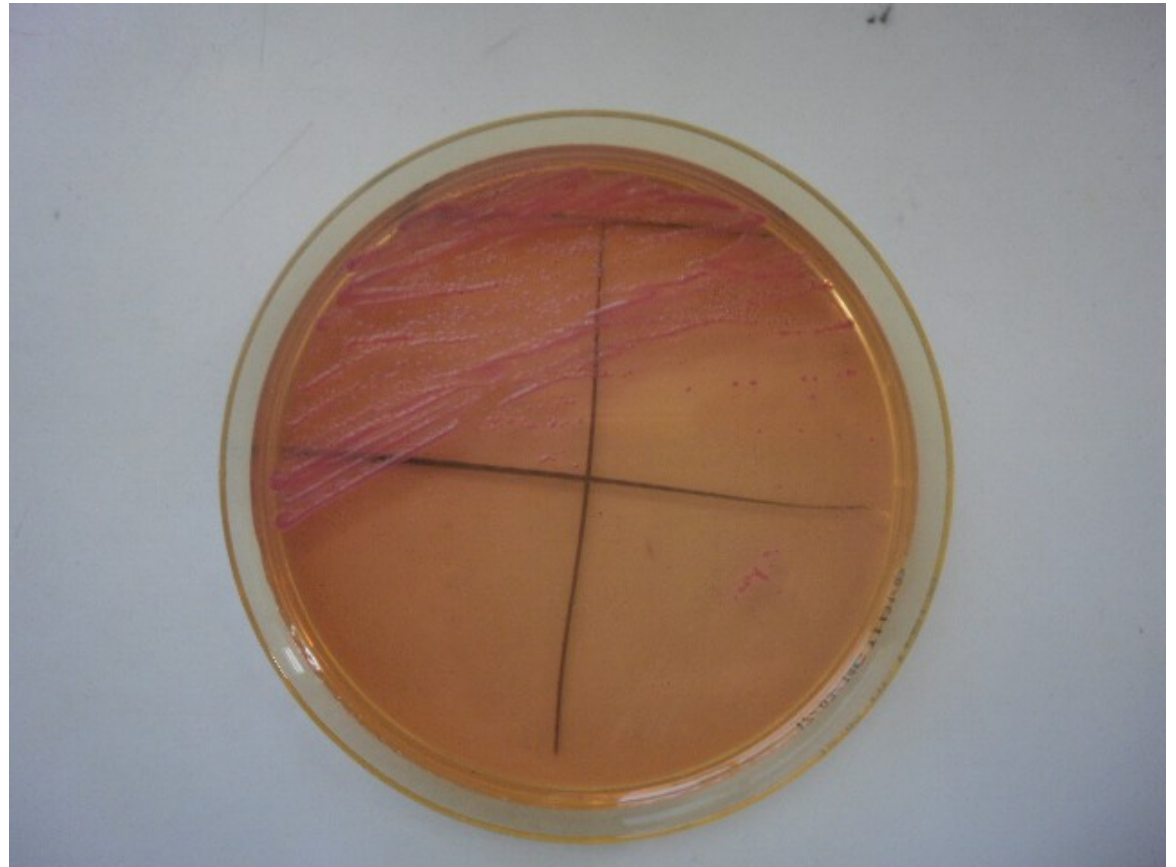
- Obligátně patogenní
- Gramnegativní tyčinky pohyblivá při nižších teplotách (25 C)
- Množení při chladničkové teplotě
- Kultivace půda CIN
- Biochemické určení – štěpení močoviny
- Antigenní struktura – určení typu O antigenů

Yersinia enterocolitica

- Původce průjmů
- Zdroj nejčastěji vepřové maso
- Nejčastější sérotyp O3

Yersinia

- CIN agar



Yersinia pseudotuberculosis

- Afinita k lymfatickým tkáním kolem střeva
- Imitace apendicitidy – bolesti břicha, horečky
- Častěji u chlapů

Yersinia pestis

- Kultivačně nenáročná
- Původce moru
 - Dýmějový mor – po štípnutí blechou morovou, zvětšené a kolikvované lymfatické uzliny – bubony, dýměje
 - Plícní mor – po vdechnutí yersinií
 - Septická forma – hematogenní šíření
- Úmrtnost 75 – 95%

Rod *Salmonella*

- Primárně antropopatógenní salmonely
 - *S. Typhi*
 - *S. Paratyphi A, B, C*
- Primárně zoopatógenní salmonely
 - *S. Typhimurium*
 - *S. Enteritidis*
 - *S. Infantis*
 - atd., atd., atd.

Antropopatogenní salmonely

- Původce břišního tyfu a paratyfu
- Vstupní brána GIT
- Septické teploty
- Bolesti hlavy (hlavnička)
- Růžové skvrny na kůži
- Průkaz přímý: hemokultivace
- Průkaz nepřímý : Widalova reakce
- Nosičství: žlučník

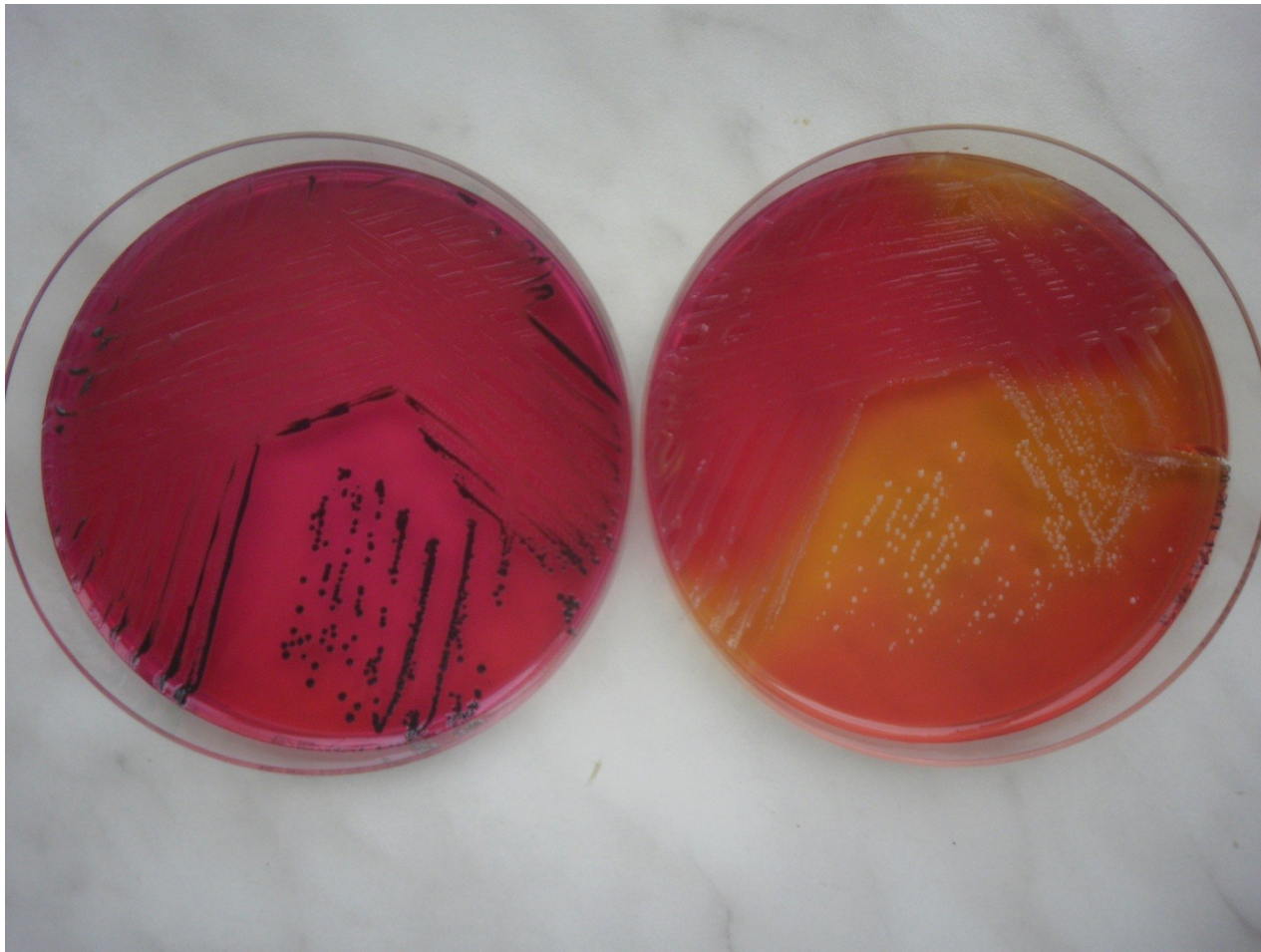
Zoopatogenní salmonely

- Nejčastější původce bakteriálních střevních nákaz
- Velká odolnost vůči zevním vlivům
- Inkubace 12 – 15 hodin
- Časté průjmy bez krve
- K infekci nutná vysoká infekční dávka (10^5 - 10^8).

Diagnostika salmonelózy

- Biochemické vlastnosti: štěpení manitolu, využívání citrátu, produkce H_2S , štěpení glukózy za tvorby plynu
- Kultivace – běžné půdy
- Selektivně diagnostické půdy: biochemický klín, Endova půda, XLD, MAL, Hajnova půda
- Pomnožení v selenitovém bujónu
- Sklíčková aglutinace – určení sérovaru (pro epidemiologické studie)

Salmonella a *E.coli* na XLD agaru

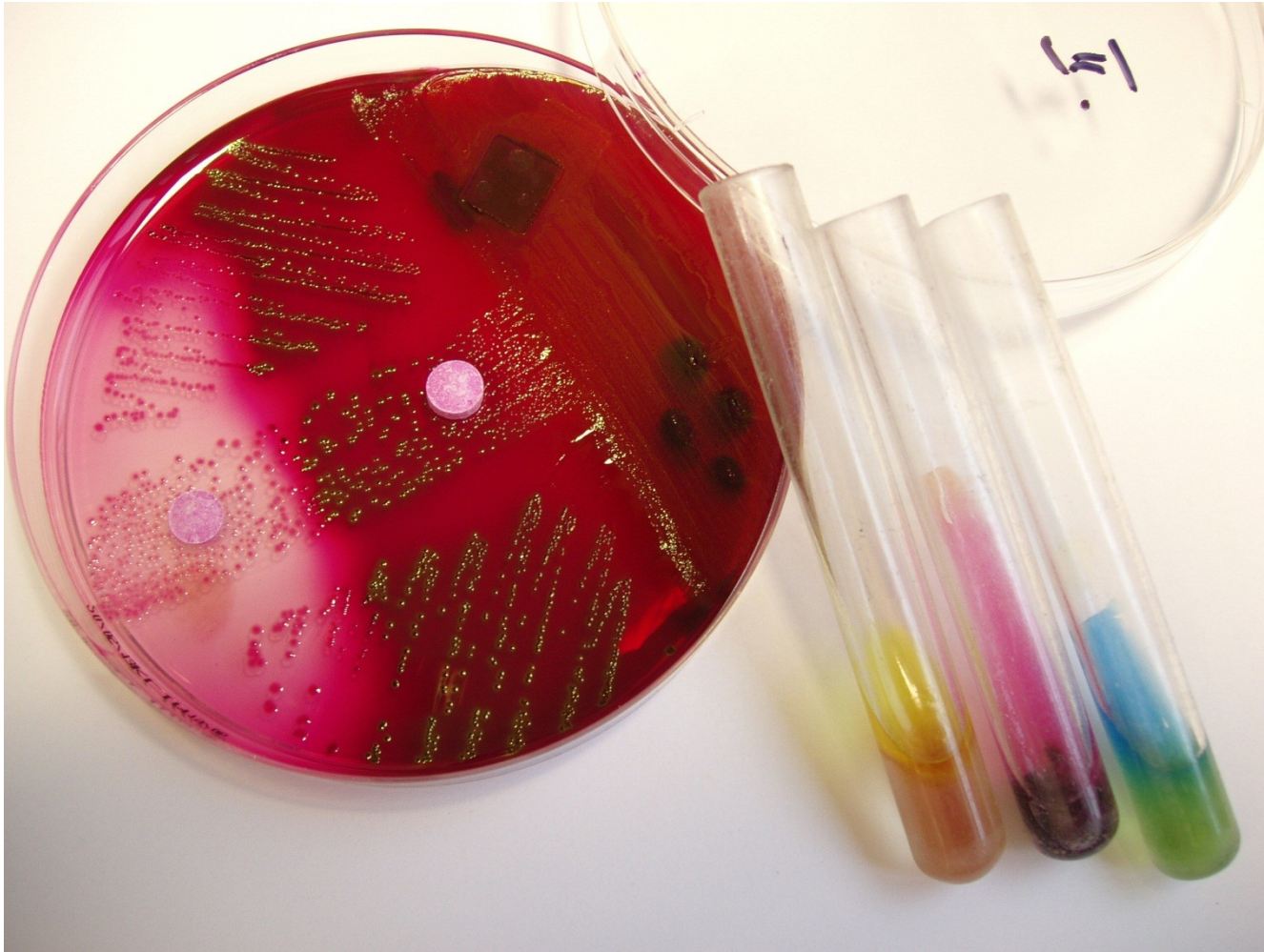


Enterobacteriaceae

Kultivace

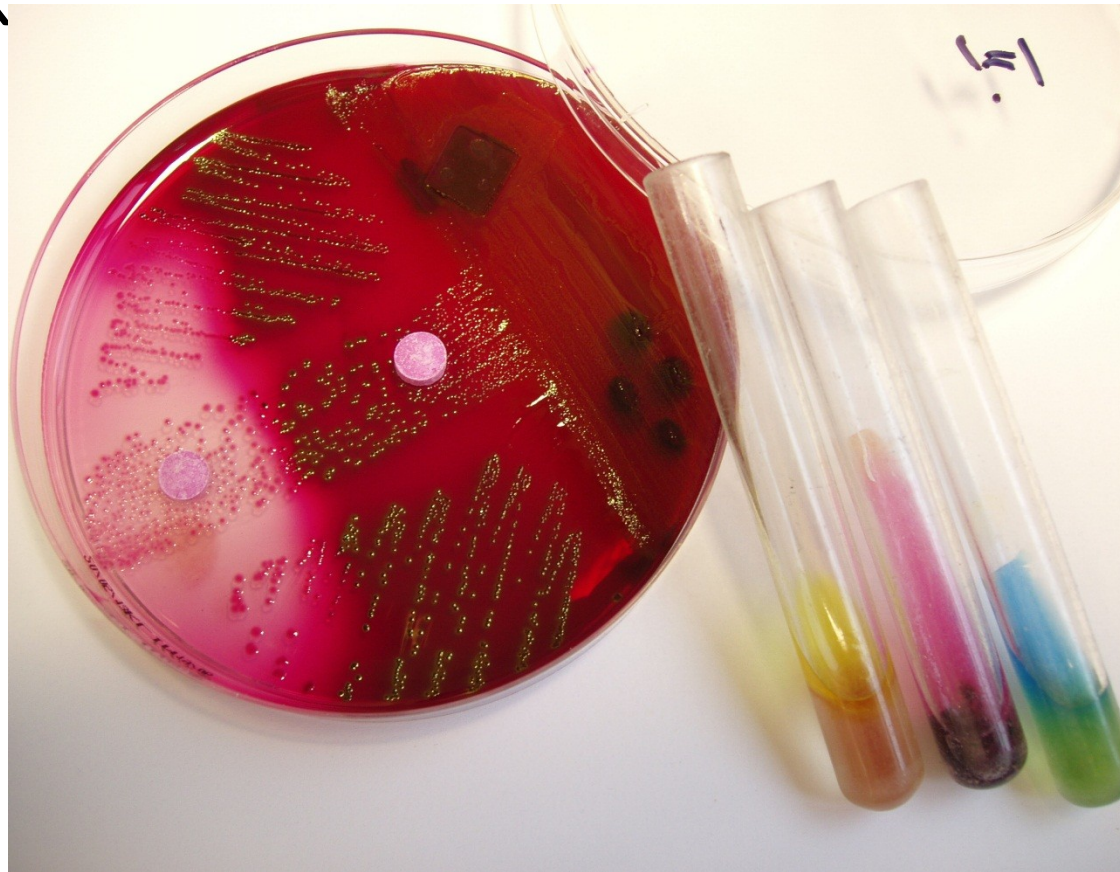
- Švejcarova půda = biochemický klín
 - Selektivní pro gramnegativní bakterie
 - Průkaz štěpení laktózy
 - Průkaz produkce sirovodíku
 - Průkaz tvorby plynu
 - Průkaz štěpení urey
 - Průkaz štěpení manitolu
 - Průkaz štěpení sacharózy

Rod *Salmonella*



Rod *Salmonella*

- Neštěpí laktózu
- Produkuje sirovodík
- Tvoří plyn
- Štěpí manitol
- Neštěpí sacharózu



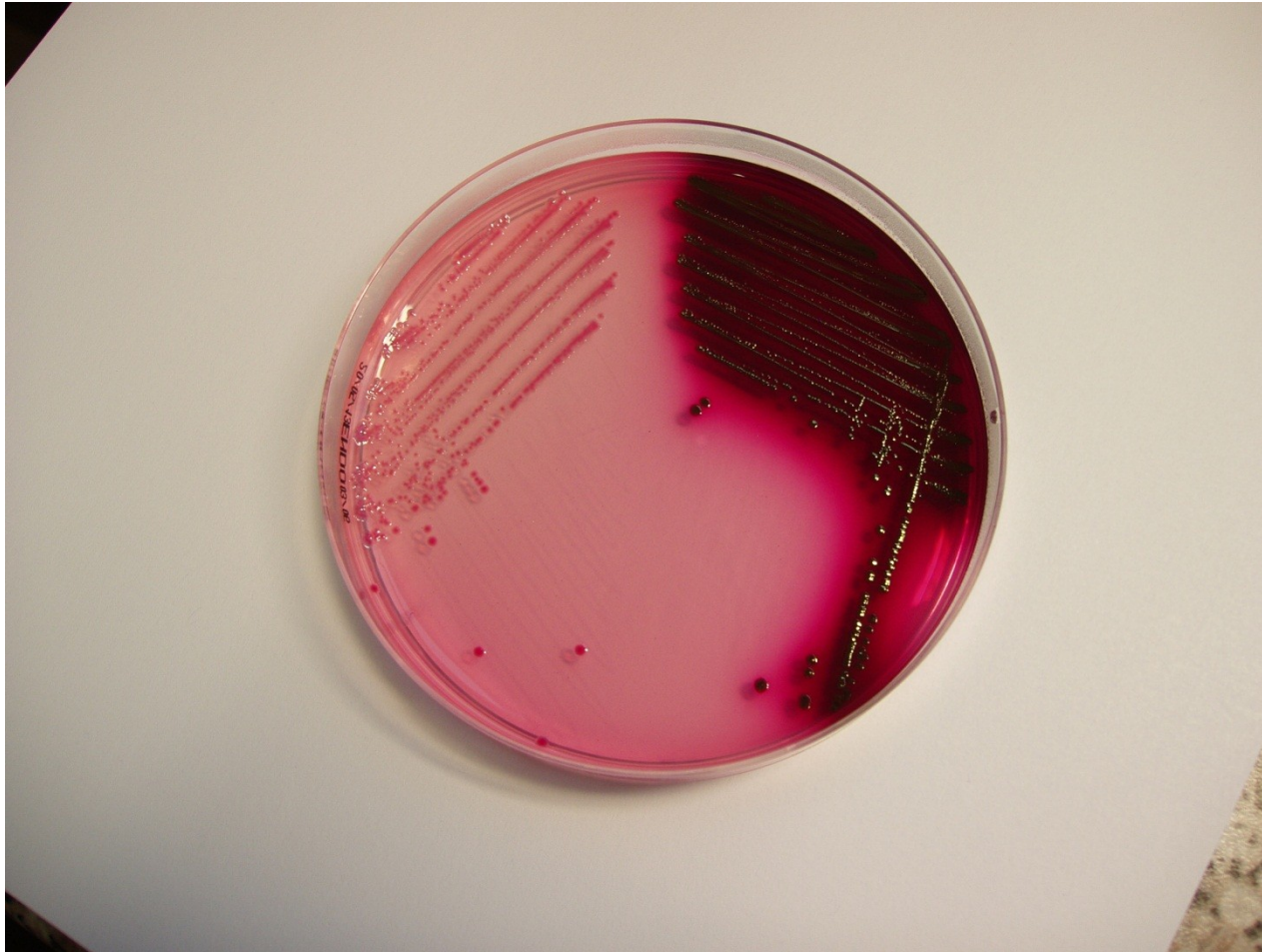
Rod *Shigella*

- Čistě lidský patogen
- Původce bacilární úplavice
- Vodnaté průjmy s křečemi
- Stolica obsahuje hlen, hnis i krev
- Nízká infekční dávka (asi 100 bakterií)
- Inkubační doba 3 – 7 dní

Diagnostika shigelóz

- Nepohyblivé gram negativní tyčinky
- Rostou na běžných půdách
- Biochemicky méně aktivní, při štěpení glukózy netvoří plyn
- Antigenní identifikace podle O antigenů:
 - *Shigella flexneri*
 - *Shigella sonnei*
 - *Shigella dysenteriae*
 - *Shigella boydii*

Laktóza pozitivní x negativní na MacConkey agaru



Rod *Escherichia*

- ***Escherichia coli***
- *Escherichia vulneris*
- *Escherichia hermanii*

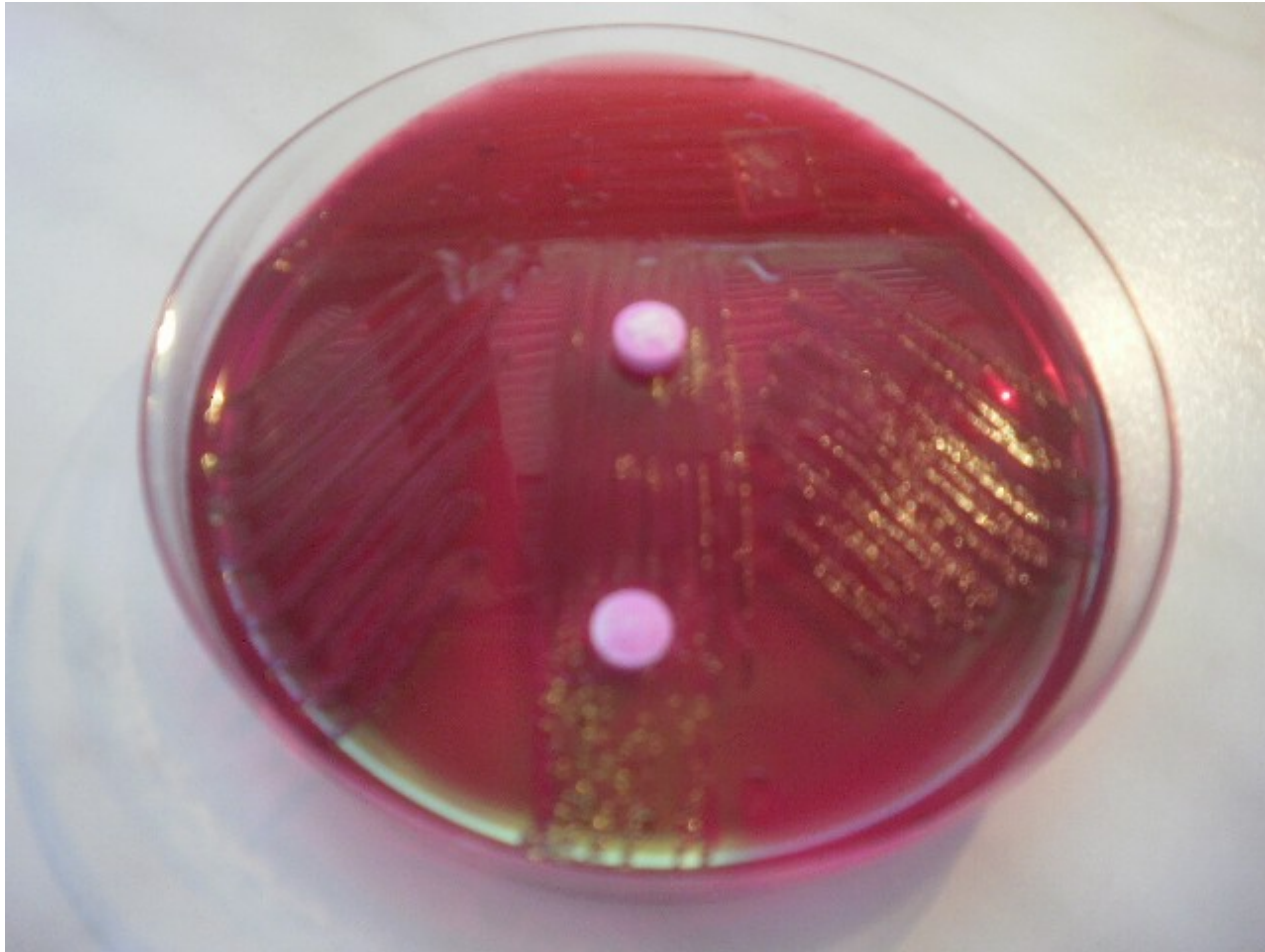
Escherichia coli

- Dobře kultivovatelné
- Biochemicky aktivní
- Běžná součást střevní flóry
- Symbiont: tvorba vitamínu K, produkce kolicinů
- Podmíněně patogenní

Diagnostika *E.coli*

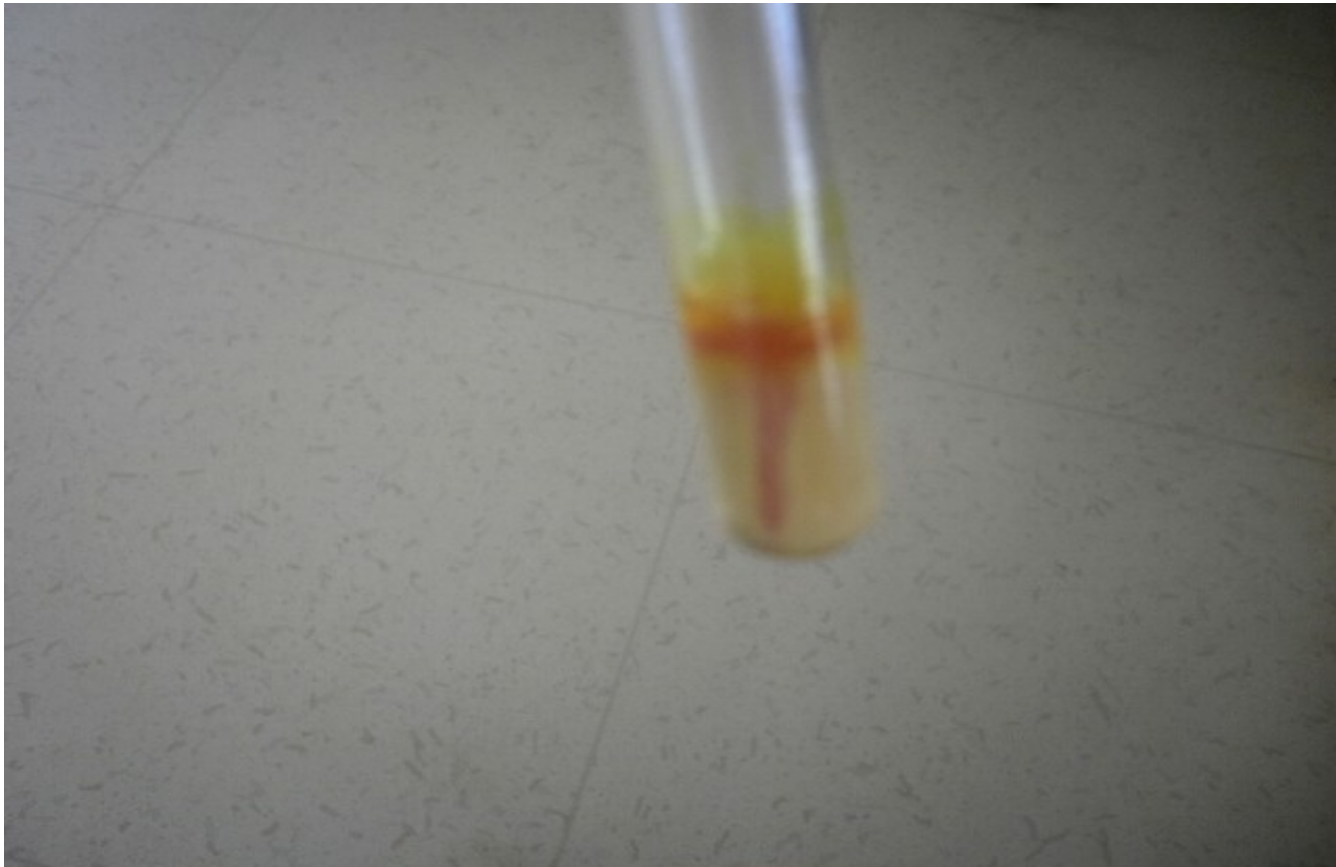
- Běžné kultivační půdy
- Biochemie: produkce indolu, štěpí laktózu
- Antigenní analýza (stolice novorozenců)
aglutinací

E.coli na Švejcarově půdě



Escherichia na MIU

- Vlastnosti: produkce indolu, pohyb



Patogenní působení ve střevě

- Enteropatogenní *E.coli*: novorozenecké průjmy, sérotypy O55, O111, O126
- Enterotoxigenní *E.coli*: cestovatelské průjmy, produkce enterotoxinů, sekrece vody do střeva – vodnatý průjem
- Enteroinvazivní *E.coli*: invaze do střevního epitele – krvavé průjmy

Patogenní působení ve střevě

- Shiga-like toxigenní *E.coli* – infekce podobná jako u shigel, vyvolávají krvácení ve střevě, vznik systémové infekce a **hemolyticko uremického syndromu**. Sérotyp O157:H7. Zdrojem infekce je hovězí dobytek. Antibiotická léčba vede k uvolnění toxinů. Kultivace McConkeyho agar se sorbitolem.

Patogenní působení mimo střevo

- Uropatogenní *E.coli* – nejčastější původce močových infekcí
- Kmeny způsobující dýchací infekce
- Sepse
- Infekce ran
- Novorozenecké meningitidy

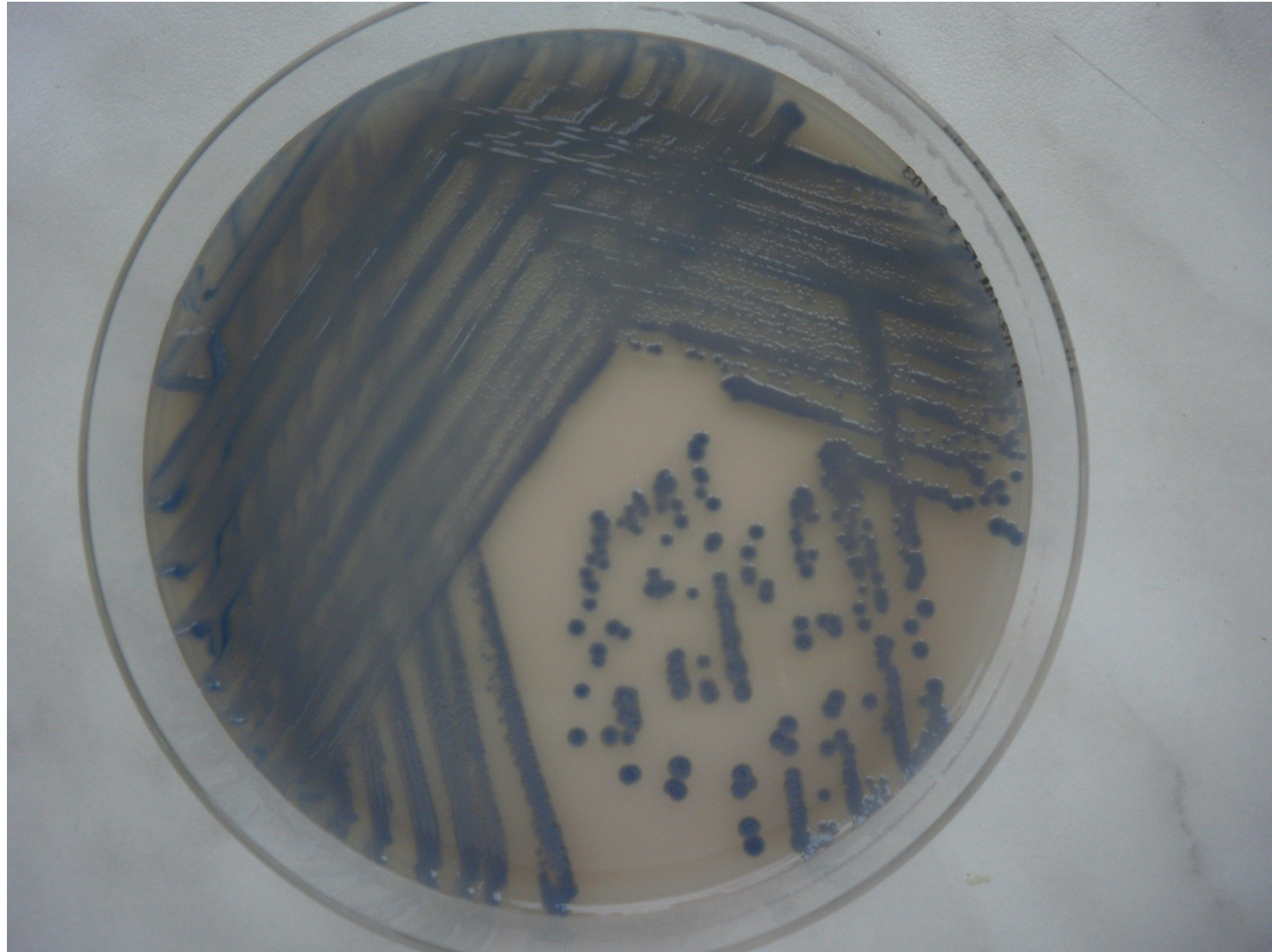
Rod *Enterobacter*

- Součást střevní flóry
 - *Enterobacter cloacae*
 - *Enterobacter aerogenes*
 - *Enterobacter sakazakii*
 - *Pantoea agglomerans*
- Infekce u oslabených pacientů

Rod *Klebsiella*

- Součást střevní flóry
- Adaptovaná na život mimo střevo
- Často opouzdřené
- Časté nemocniční infekce – uroinfekce, infekce dýchacích cest
- Polyrezistentní kmeny
 - *Klebsiella pneumoniae*
 - *Klebsiella oxytoca*

Rod *Enterobacter* – *Klebsiella* na chromagaru



Rod *Serratia*

- Více ve vnějším prostředí
- Typický původce nemocničních infekcí (dýchací cesty, infekce ran, sepse)
 - *Serratia marcescens*
 - *Serratia rubidea* (červený pigment)

Rod *Proteus*

- Mohutná biochemická aktivita
- Výrazná pohyblivost – plazivý růst na pevných půdách (Raussův fenomén)
- Výskyt ve střevní flóře, přizpůsobení k likvidaci organických zbytků
- Při dysmikrobii ve střevě původce průjmů
- Původce infekcí močových cest, infekce dekubitů, bércových vředů

Rody *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*

- *Proteus vulgaris*
- *Proteus mirabilis*
- *Morganella morganii*
- *Providencia stuartii*
- *Providencia alcalifaciens*

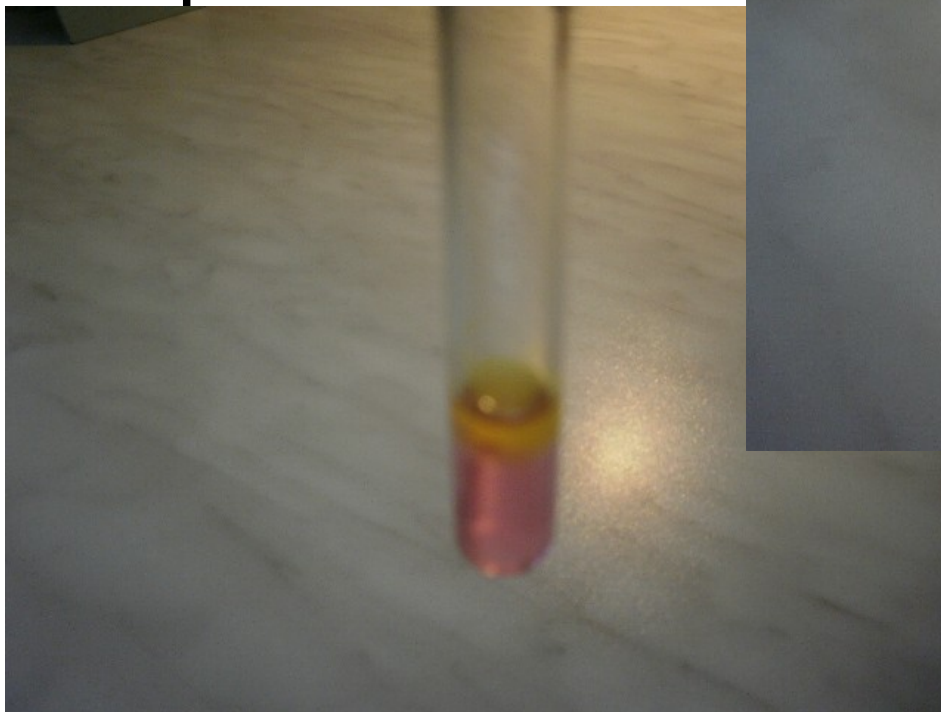
Rod *Proteus*

- Plazivý růst na krevním agaru



Rod Proteus

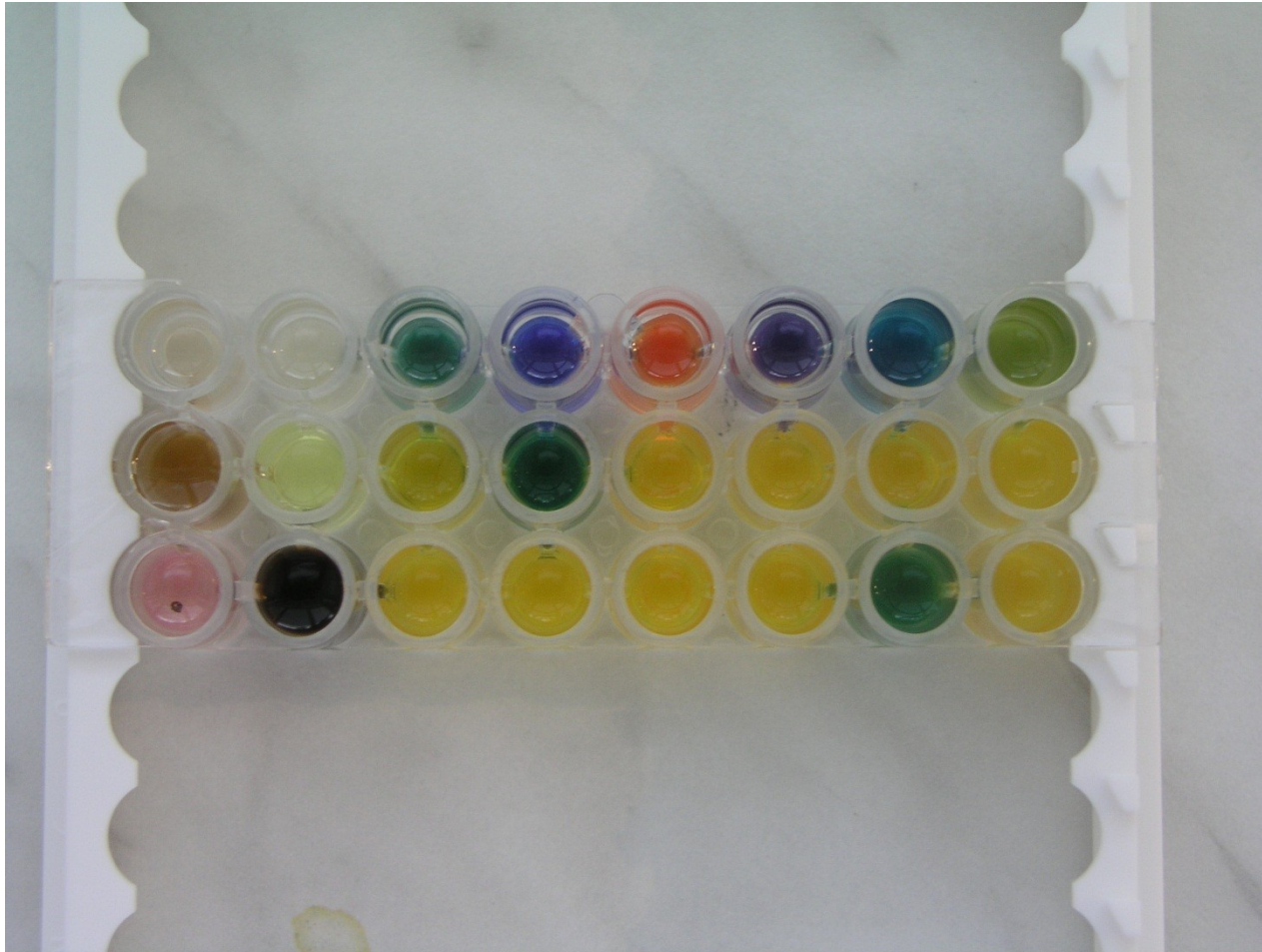
- Štěpí cukry
- Produkuje sirovodík
- Štěpí ureu



Rod *Citrobacter*

- Podmíněný patogen ve střevě
- Infekce močových cest, sepse
 - *Citrobacter freundii*
 - *Citrobacter koseri*

Biochemická identifikace



Čeľed' *Vibrionaceae*

Rod *Vibrio*

- Rozšířené ve vodách v teplejším klimatu
- Původce průjmových onemocnění (cholera)
- Odolné vůči vyšším koncentracím NaCl (halofilní)
- Odolné vůči vysokému pH (alkalofilní)
pH10, v kyselém prostředí rychle hynou

Vibrio cholerae

- Původce choleroových průjmů
- Pochází z Indie a Číny
- Od r. 1962 probíhá 7. pandemie cholery
- V našich zemích poslední r.1970 na východním Slovensku
- V r.2002 2 importované případy z Indie a Thajska

Vibrio cholerae

- Krátké gramnegativní tyčinky, zahnuté do tvaru rohlíčku
- Antigenní typizace podle O antigenu
- Nejčastější O1 a O139 – vyvolávají epidemickou cholera
- Všechna jiná vibria se označují jako nonO1/O139, neaglutinující vibria (NAG)

Vibrio cholerae

- Biotypy – liší se průběhem onemocnění
 - El Tor – asymptomatické případy, hemolyzuje
 - Klasický – cholera asiatica
- Subtypy – Inaba, Ogawa, Hikojima
- *V.cholerae* O1 způsobuje z plného zdraví objemné vodnaté průjmy s vločkami hlenu a sliznice (rýžová polévka), rychlá dehydratace, acidóza, smrt

Vibrio cholerae

- Diagnostika v akutním stadiu
- Růst na běžných půdách – krevní agar
- Selektivní půdy s thiosulfátem, citrátem, žlučí a sacharózou (TCŽS agar)
- Množí se v alkalické peptonové vodě, růst v povrchové blance již za 6 hodin – mikroskopie
- Aglutinace

Rod *Aeromonas*

- Izolovány z masa, mléka, ryb a plodů moře, z vody
 - *Aeromonas hydrophila*
- Způsobují mírný průjem až po onemocnění podobné choleře
- Infekce ran po kontaktu s vodou
- Kultivačně nenáročná

Rod *Plesiomonas*

- *Plesiomonas shigelloides*
- Izolace z vody, sladkovodních i mořských ryb
- Způsobují průjmy a sepse

Čeď *Pasteurellaceae*

- Gram negativní krátké tyčinky až koky
- Nepohyblivé
- Průkaz oxidázy

Rod *Pasteurella*

- *Pasteurella multocida*
- *Pasteurella aerogenes*
- *Pasteurella canis*

Pasteurella multocida

- Komenzál horních cest dýchacích u domácích zvířat
- Lidské infekce spojené se zvířecím pokousáním nebo poškrabáním
- Povrchové infekce kůže až abscesy a osteomyelitidy
- Kultivace na krevním agaru

Rod *Haemophilus*

- Výskyt na sliznici nosohltanu, součást normální flóry
- Gramnegativní drobné tyčinky pleomorfní
- Fakultativně anaerobní, růst v atmosféře se zvýšeným obsahem CO₂ (5-10%)
- Závislost na růstových faktorech
 - X – hemin
 - V - nikotinamidadeninindinukleotid

Rod *Haemophilus*

- Růst na půdách s krví – čokoládový agar
- Na krevním agaru – růst s čárou
Staphylococcus aureus – satelitový fenomén
 - *Haemophilus influenzae*
 - *Haemophilus parainfluenzae*

Rod *Haemophilus*

	Faktor X	Faktor V
<i>H.influenzae</i>	+	+
<i>H.parainfluenzae</i>		+

Haemophilus influenzae

- Původně považován za původce chřipky
- Hlavní faktor virulence – pouzdro. Podle antigenní struktury pouzdra 6 sérotypů a-f.
- Nejdůležitější *H.influenzae* b. Zavedeno očkování
- Kolonizuje dýchací cesty, faringitidy, sinusitidy, epiglotitidy, sepse, meningitidy, otitidy, artritidy, perikarditidy

Haemophilus influenzae

- Diagnostika:
- Odběr do transportní půdy, uchování při pokojové teplotě
- Čokoládový agar, krevní agar s čárou *Staphylococcus aureus*
- Disk s bacitracinem pro potlačení flóry HCD
- Disky s růstovými faktory

Haemophilus ducrey

- Původce sexuálně přenosné choroby – měkkého vředu (ulcus molle)