

# Gramnegativní nefermentující tyčky

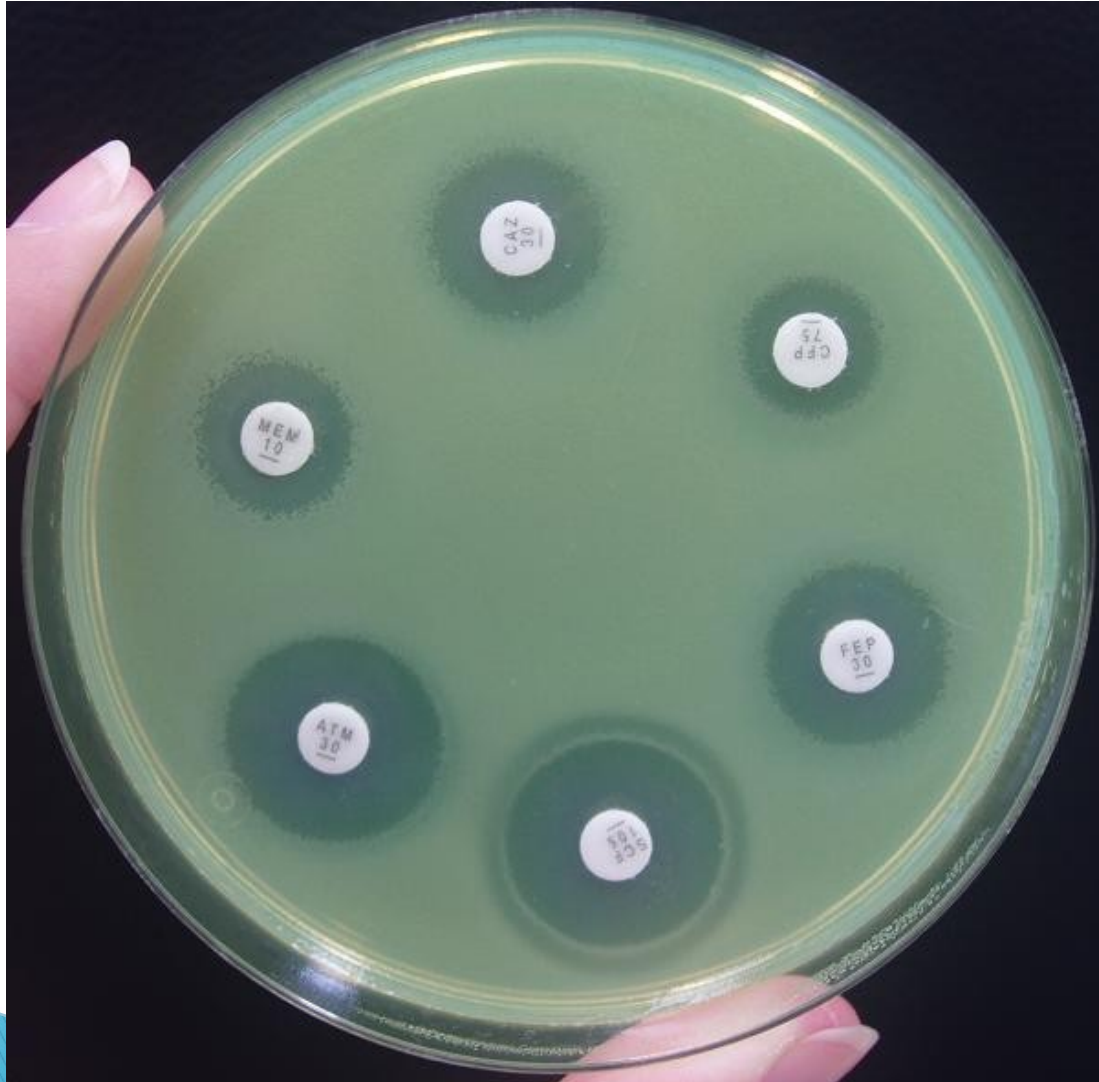
M.Hanslianová  
OKM FN Brno

- ▶ = velká skupina rodů gramnegativních tyček neschopných fermentovat glukózu
- ▶ Nesourodá skupina mikrobů, běžně přítomné v půdě, vodě, na rostlinách
- ▶ Zařazení do čeledí je spíše formální
- ▶ Počet rodů gramnegativních nefermentujících tyček se mění v souvislosti s podrobnějšími studii genotypu

- Kultivačně nenáročné
- Dobře rostou na běžných půdách– krevní agar, Endova půda, McConkey agar
- Výhodnější kultivační teplota 30 stC
- Mnohdy prodloužená kultivace na 48 hodin
- Dostatečná vlhkost prostředí (zdravotnická zařízení– nebulizace, gely, roztoky)

- ▶ Kolonie na půdách nejsou většinou nijak typické (výjimky– *Pseudomonas aeruginosa*, *Chryseobacterium meningosepticum*)
- ▶ Identifikace podle biochemické aktivity
- ▶ MALDI–tof

# *Pseudomonas aeruginosa* – typická pigmentace



# Možnosti biochemické identifikace



- ▶ Patogenita pro člověka je u této skupiny mikrobů obecně velmi nízká
- ▶ Oportunní patogeny– infekce prakticky vždy u oslabených osob (primární imunodeficity, pac. s hematologickou malignitou, transplantovaní, popálení), u těch pak mohou mít těžký průběh s fatálním koncem



- ▶ Zdrojem infekce je místo kolonizované nefermentující tyčkou– tracheální kanyly, flexily, močové katetry...)
- ▶ Obtížné odlišení kolonizace a infekce
- ▶ Často jsou původci nozokomiálních nákaz
- ▶ Polyrezistentní vůči antibiotikům i dezinfekčním látkám, biofilm!
- ▶ Antibioqram se nedá odhadnout!



# Rozdělení gramnegativních nefermentujících tyček podle abecedy

- ▶ **Acinetobacter**
- ▶ Agrobacterium
- ▶ Alcaligenes
- ▶ **Bordetella**
- ▶ Brevundimonas
- ▶ **Burkholderia**
- ▶ Comamonas
- ▶ Eikenella
- ▶ Flavimonas
- ▶ Chryseobacterium
- ▶ Kingella
- ▶ Methylomonas
- Moraxella
- Ochrobacterium
- Oligella
- **Pseudomonas**
- Psychrobacter
- Ralstonia
- Shewanella
- Sphingobacterium
- **Stenotrophomonas**
- Suttonella
- Weeksella
- Xanthomonas

# *Bordetella pertussis*


- ▶ Gramnegativní nefermentující tyčka, **ale** kultivačně náročná
- ▶ Neroste na běžných kultivačních půdách, některé součásti agarů jsou pro ni toxické, vyžaduje suplementy
- ▶ Kultivace trvá 3–5 dní, roste v drobných koloniích, mohou mít zónu hemolýzy

- ▶ Původce pertuse= dávivý kašel
- ▶ Kapénkový přenos, 7–10 denní inkubace
  
- ▶ 3 stadia onemocnění:
  - 1) Katarální
  - 2) Paroxysmální
  - 3) Rekonvalescentní



- ▶ V katarálním stadiu lze bordetely vypěstovat a lze lépe ovlivnit průběh onemocnění antibiotiky
- ▶ Paroxysmální stadium– toxin, průkaz onemocnění sérologickými metodami
- ▶ Léky volby– makrolidová antibiotika

- celoplošná vakcinace 40.– 50. léta 20. století
- očkování probíhá více než 50 let
- člověk – jediný zdroj *B. pertussis*
- pertuse – adept na eliminaci ?!
- ALE

- ▶ Nárůst výskytu pertuse v posledních dvou desetiletích
  - ▶ Výskyt onemocnění v adolescentní a dospělé populaci
  - ▶ Výskyt nových genetických variant, oslabení postvakcinační imunity
- 

## Vývoj onemocnění pertusí v ČR v letech 1982–2009

### Trends in the incidence of pertussis in the Czech Republic in 1982-2009

Kateřina Fabiánová, Bohumír Kříž, Čestmír Beneš

#### Souhrn • Summary

Přes vysokou proočkovanost populace v ČR narůstá od devadesátých let nemocnost pertusí. Ve sledovaném období bylo zjištěno, že úplné očkování tzn. 5 dávkami je vykázáno u 75,3 % případů. Nemocnost pertusí je nejvyšší ve skupině 10–14letých dětí. V souvislosti s pertusí byla zaznamenána i tři úmrtí u dosud neočkovaných dětí do jednoho roku života.

*Despite the high vaccination coverage of the population in the Czech Republic, an upward trend has been observed in the incidence of pertussis since the 1990s. The full five-dose vaccination rate in 1982-2009 was 75.3%. The highest morbidity is found in the group of 10-14-year-olds. Three deaths from pertussis were reported in non-vaccinated children under one year of age.*

Zprávy EM (SZÚ, Praha) 2009; 18(12): 368–370.

**Klíčová slova:** pertuse, nemocnost, očkování  
**Keywords:** pertussis, incidence, vaccination

Nejvyšší nemocnost pertuse v ČR byla zaznamenána v roce 1956 – 520,5/100 000. Po zavedení očkování proti pertusí v roce 1958 do povinného očkovacího kalendáře počty hlášených případů onemocnění rychle klesaly, ale nikdy nedosáhly nulových hodnot (z počátečních 30 000–50 000 případů dávivého kašle ročně až na 5–48 případů od druhé poloviny 70. let do roku 1992).

Od roku 1993 je registrován stoupající trend onemocnění. Nejvíce nemocných dávivým kašlem je opakovaně registrováno ve skupině 10–14letých dětí. V roce 2009 bylo nahlášeno celkem 890 případů onemocnění, což je nejvíce od roku 1966.

#### Nemocnost podle věkových skupin a pohlaví

Incidence v 80. letech se pohybovala v rozmezí 0,1–0,3/100 000.

Stoupající trend nemocnosti pertusí v ČR je registrován od 90. let minulého století se zatím nejvyšším výskytem za posledních 43 let v roce 2009 – incidence 8,5/100 000 obyvatel (890 případů) – graf 1.

Většina hlášených případů pertuse z celé populace je hlášena v kategorii 0–19 let.

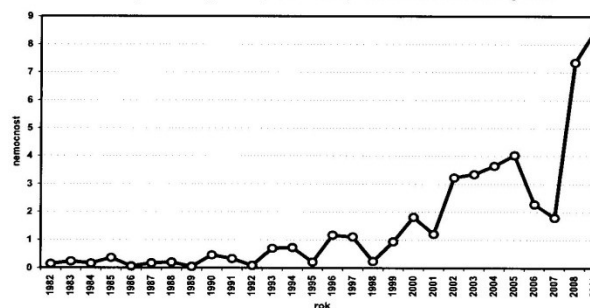
Nemocnost se postupně přesunovala z kategorie nejmenších a předškolních dětí do kategorie mladších a starších školních dětí – graf 2.

Nejvyšší nárůst případů je ve skupině dětí 10–14 let (za poslední dekádu narostl počet hlášených případů v této skupině šestinásobně) a stoupá rovněž počet hlášených případů pertuse ze věkových skupin 5–9, 15–19 a ve skupině 0letých dětí (řazeno sestupně) – graf 3.

Nárůst nemocnosti je rovněž registrován ve skupinách potenciálních „rodičů“ a „prarodičů“.

**Incidence ve skupině 0letých dětí** klesala od padesátých let minulého století (3 804,9/100 000 v roce 1956 – pokles nemocnosti díky terapii chloramfenikolem a zavedením očkování) a v letech 1974 až 1999 se udržovala pod hranicí 10,0/100 000, postupně však začala narůstat, v roce 2008 26,7/100 000, v roce 2009 25,8/100 000 obyvatel. Po 35 letech byla dokonce v této věkové skupině zaznamenána postupně 3 úmrtí; v roce 2005, 2007 a 2009. Ve všech třech případech se jednalo o dosud ne-

Graf 1: PERTUSE, Česká republika, 1982–2009, nemocnost na 100 obyvatel





# Imunita

- ▶ Po prodělaném onemocnění 4–20 let
- ▶ Po vakcinaci 3–12 let
- ▶ Transplacentárně přenesené protilátky mizí 4.–8.týden po narození

- ▶ Adolescenti a dospělí mohou být rezervoárem pro malé děti
- ▶ Doporučení přeočkování alespoň 1x v dospělosti

# Gramnegativní nefermentující tyčky

- ▶ Klinicky nejvýznamnější pro člověka jsou rody

1) *Acinetobacter*

2) *Pseudomonas*

3) *Stenotrophomonas*

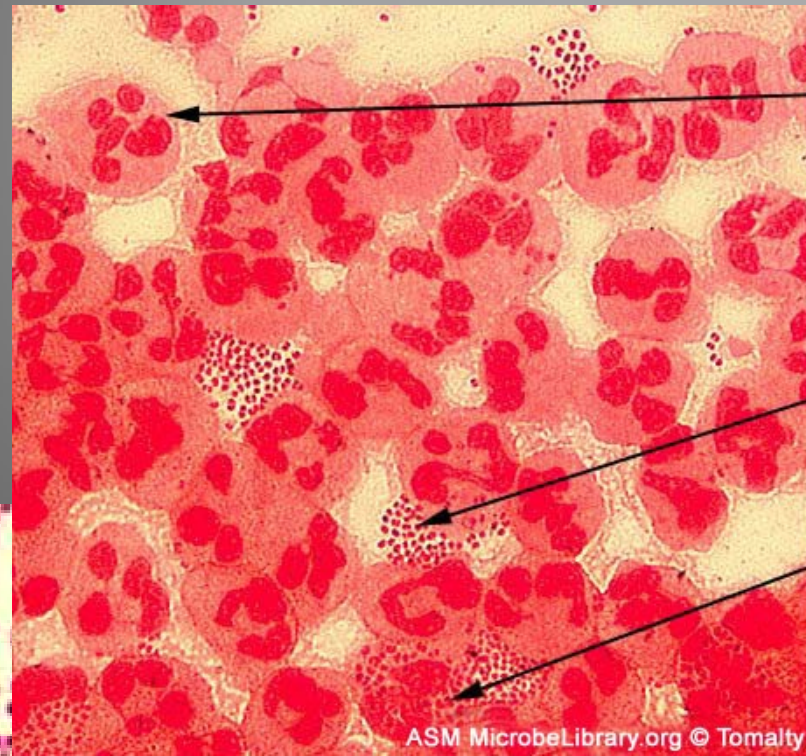
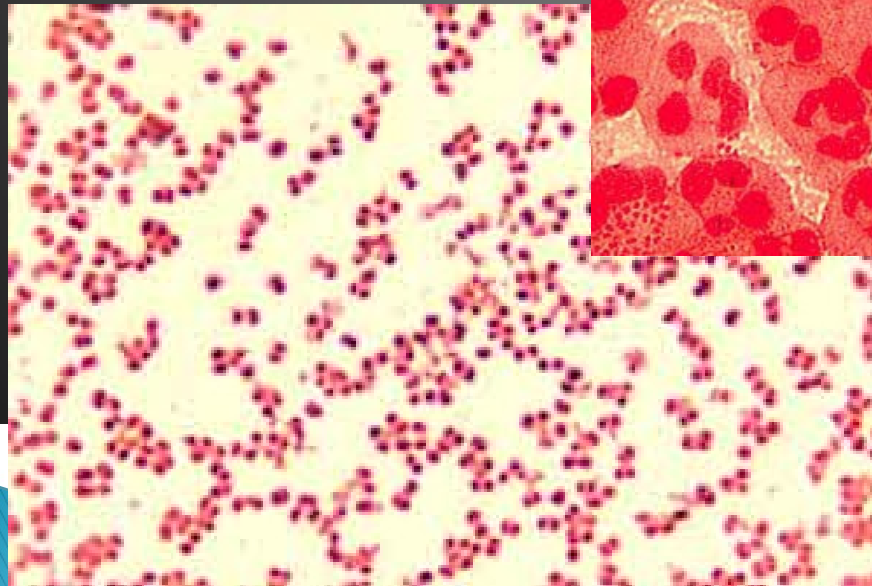
4) *Burkholderia*

# 1) *Acinetobacter*

- ▶ První kmen izolovaný z půdy v roce 1911  
*Micrococcus calcoaceticus*
- ▶ Několikrát znovuobjeven a přejmenován
- ▶ V roce 1954 vytvořili Brisou a Prévot rod *Acinetobacter*, do kterého spadaly gramnegativní nefermentující tyčky netvořící pigment a nepohyblivé

- ▶ Zahrnuty i bakterie, které dle dnešní nomenklatury s rodem *Acinetobacter* nesouvisí (kmeny oxidáza– pozitivní)
- ▶ V roce 1968 Baumann prokázal odlišnost oxidáza– negativních kmenů od oxidáza– pozitivních
- ▶ V rodu *Acinetobacter* zůstaly oxidáza– negativní diplokoky

# Gramnegativní diplokoky



polymorphonuclear leukocyte

Extracellular gram-negative diplococci

Intracellular gram-negative diplococci


ASM MicrobeLibrary.org © Tomalty

- ▶ Většina kmenů izolovaných z klinického materiálu patří do rodu *A.baumannii*
- ▶ Fenotypově v podstatě neodlišitelný od *A.calcoaceticus*



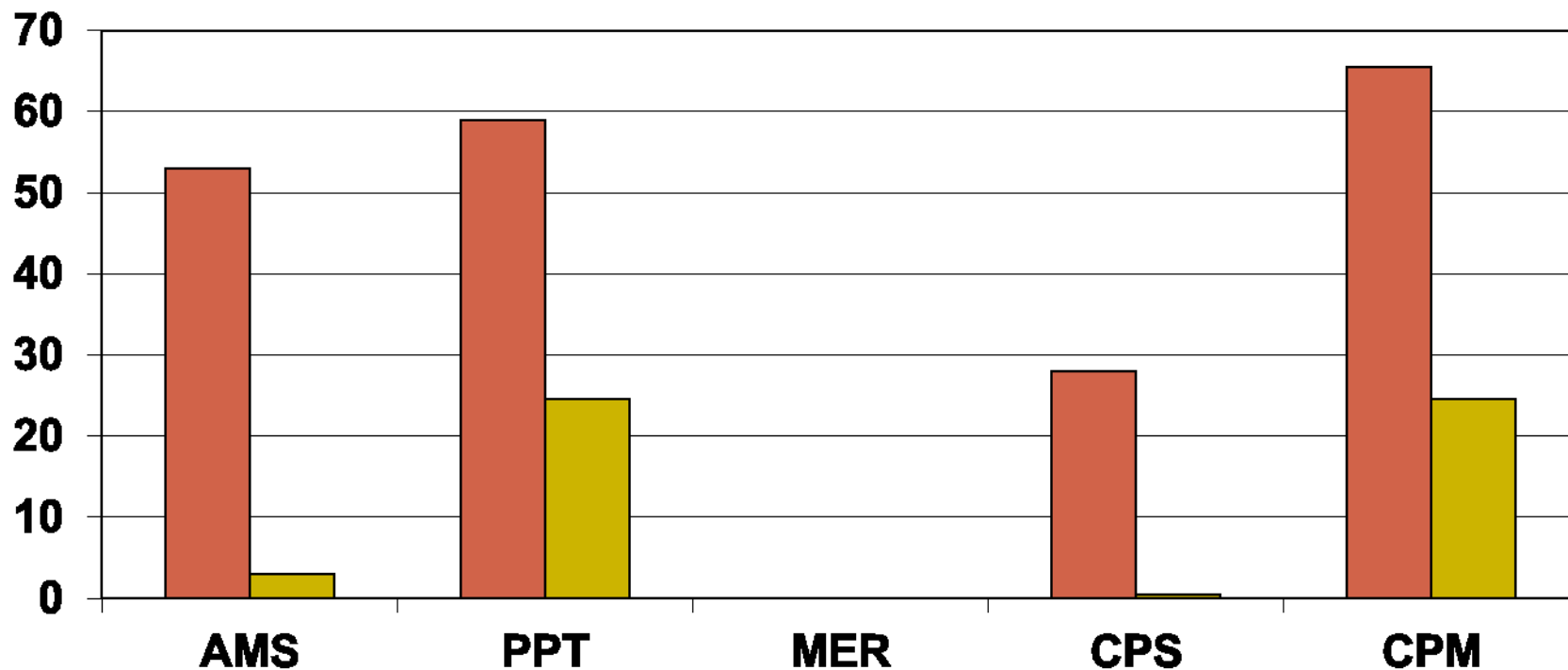
- ▶ *A.calcoaceticus*–*baumannii* komplex



- Válečná poranění (Iraqibacter)
  - Zástupci rodu *Acinetobacter* bývají izolováni z materiálu od oslabených pacientů
  - Široké spektrum infekcí
  - Často multirezistence k antibiotikům
- 

# *Acinetobacter sp.*

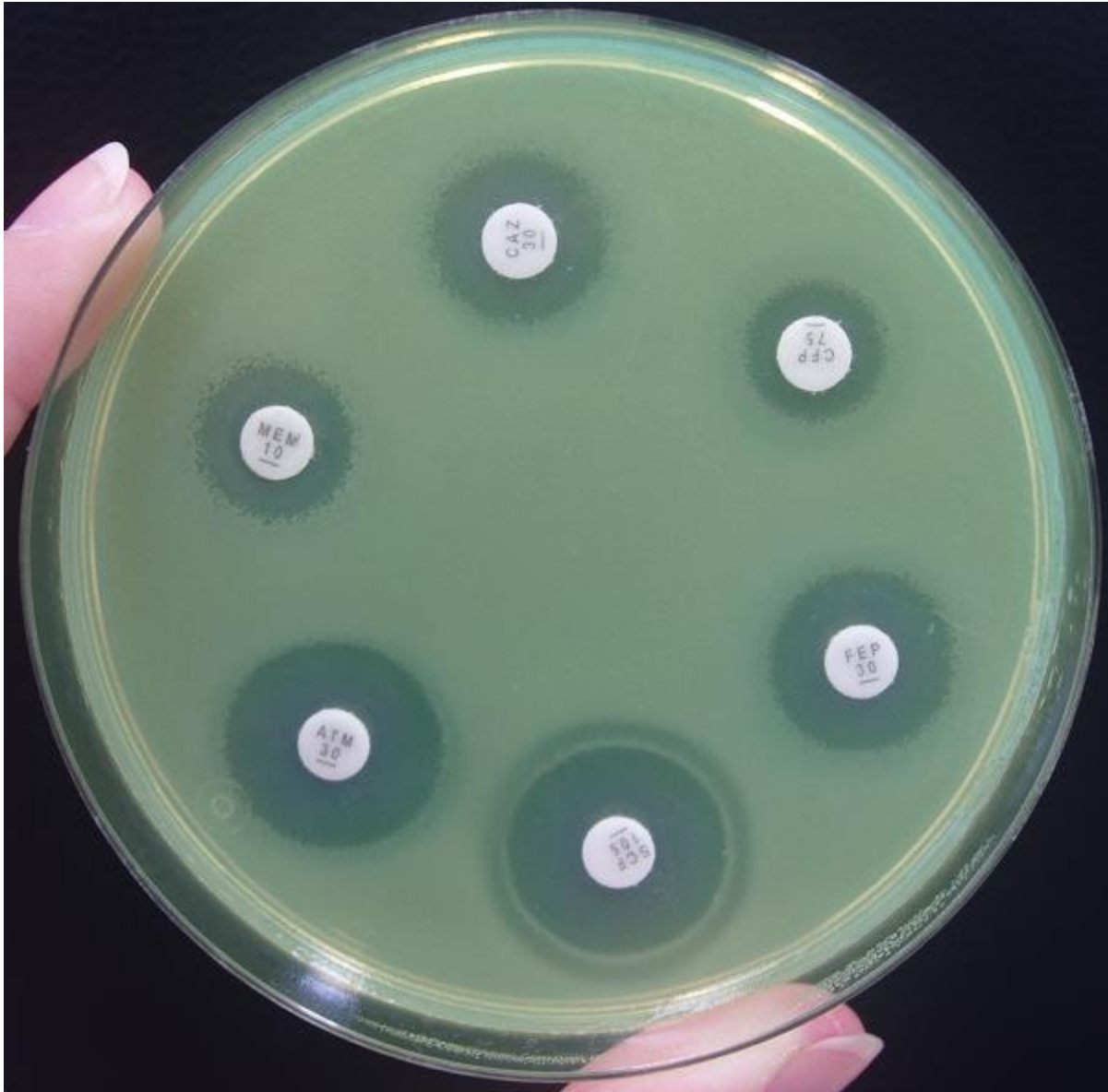
## % rezistence k vybraným antibiotikům, srovnání let 2004 a 2006



Legenda: AMS=ampicilin/sulbactam (Unasyn), PPT=piperacilin/tazobactam (Tazocin), MER=meropenem, CPS=cefoperazon/sulbactam (Sulperazon), CPM=cefepim

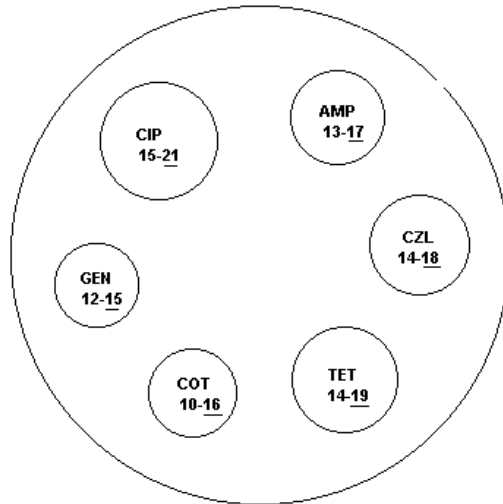
## 2) *Pseudomonas*

- ▶ Gramnegativní tyčinka řazená do čeledi Pseudomonadaceae
- ▶ Nejčastěji izolovaný a klinicky nejvýznamnější druh= *Pseudomonas aeruginosa*
- ▶ Výrazný pigment a vůně, hemolýza na krevním agaru, oxidáza- pozitivní, pohyblivé

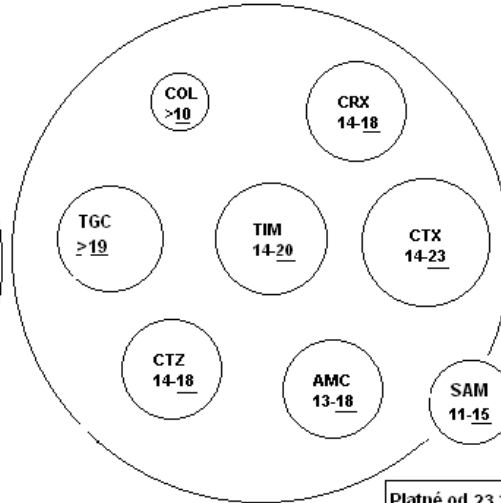


- ▶ Infekce u oslabených lidí
- ▶ Jeden z nejčastějších původců nozokomiálních nákaz (ventilátorové pneumonie, infekce u popálených, osteomyelitidy, otitidy, endoftalmitidy...)
- ▶ Svízelná terapie infekcí vyvolaných pseudomonádami- omezená škála antibiotik k užití i u citlivých kmenů

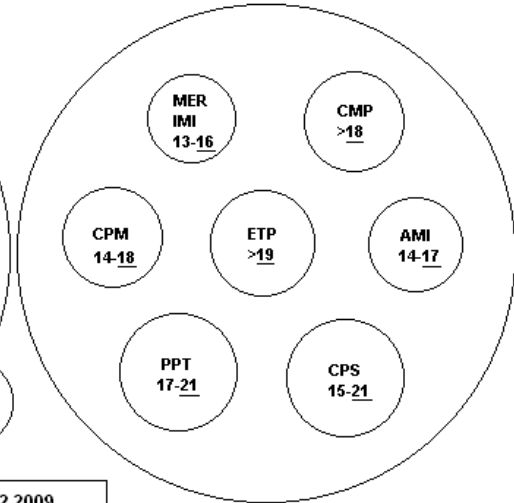
### G-1V



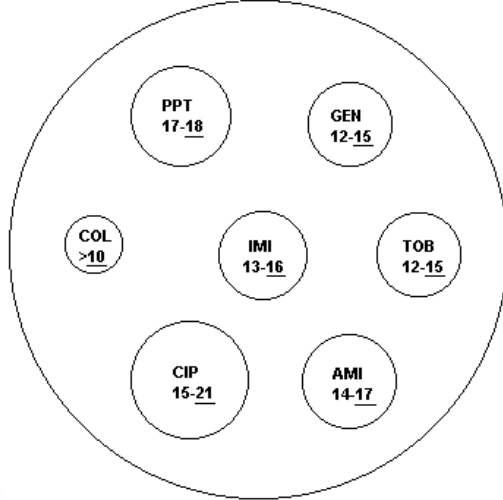
### G-2 V



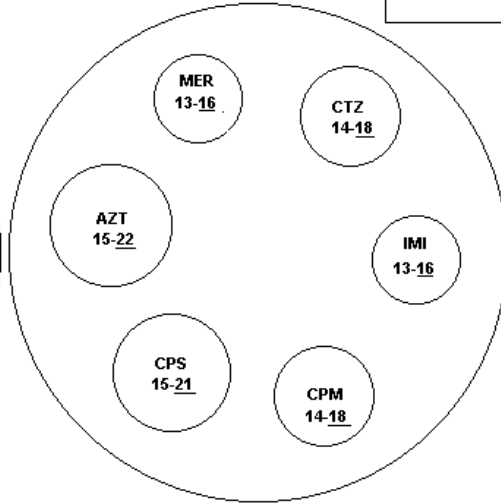
### G-3 V, M



### PS 1



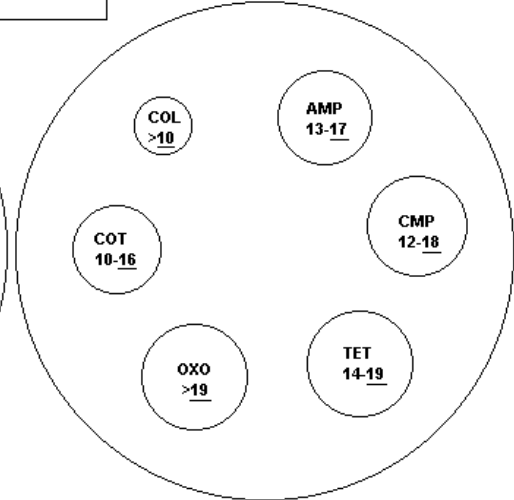
### PS 2



Platné od 23.2.2009

SCHVÁLIL:

### SALM.T.



# Kasuistika

- ▶ Pacient LV, nar.1930, 4.6.2008 přeložen na Neurologickou kliniku FN Brno z FNuSA, kde provedena prostatektomie pro benigní hypertrofii
- ▶ Průběh hospitalizace ve FNuSA komplikován urosepsí vyvolanou citlivým kmenem *Pseudomonas aeruginosa* (PSAE), zaléčen kombinací antibiotik ceftazidim+gentamicin



- ▶ Na NK přijat pro lumbalgie, zjištěn opět uroinfekt vyvolaný PSAE rezistentní k chinolonům, febrilní, CRP 205
- ▶ Indikováno CT páteře, doporučena kombinace antibiotik– opět ceftazidim+gentamicin– ten, vzhledem k horší funkci ledvin v redukované dávce

- ▶ Dle CT a NMR zjištěna spondylodiscitis L3–4, předpokládané agens PSAE (hemokultivace negativní), navýšena dávka ceftazidimu na 12g/den+ ponechán gentamicin–monitorovány hladiny antibiotika v séru a následně zvednuty i dávky gentamicinu

- ▶ **9.6.2008**– CRP pokles na 20, pacient zlepšený, afebrilní, s úlevou bolesti
- ▶ **13.6.2008**– CRP 8, dobrý, atb 10 dní, vysazen gentamicin, ponechána terapie ceftazidimem
- ▶ **23.6.2008**– CRP 1, dobrý, 20 den na ceftazidimu, snížení dávky, na domů?

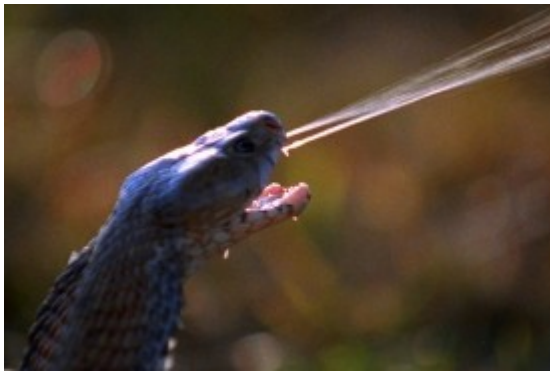
- ▶ Příklad pacienta z oddělení na oddělení– nutnost dlouhodobé terapie u PSAE vyvolané spondylodiscitidy, ale není k dispozici p.o. antibiotikum– parenterální terapie při hospitalizaci pacienta s nízkým CRP a v klinicky dobrém stavu

- ▶ **14.7.2008**– 42 dní i.v. terapie ceftazidimem, CRP nízké, klinicky dobrý, propuštěn bez antibiotik domů
- ▶ **21.7.2008**– opět přijat, ortopedie, CRP 150, febrilní, opět úporné bolesti zad, febrilie, dle CT opět progresse nálezu

- ▶ Opět hospitalizace na různých odděleních FN Brno i FNuSA– nutnost i.v. terapie ceftazidimem ve vyšších dávkách
- ▶ Jednání se ZP ohledně případné i.v. ambulantní aplikace a úhrady léků
- ▶ Pacient léčen za hospitalizace i ambulantně, celková doba terapie se blíží 6 měsícům

# Polyrezistentní kmeny pseudomonád

- ▶ Nejčastější mechanismus rezistence ke karbapenemům – eflux




- Horší mechanismus rezistence- enzymy (**MBL**, KPC)

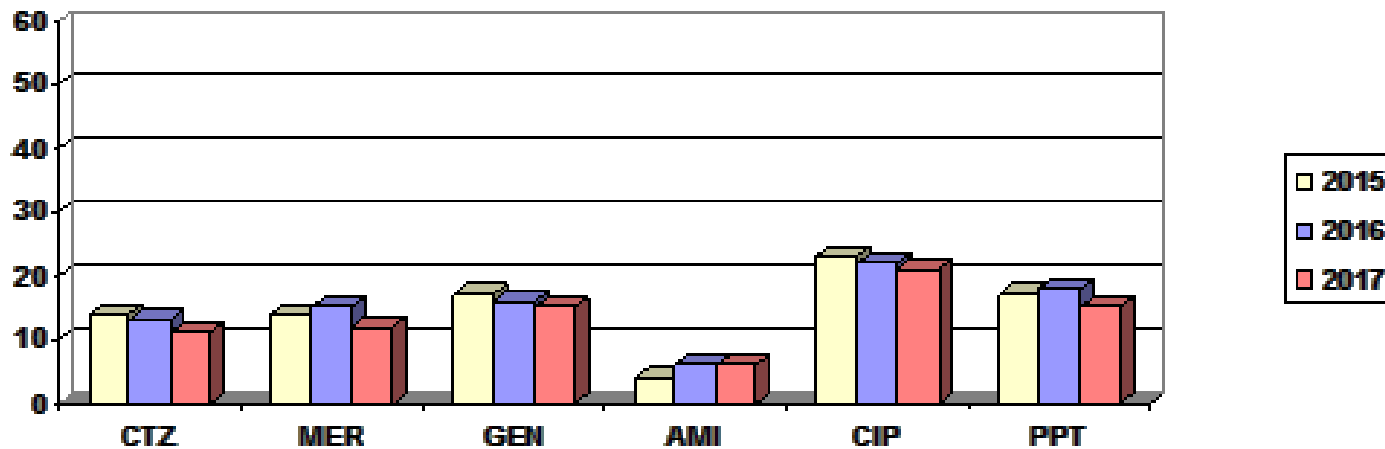




- ▶ Ve FN Brno rozšířený kmen polyrezistentní *Pseudomonas aeruginosa* citlivý pouze ke kolistinu a amikacinu (variabilně)
- ▶ Efluxový mechanismus rezistence
- ▶ Zavlečen do nemocnice v roce 2006 – transport kolonizovaného pacienta

- ▶ V relativně krátké době rozšíření po celé nemocnici
  - ▶ Nejvýrazněji JIP a ARO – vysoké procento ventilovaných pacientů
  - ▶ Odolával snahám o eradikaci
  - ▶ V posledních letech snížení výskytu kmene
- 

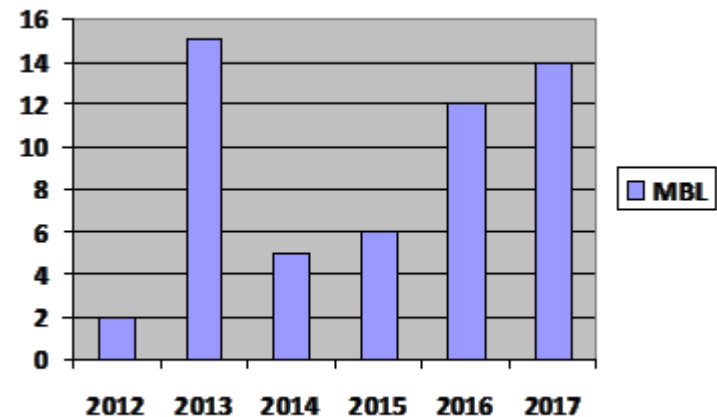
# Rezistence *Pseudomonas aeruginosa*, FN Brno, PMDV



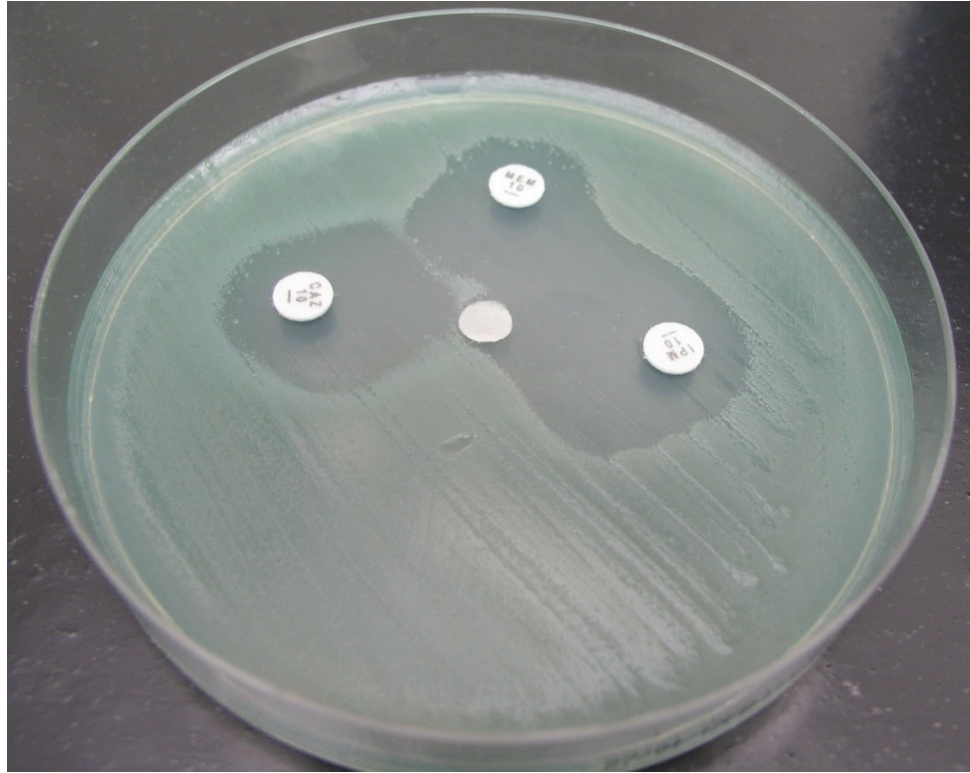
CTX=cefotaxim, CTZ=ceftazidim, KP= karbapenemy (zahrnuje v ČR užívané látky ertapenem, imipenem a meropenem),  
GEN=gentamicin, AMI=amikacin, CIP=ciprofloxacin, AMC=amoxicilin/klavulanová kyselina, PPT=piperacilin/tazobaktam

# Pseudomonády s produkcí MBL

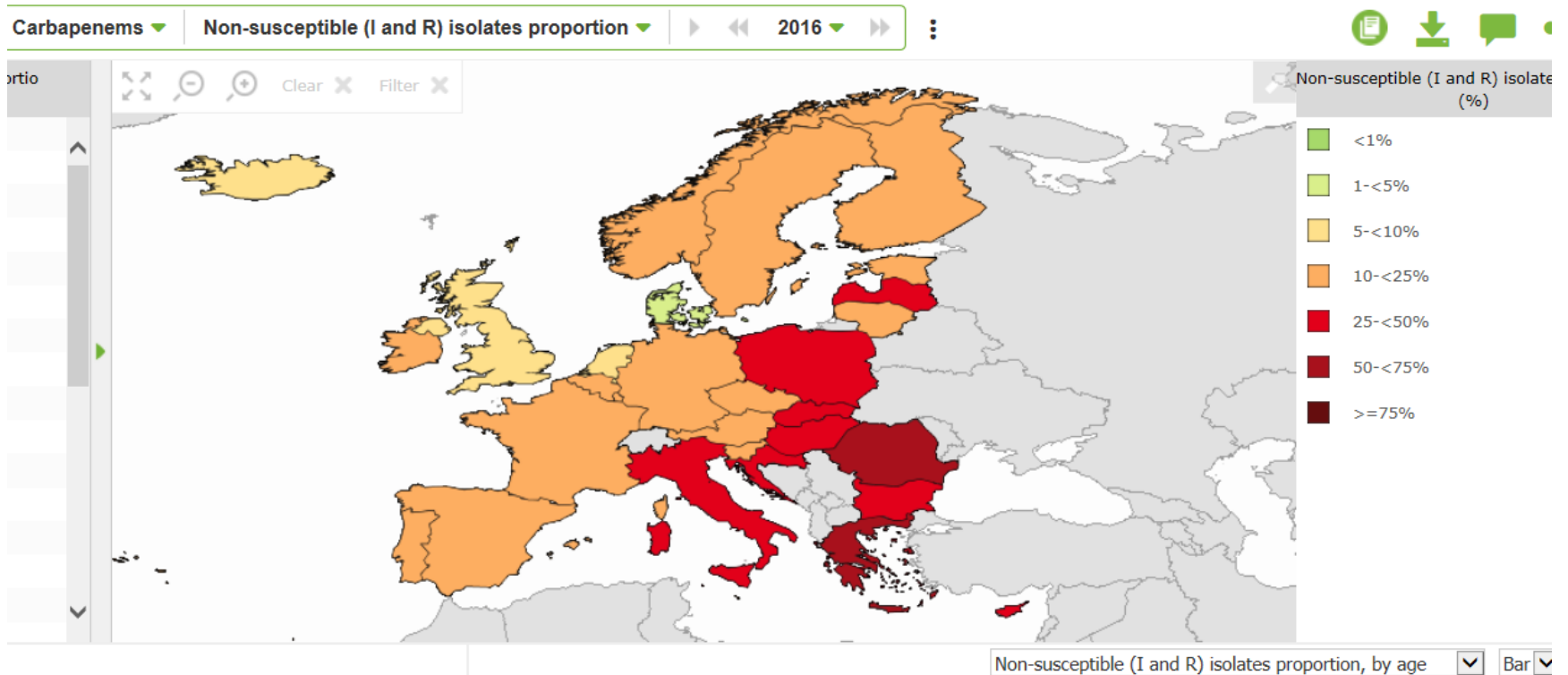
- ▶ Hrozba–kmeny s produkcí metalobetalaktamáz
- ▶ Obtížná terapie infekcí vyvolaných těmito typy pseudomonád
- ▶ Synergie?



Počet pacientů s *Ps.aeruginosa* s produkcí MBL



# Rezistence *P.aeruginosa* ke karbapenemùm, EARS-Net, 2016

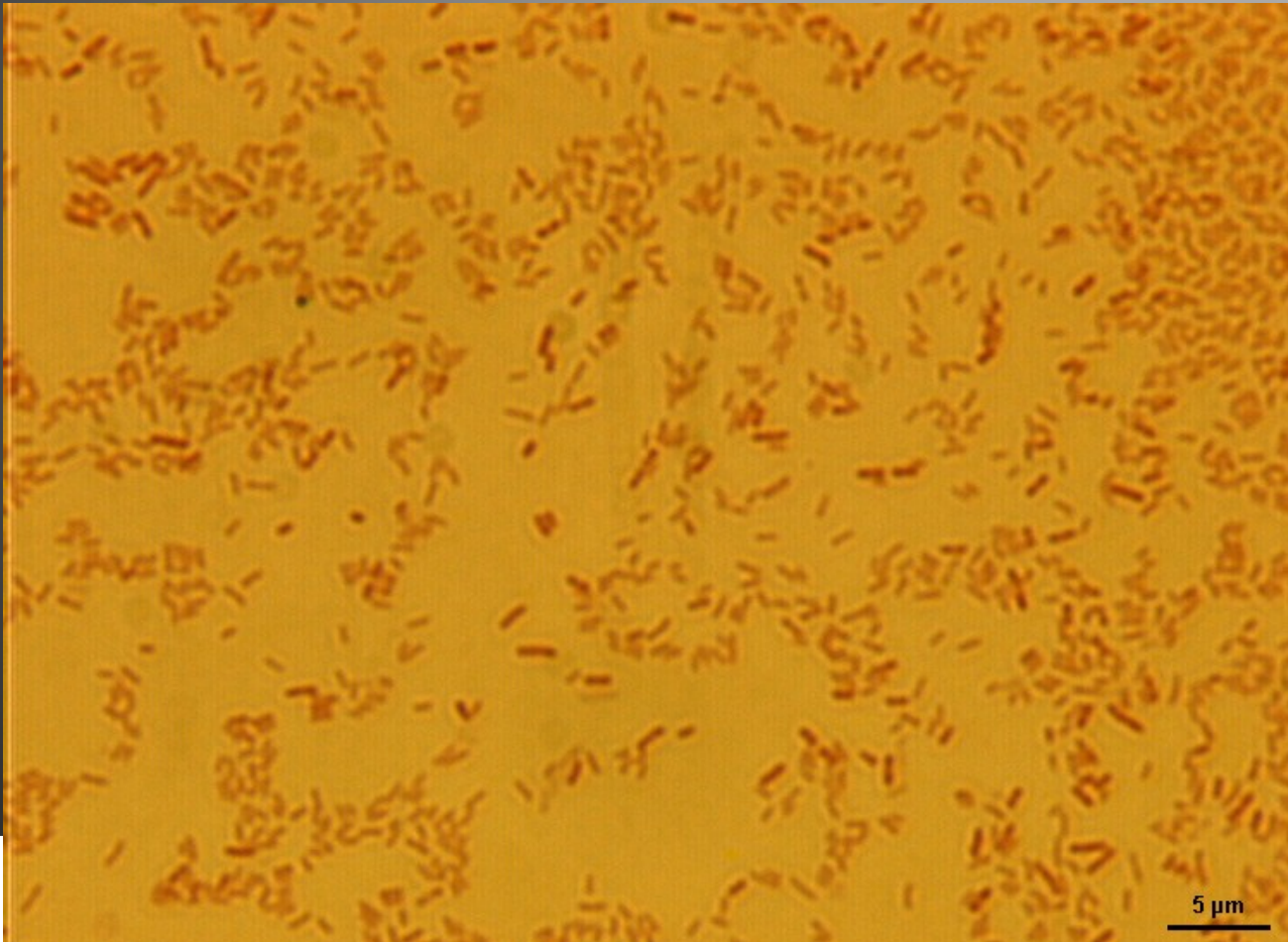


### 3) *Stenotrophomonas*

- Gramnegativní tyčinka, pohyblivá, aerobní, oxidáza negativní (opožděná)
- Čeleď Pseudomonadaceae
- *Stenotrophomonas maltophilia*
- Pseudomonas– Xanthomonas– Stenotrophomonas
- Přirozená rezistence k meropenemu, polyrezistentní


- ▶ Původce nozokomiálních infekcí:
  - ▶ bakteriémie
  - ▶ pneumonie
  - ▶ meningitidy
  - ▶ rané infekce
  - ▶ močového traktu





## 4) *Burkholderia*

- ▶ Gramnegativní tyčinka, pohyblivá, oxidáza-pozitivní
- ▶ Čeď Pseudomonadaceae
- ▶ V roce 1949 popsána Walterem Burkholderem jako původce onemocnění cibule (cepa=cibule)

- ▶ Oportunní patogen
  - ▶ Původce nozokomiálních infekcí
  - ▶ Nejvíce infekcí vyvolaných burkholderiemi u:
    1. nemocných s chlopenními náhradami a cévními implantáty
    2. nemocných s cystickou fibrózou
- 

- ▶ Ve FN Brno se nejčastěji setkáváme s infekcí *Burkholderia cepacia* u pacientů s cystickou fibrózou (centrum pro léčbu CF)
- ▶ CF– onemocnění s poruchou metabolismu minerálů a tvorby hlenu– v dýchacích cestách se tvoří hustý, vazký hlen, který je blokuje a je živnou půdou pro mikroorganismy

- ▶ Opakované infekce dýchacích cest vyvolané polyrezistentními kmeny– *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa*
- ▶ Kmeny *B.cepacia* u pacientů s CF jsou nezářídka rezistentní ke **všem dostupným antibiotikům**

Odesílá FN Brno  
Oddělení klinické mikrobiologie  
Prim. MUDr. Alena Ševčíková  
Jihlavská 20  
62500 Brno - Bohunice

KNPT FN Brno  
Oddělení: KNPT-amb.přím.,2565  
Jihlavská 20  
625 00 Brno

Pro přednotku: KNPT-amb.přím.,2565

Pacient :  
Vyzádal :  
Diagnóza :  
Komentář :  
Vyšetření: Kulturašni vyšetření - Sputum

Odebrán: 5.11.2009: 00:00  
Přijat: 5.11.2009: 12:37  
Odeslán: 10.11.2009: 11:52  
Číslo: 44/2009/1  
Kdo hradi: VZP

Aerobní kultivace:

Nález: Pědění sputa 10 na -7 Burkholderia cepacia

Stanovení kvalitativní citlivosti na antibiotika:

ampicilin.....R	Cefoper/sulb.(Sulperazon)...R
Augmentin, Unasyn.....R	cefepim (Maxipim).....R
piper./tazobact.(Tazocin)...R	ciprofloxacin (Ciprobay)...R
chloramfenikol.....R	kolistin.....R
tetracyklin.....R	gentamicin.....R
cotrimoxazol (Septrin).....R	amikacin.....R
cefazolin (Kefzol), cefalot...R	tebramycin (Breviamycin)...R
cefuroxim (Zinacef, Zinnat)...R	meropenem.....R
ceftazidim (Fortum).....R	aztreonam (Azactam).....R
cefotaxim (Claforan).....R	

Nález: Pědění sputa 10 na -5 Candida albicans

Stanovení kvalitativní citlivosti na antimykotika:

Fluconazol (Mycamax).....C

Mikroskopické vyšetření materiálů:

Epitelie.....	ojediněle
Leukocyty.....	++
G+ koky ve dvojicích.....	ojediněle
G- koky v řetězích.....	ojediněle
G- diplokoky.....	ojediněle
G- tyčinky.....	++
Kvasinky.....	ojediněle

Vysvětlivka ke kvantitativnímu zpracování sputa:  
nález v pědění 10 na -3: pravděp. neide o inf. DCD

- ▶ Prognosticky významný faktor (přežití)
- ▶ Transplantace plic – některá centra absolutní kontraindikace
- ▶ Multirezistence – panrezistence
- ▶ Eradikace velmi nepravděpodobná
- ▶ Závažné psychosociální aspekty izolace kolonizovaných

- ▶ Terapie těchto infekcí je velmi složitá
- ▶ V mikrobiologické laboratoři se zkoušejí „synergie antibiotik“ = pokud nefunguje ani jedno antibiotikum samotné, zda nefunguje některá z kombinací
- ▶ Účinnost in vivo nejistá



	Fermentace glukózy	Růst	Doba kultivace	Patogenita	Stanovení citlivosti
<b>PSAE</b>	Ne	Typický běžné půdy	24	oportunní častý	MIC i disková metoda
<b>ACCA</b>	Ne	Ne typický běžné půdy	24	oportunní	MIC i disková metoda
<b>STMA</b>	Ne	Ne typický běžné půdy	48	oportunní	MIC
<b>BUCE</b>	Ne	Ne typický běžné půdy	48	oportunní CF	MIC

PSAE=*Pseudomonas aeruginosa*, ACCA=*Acinetobacter sp.*, STMA=*Stenotrophomonas maltophilia*, BUCE=*Burholderia cepacia*

Děkuji za pozornost

