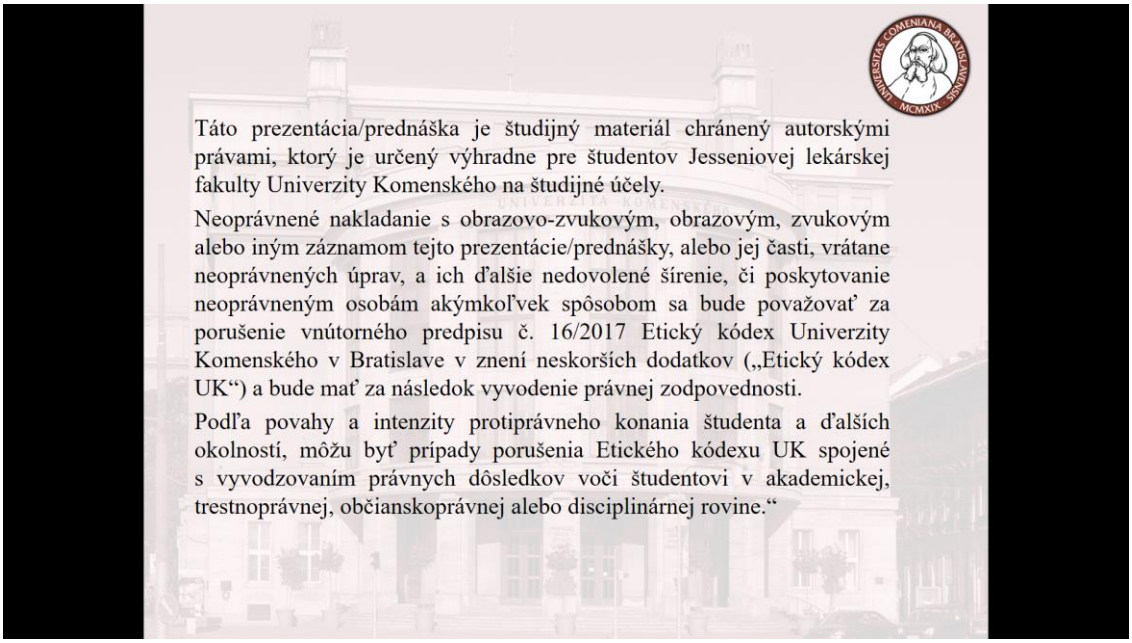
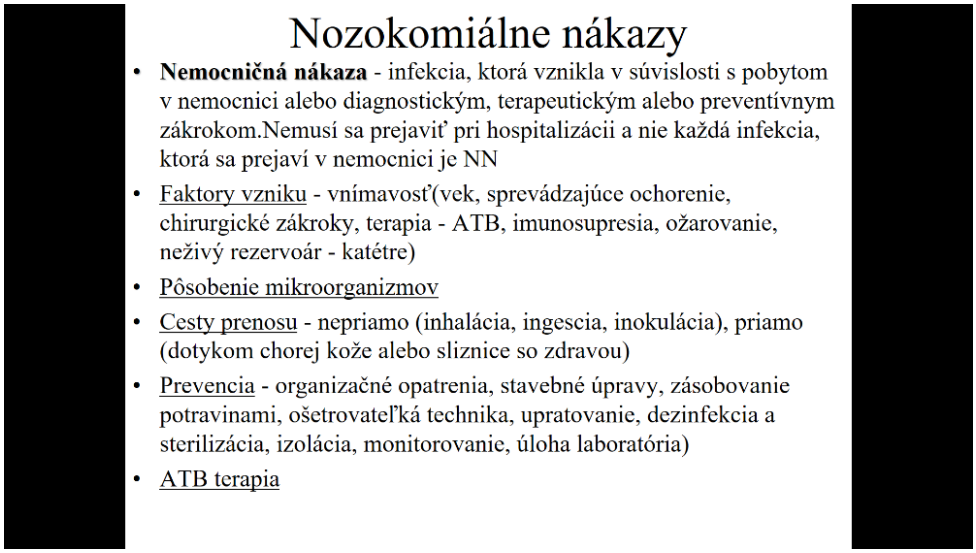

Táto prezentácia/prednáška je študijný materiál chránený autorskými právami, ktorý je určený výhradne pre študentov Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského na študijné účely.

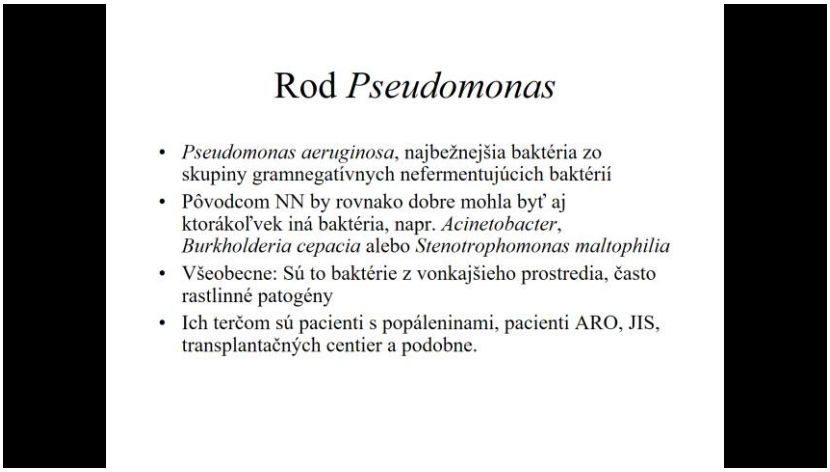
Neoprávnené nakladanie s obrazovo-zvukovým, obrazovým, zvukovým alebo iným záznamom tejto prezentácie/prednášky, alebo jej časti, vrátane neoprávnených úprav, a ich ďalšie nedovolené šírenie, či poskytovanie neoprávneným osobám akýmkoľvek spôsobom sa bude považovať za porušenie vnútorného predpisu č. 16/2017 Etický kódex Univerzity Komenského v Bratislave v znení neskorších dodatkov („Etický kódex UK“) a bude mať za následok vyvodenie právnej zodpovednosti.

Podľa povahy a intenzity protiprávneho konania študenta a ďalších okolností, môžu byť prípady porušenia Etického kódexu UK spojené s vyvodzovaním právnych dôsledkov voči študentovi v akademickej, trestnoprávnej, občianskoprávnej alebo disciplinárnej rovine.“



Úloha mikroorganizmov u NN

- *Staphylococcus aureus* - problematika per secundam hojacich sa rán (70. roky). Virulencia, schopnosť kolonizovať, nástup rezistencie - MRSA - meticilin rezistentné stafylokoky (80. roky)
- G- paličky (60% NN) - močové infekcie, respiračné infekcie, infekcie rán a GIT
- Podmienečne patogénne mikroorganizmy - *Ps. aeruginosa* (Nemocničné prostredie – v potravinách, rezané kvety, uteráky, mopy, respiračné prístroje, dezinfekčné roztoky. Perzistentné nosičstvo menej ako 6% u zdravých, 38% u hospitalizovaných, 78% imunokompromitovaných) a ostatné nefermentujúce G- paličky - *Acinetobacter, Stenotrophomonas maltophilia, Burkholderia cepacia*… - prítomné v prostredí (*Legionella pneumophila* - klimatizácia)
- PK negatívne stafylokoky - kolonizujúce umelý materiál
- Vírusy - krvou prenosné HIV, VHB, VHC, CMV



Rod: Pseudomonas

druh: aeruginosa

Charakteristika Pseudomonády sú gramnegatívne paličky, pohyblivé, obvykle striktne aeróbne so slabou biochemickou aktivitou (nefermentujúce paličky). Sú veľmi odolné voči vonkajším podmienkam, znášajú vysokú koncentráciu soli, farbivá, niektoré antiseptiká a sú rezistentné na väčšinu antibiotík. Sú schopné rásť pri zvýšenej teplote (42°C). Sú oxidáza-pozitívne, činm sa odlišujú od príslušníkov čeľade Enterobacteriaceae. Existuje viac ako 140 druhov pseudomonád. Obvykle sú to saprofytické mikroorganizmy prítomné vo vonkajšom prostredí (voda pitná aj bazénová, pôda, rastliny, kvety). Vo vzťahu k ochoreniam ľudí sú považované za podmienečne patogénne mikroorganizmy s výnimkou dvoch patogénnych zástupcov, P. mallei a P. pseudomallei, ktoré sú etiologickým agensom špecifických ochorení melidióza resp. pseudomelidióza. Ostatné pseudomonády a nefermentujúce gramnegatívne paličky sú medicínsky významné, pretože spôsobujú závažné infekcie u pacientov so zníženou imunitou (infekcie u pacientov s cystickou fibrózou) a u hospitalizovaných pacientov (nozokomiálne infekcie).

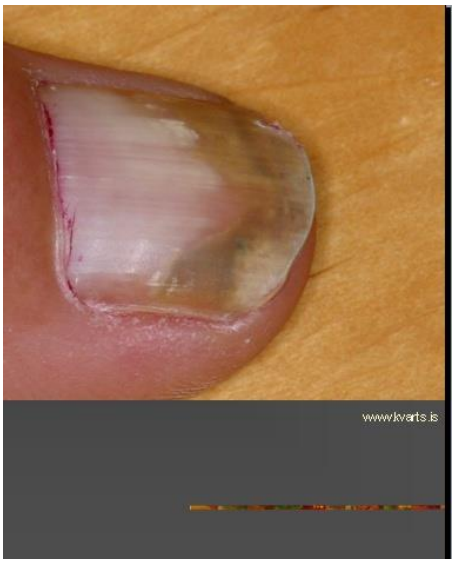
Patogénny potenciál a imunita

Pseudomonády majú typickú stavbu gramnegatívnych baktérií (lipopolysacharid s biologickým účinkom endotoxínu, O-antigén a H-antigén). Niektoré tvoria polysacharidové puzdro. Produkujú viacero exoenzýmov zodpovedných za patogenitu: 120 - hemnolyzín, leukocidín, proteázy, fosfolipáza C - toxín A (ADP ribozyltransferáza) - spôsobuje ribozyláciu translačného EF 2 faktora čím dochádza k strate schopnosti proteosyntézy hostiteľskej bunky (mechanizmus podobný účinku diftérického toxínu) - exoenzým S Polysacharidové puzdro pseudomonád má antifagocytárne vlastnosti. Mnohé pseudomonády produkujú pigment (pyocyanín, pyoverdín, pyorubín). Povrchové fimbrie sú dôležité pri adherencii na sliznice a kožu. Pseudomonas aeruginosa spôsobuje lokalizované infekcie chirurgických rán, popálenín, kože a slizníc (chronická otitis externa, otitis media – plavárenské ucho), často progredujúcich až do fatálnej bakterémie, najmä ak infikujú pacientov s imunodeficitom. Sú častými vyvolávateľmi nozokomiálnych infekcií močového traktu (po katetrizácii) alebo pneumónií (z kontaminovaných respirátorov). Najúčinnejším mechanizmom nešpecifickej imunity je fagocytóza polymorfonukleárnymi leukocytmi. Aktivácia komplementu je často neúčinná. Vývoj špecifickej antitoxickej imunity je dôležitý na úspešné zvládnutie infekcie.

Ochorenia

Pseudomonády sú oportúnne patogény. Obvykle sú to saprofytické mikroorganizmy prítomné vo vonkajšom prostredí (voda pitná aj bazénová, pôda, rastliny, kvety). Osoby s postihnutým imunitným systémom, ako napríklad pacienti infikovaní HIV, príjemcovia transplantátov a pacienti s popáleninami,

sú zvlášť rizikoví pre vznik pseudomonádových infekcií a mortalita u nich môže byť vysoká (napríklad až 90 % pri infekciách srdca). Nozokomiálne infekcie spôsobené P. aeruginosa sú bežné na jednotkách intenzívnej starostlivosti a môžu viesť k fatálnej pneumónii, pri ktorej pacienti trpia produktívnym kašľom, triaškou, dýchacími ťažkosťami a cyanózou. Medzi ďalšie infekcie spôsobené pseudomonádami patria infekcie močového traktu 121 (často po katetrizácie alebo chirurgickej operácii), infekcie mozgu (abscesy a meningitída), infekcie očí a uší. Plavárenské ucho je infekcia vonkajšieho zvukovodu, u starších pacientov sa môže vyvinúť až život ohrozujúca infekcia ucha, ktorá môže spôsobiť paralýzu tvárových svalov. Abrázia rohovky môže viesť k infekcii a k tvorbe vredov na rohovke, ktoré, pokiaľ sa neliečia, vedú k ťažkému poškodeniu alebo až k strate zraku. Niektoré očné prípravky a dlhodobé používanie kontaktných šošoviek môžu vyvolať opakovanie infekcie.



Plavárenské ucho

https://diyhealth.com/swimmers-ear-infection.html

Laboratórna diagnostika a liečba

Kultivačný dôkaz pseudomonád je nenáročný. Kultivácia je úspešná na krvnom agare alebo na selektívnych pôdach pre gramnegatívne paličky. Identifikáciu uľahčuje prítomnosť charakteristických pigmentovaných kolónií, (zelenožltý, modrozelený, pigment, fluorescencia, ovocná alebo kvetinová vôňa).

Pseudomonas aeruginosa rastie aj pri teplote 42°C.

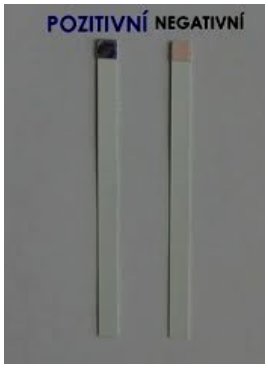
Penicilínové antibiotiká so zvýšenou účinnosťou voči pseudomonádam – meropenem, karbenicilin v kombinácii s gentamycínom alebo tobramycínom sú obvykle účinné. In vitro účinné aminoglykozidy nemusia dosiahnuť potrebnú aktivitu v mieste infekcie in vivo, pretože kyslé prostredie v abscesoch znižuje ich účinnosť. Systémové pseudomonádové infekcie sú život ohrozujúce aj vzhľadom na rezistenciu nozokomiálnych kmeňov (vždy je potrebné stanovenie citlivosti) a imunitný stav pacientov.

Kultivácia P. aeruginosa – produkcia pigmentov Mnohé pseudomonády produkujú pigment, niektoré druhy pigmentov fluoreskujú (pyocyanín, pyoverdín, pyorubín). Pigmentované kolónie sú viditeľné na pôdach bez prídavku krvi. Na krvnom agare rastú vo forme nepravidelných kolónií s perleťovým leskom, ktoré sú obklopené zónou úplnej hemolýzy (β-hemolýza). Kultúry majú charakteristickú vôňu (ako ovocie, jazmín, lipový kvet).

Sú biochemicky málo aktívne (nefermentujúce), od gramnegatívnych enterobaktérií sú odlíšiteľné pozitívnou oxidázovou aktivitou.

Oxidázový test

Filtračný papier napustený parafenylendiamínom a alfa-naftolom priložíme na vyšetrovanú kolóniu alebo priamo na papierik nanesieme vyšetrovanú kolóniu sterilnou bakteriologickou kľučkou. Pozitívny výsledok sa prejaví zmodraním indikačného papierika. P. aeruginosa ma pozitívnu oxidázovú reakciu, test sa používa na odlíšenie P. aeruginosa od ostatných gramnegatívnych paličiek z čeľade Enterobacteriaceae.

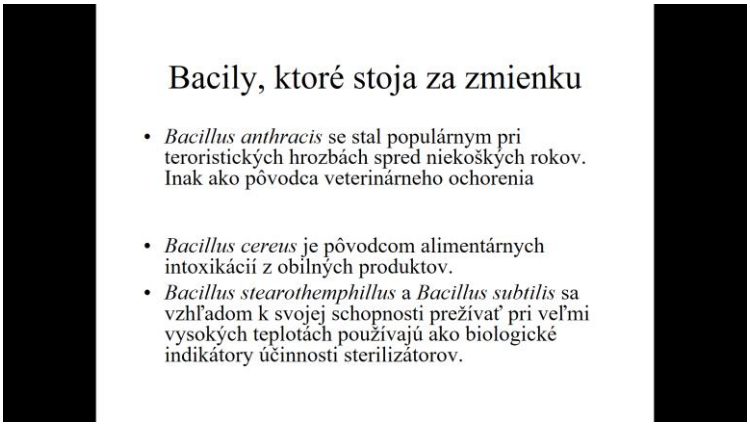


rod Bacillus

druh: anthracis

cereus

subtilis



Charakteristika

Existuje okolo 250 druhov rodu Bacillus. Medicínsky najvýznamnejším predstaviteľom je B. anthracis, ktorý spôsobuje prevažne ochorenie zvierat. Práce Roberta Kocha o antraxe viedli k formulácii Kochových postulátov o identifikácii mikroorganizmov ako etiologických agensov. Pasteur použil teplom inaktivované kmene B. antracis na imunizáciu zvierat. Termín „bacillus“ (bacil) bol pôvodne používaný pre všetky bakteriálne paličky (napr. bacillus Calmet-Guerin) a používal sa aj ako synonymum pre patogénne mikroorganizmy (chrípkový bacil). Jednou zo spoločných vlastností rodu Bacillus je schopnosť baktérií vytvárať spóry.

Patogénny potenciál a imunita

B. anthracis - najdôležitejšími faktormi virulencie B. anthracis sú puzdro, protektívny antigénny toxín, edematózny faktor a letálny toxín. Púzdro B. anthracis je proteínové, inhibuje fagocytózu. Edematózny faktor má adenylátcyklázovú aktivitu, spôsobuje hromadenie tekutiny v tkanivách. Letálny toxín stimuluje uvoľňovanie tumornekrotizujúceho faktoru α (TNF α), interleukínu 1 a ďalších prozápalových cytokínov. Kombinácia toxínov je dôležitá pre vznik ochorenia. Vždy musí byť prítomný letálny toxín. Letálny toxín a edematózny faktor inhibujú imunitný systém hostiteľa. 46 Protektívny antigén je najviac imunogénny, protilátky proti protektívnemu antigénu sú nevyhnutné na zabezpečenie účinnej ochrany.

B. cereus - nástrojom patogenity je imunogénny enterotoxín spôsobujúci hnačku (termolabilný toxín) a vracanie (termostabilný toxín). Termolabilný enterotoxín stimuluje adenylátcyklázový systém v epitelových bunkách čreva, čo vedie k profúznej vodnatej hnačke. Mechanizmus účinku termostabilného enterotoxínu nie je objasnený. U panoftalmitídy vyvolanej B. cereus zohrávajú významnú úlohu toxíny enzýmovej povahy (cereolyzín, nekrotický toxín, fosfolipáza C), ktoré zodpovedajú za tkanivové poškodenie. Ostatné bacily zvyčajne neprodukujú toxíny, môžu vytvárať antibakteriálne látky (napr. bacitracín, B. polymyxa – polymyxin)

Ochorenia

Bacily sú rozšírené po celom svete, sú prítomné v pôde vo forme spór, ktoré prežívajú roky aj v nepriaznivých klimatických podmienkach. ***Bacillus anthracis*** vyvoláva antrax, ktorý sa u ľudí vyskytuje hlavne ako profesionálna nákaza pri kontakte s infikovaným zvieraťom alebo jeho produktami (vlna, koža).

Podľa cesty prenosu existujú 3 typy antraxu u ľudí:

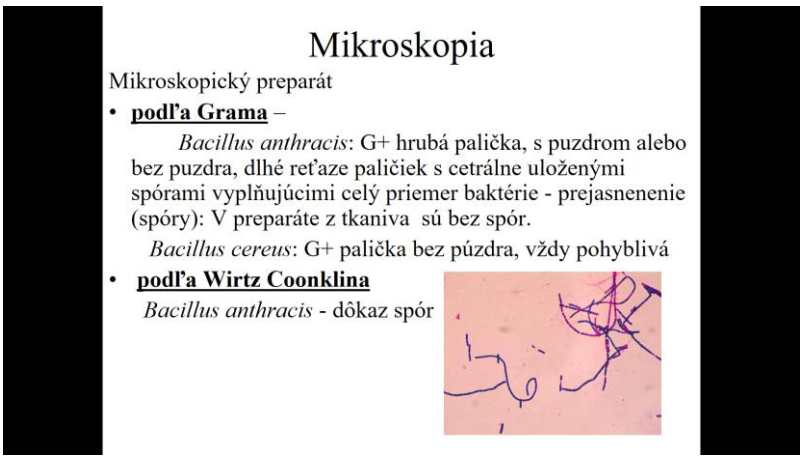
- kožný antrax (čierny vred), vyvíjajúci sa po inokulácii spór. Je to najčastejšia forma antraxu. V mieste inokulácie spór vzniká najprv nebolestivá papula, z ktorej sa postupne stáva vred ohraničený vezikulami, napokon vzniká nekrotický príškvar (eschar). Šírenie baktérie do krvi, lymfatických uzlín a následnej toxickej septikémie s letálnym koncom je častejšie po chirurgickom zákroku (spontánne dochádza k šíreniu baktérií do krvi len asi u 5% infikovaných).

- inhalačný antrax – inhalované spóry sú pohltené makrofágmi a transportované do regionálnych lymfatických uzlín, ktoré nekrotizujú a krvácajú. Táto forma je letálna v 90% infikovaných. Inhalačný antrax je často spojený s dlhou dobou latencie (aj viac ako 2 mesiace), počas ktorej je pacient asymptomatický. Počiatočné klinické príznaky ochorenia sú nešpecifické, pacient môže mať horúčku, neproduktívny kašeľ a bolesti svalov. V ďalšej fáze ochorenia dochádza k rapídnemu zhoršeniu stavu, pacient má vysoké horúčky, edém a masívne zväčšenie mediastinálnych lymfatických uzlín. Takmer u všetkých prípadov inhalačného antraxu dochádza v priebehu 3 dní od nástupu príznakov k rozvoju šokového stavu a k smrti.

- gastrointestinálny antrax – je u ľudí veľmi zriedkavý, vzniká po ingescii spór. Podľa miesta vstupu sa infekcia klinicky prejavuje buď tvorbou vredov v ústach a v pažeráku (vstup spór v hornej časti GIT), alebo nevoľnosťou, vracaním a rýchlou progresiou systémovej infekcie (vstup spór cez hrubé črevo a terminálne ileum), rozvojom nekrotizujúcej enterokolitídy s následnou septikémiou a letalitou viac ako 50%.

B. cereus vyvoláva intoxikáciu z potravín po ingescii toxínov, vracanie sa objaví po 1-6 hodinách, termolabilný toxín sa vytvorí po germinácii spór požitých obvykle v kontaminovanom mäse a zelenine. Táto forma sa prejaví ako hnačka po 8-12 hodinách. Prepuknutie intoxikácie spôsobenej B. cereus je obvykle sporadické. Typické bolo lokálne nahromadenie prípadov intoxikácie po požití praženej ryže v reštauráciách. Penetrujúce poranenie oka môže pri kontaminácii vniknutého nástroja spôsobiť panoftalmitídu s letálnymi následkami. V súčasnoti sa vyskytli endoftalmitídy po intraokulárnej aplikácii spórami kontaminovaných umelých šošoviek pre kataraktu.

Laboratórna diagnostika



Wirtz-Coonklin farbenie spór

- **Diferenciačné farbenie na spóry**
- **Sporoformné baktérie – telá červené**
- **Spóry – zelené**

Postup pri Wirtz-Coonklin farbení

- **Preparát prevrstviť 5 % malachitovou zelenou**
- **Zahrievať zo spodu do výstupu pár 3-krát**
- **Opláchnuť pod tečúcou vodou**
- **Dofarbiť zriedeným karbolfuchsínom (alebo safranínom) 2 min**
- **Preparát sa opláchne tečúcou vodou, vysuší a prezerá pri 400-1000 násobnom zväčšení**

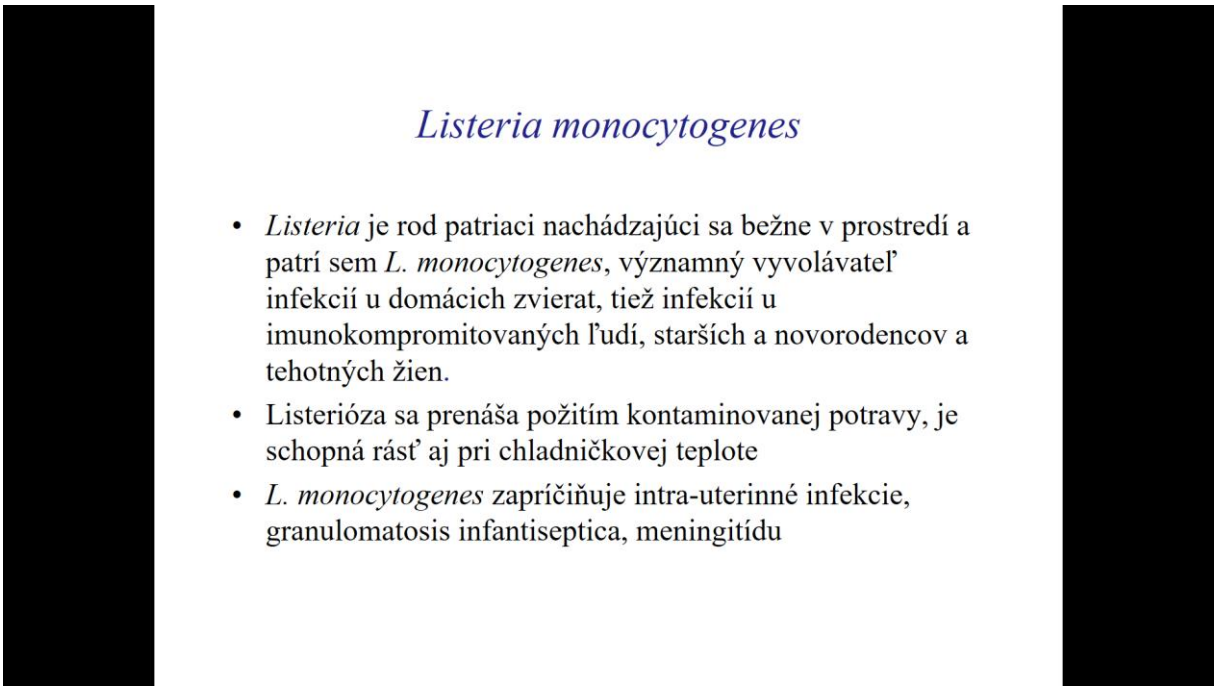
Kultivácia

- ***B. anthracis* na KA** - aeróbna, fakult. anaeróbna palička, t.14- 45°C, malé šedavé adherujúce kolónie, paličky sa ukladajú paralelne a tak aj rastú - obraz *caput medusae,* kolónie s vlnovitými okrajmi. Opuzdrené kolónie sú jemné, neopuzdrené - drsné, Staršie kolónie vyrastajúce v aeróbnom prostredí obsahujú spóry - suchý vráskavý vzhľad. Rast na pôde s nízkou koncentráciou PNC - vo forme šnúry perál, nehemolyzuje
- ***B. cereus* na KA** - netvorí puzdro, šedavé veľké kolónie, beta-hemolýza výrazná, nepravidelné okraje kolónií, suchý drsný povrch

- B. anthracis

B. cereus

Listeria monocytogenes



Charakteristika

Rod listéria zahŕňa 10 druhov, patogénne sú L. monocytogenes (ľudský patogén) a L. ivanovii (zvierací patogén). Listérie sú grampozitívne, fakultatívne anaeróbne paličky, obsahujú lipopolysacharid (LPS) s endotoxínovou aktivitou. Sú nesporulujúce, kataláza-pozitívne, na krvnom agare vytvárajú β-hemolýzu. Pohyblivé sú pri izbovej teplote (20°C).

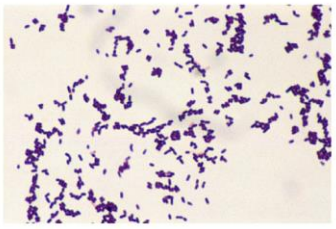
Patogénny potenciál a imunita

Listéria je fakultatívne intracelulárny patogén. Človek sa najčastejšie nakazí od infikovaných zvierat (zoonóza). Infekcia u ľudí vznikne po ingescii zvieratami kontaminovaných surových potravín (mlieko, zelenina). Listérie odolávajú pôsobeniu proteolytických enzýmov, žalúdočnej kyseline a žlčovým soliam, adherujú na hostiteľské bunky, penetrujú do vnútra. V kyslom prostredí fagolyzozómov dochádza k produkcii cytolyzínu (listeriolysín O) a fosfolipázy C, ktoré zabezpečia uvoľnenie baktérií do cytoplazmy, kde prebieha množenie. Humorálna imunita nezohráva významnú úlohu v obrane proti infekcii, kontrolu infekcie zabezpečuje bunková imunita.

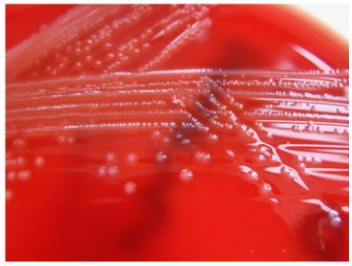
Ochorenia

Infekcie vyvolané listériami sa prejavujú najmä u imunosuprimovaných pacientov, starších ľudí, tehotných žien a novorodencov. U imunokompromitovaných a starších ľudí spôsobujú meningitídu alebo sepsu. Baktérie môžu kolonizovať genitálny trakt žien a vyvolať perinatálnu infekciu novorodenca – novorodenenckú meningitídu. Pri primoinfekcii tehotnej ženy môže dôjsť k intrauterinnej infekcii plodu a k jeho odumretiu, alebo sa dieťa narodí s výrazným poškodením orgánov a s mnohopočetným granulómami – granulomatosis infantiseptica.

Listeria monocytogenes



- G +, nesporulujúca palička
- β-hemolýza na KA
- Nepohyblivá pri 37°C
- Charakteristický pohyb „kotrmelcový“ pri 25°C.
- *Liečba:* ampicilin, penicilin, vancomycin, tetracycliny, aminoglycoziidy a co-trimoxazole.
- Liekom voľby ampicilín



Použitá literatúra:

Kompaníková Jana, Elena Nováková, Martina Neuschlová: Mikrobiológia nielen pre medikov - 2. upravené a doplnené vydanie. Multimediálna podpora výučby klinických a zdravotníckych disciplín :: Portál Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského [online] , [cit. 22. 10. 2020]. https://portal.jfmed.uniba.sk//clanky.php?aid=398. ISSN 1337-7396.