

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI  
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

# **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**2024**

**Pavla Baumruková**

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví (B5345)

**Pavla Baumruková**

Studijní obor: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví (B0914P360004)

**PATOGENNÍ ENTEROBAKTERIE A JEJICH  
LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA**

**Bakalářská práce**

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

PLZEŇ 2024

Zde se v tištěné verzi nachází zadání bakalářské práce s razítkem.

Zde se v tištěné verzi nachází zadání bakalářské práce s razítkem.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité prameny jsem uvedla v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 28. 3. 2024

.....

vlastnoruční podpis

## **Abstrakt**

Příjmení a jméno: Baumruková Pavla

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Patogenní enterobakterie a jejich laboratorní diagnostika

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Počet stran – číslované: 56

Počet stran – nečíslované: 29

Počet příloh: 8

Počet titulů použité literatury: 30

Klíčová slova: enterobakterie, střevní patogeny, patogeneze, bakteriální průjmy, laboratorní diagnostika, kultivace, ENTEROtest, MALDI-TOF MS, zpětná aglutinace

### **Souhrn:**

Bakalářská práce se zabývá problematikou vybraných patogenů gastrointestinálního traktu a jejich laboratorní diagnostikou ve FN Plzeň. Je rozdělena na dvě části, teoretickou a praktickou. V teoretické části jsou po seznámení s obecnými vlastnostmi enterobakterií zmíněny epidemiologicky nejznámější druhy. U jednotlivých druhů je popsána morfologie, kultivace a biochemické vlastnosti, patogeneze, vyvolané infekce a terapie. Poslední kapitola teoretické části představuje laboratorní diagnostiku, ve které jsou zmíněny všechny možné metody, které lze provádět k identifikaci enterobakterií. Praktická část se zabývá laboratorní diagnostikou enterobakterií ve FN Plzeň, analýzou a interpretací výsledků. Pro interpretaci výsledků byl použit sběr dat za období 2020 až 2023 z Ústavu mikrobiologie FN Plzeň. Výsledná data z Laboratorního informačního systému jsou zhodnocena. Bylo zjištěno, že nejvíce z čeledi enterobakterií vyvolávaly střevní infekce salmonely, a to až z 89 %.

## **Abstract**

Surname and name: Baumruková Pavla

Department: Department of Rescue Services, Diagnostic Fields and Public Health

Title of thesis: Pathogenic enterobacteria and their laboratory diagnostics

Consultant: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Number of pages – numbered: 56

Number of pages – unnumbered: 29

Number of appendices: 8

Number of literature items used: 30

Keywords: enterobacteria, intestinal pathogens, pathogenesis, bacterial diarrhea, laboratory diagnostics, cultivation, ENTEROtest, MALDI-TOF MS, reverse agglutination

### Summary:

The bachelor thesis deals with the issue of selected pathogens of the gastrointestinal tract and their laboratory diagnostics in the University Hospital in Pilsen. It is divided into two parts, theoretical and practical. In the theoretical part, the most epidemiologically well-known species are mentioned after introducing the general characteristics of enterobacteria. The morphology, cultivation and biochemical properties, pathogenesis, induced infections and therapies are described for each species. The last chapter of the theoretical part is laboratory diagnostics, in which all possible methods that can be performed to identify individual Enterobacteriaceae are mentioned. The practical part deals with the laboratory diagnostics of enterobacteria at the University Hospital in Pilsen, analysis and interpretation of results. For the interpretation of the results, data collection for the period 2020 to 2023 from the Institute of Microbiology of the Pilsen University Hospital was used. The resulting data from the Laboratory Information System are evaluated. It was found that Salmonella was the most frequent enterobacteria causing intestinal infections, accounting for 89 %.

## **Předmluva**

Téma bakalářské práce jsem si vybrala především kvůli zájmu o obor mikrobiologie. Analýza střevních patogenů mě zaujala na základě mnou prodělané infekci, kterou způsobila bakterie *Escherichia coli*. Díky tomu jsem se chtěla více informovat o jednotlivých bakteriích vyvolávající převážně střevní infekce a o možných způsobech laboratorní diagnostiky. Cílem bakalářské práce bylo zmapovat vybrané patogeny vyskytující se v gastrointestinálním traktu, které byly diagnostikovány ve FN Plzeň v období 2020 až 2023, a vyhodnotit získaná data z laboratoře.

## **Poděkování**

Děkuji RNDr. Karlovi Fajfrlíkovi, Ph.D. za odborné vedení práce, čas a poskytování rad a materiálních podkladů. Dále děkuji Mgr. Markétě Stejskalové za poskytnutí dat a obrázků z FN Plzeň.



# OBSAH

SEZNAM GRAFŮ .....	13
SEZNAM OBRÁZKŮ .....	14
SEZNAM TABULEK .....	15
SEZNAM ZKRATEK .....	16
ÚVOD.....	18
TEORETICKÁ ČÁST .....	19
1 ČELEĎ <i>ENTEROBACTERIACEAE</i> .....	19
1.1 Morfologie .....	19
1.2 Kultivace .....	20
1.3 Biochemické vlastnosti .....	20
1.4 Antigenní struktura .....	20
1.5 Výskyt.....	21
1.6 Faktory virulence .....	21
1.7 Epidemiologie .....	22
1.8 Terapie .....	23
1.9 Protiepidemická opatření .....	23
2 NEJVÝZNAMNĚJŠÍ ZÁSTUPCI .....	24
2.1 Rod <i>Salmonella</i> .....	24
A. Primárně antropopatogenní salmonely.....	24
2.1.1 Morfologie .....	25
2.1.2 Kultivace a biochemické vlastnosti .....	25
2.1.3 Patogeneze .....	25
2.1.4 Břišní tyfus a paratyfus.....	27
2.1.5 Terapie .....	27
B. Primárně zoopatogenní salmonely .....	28
2.1.6 Morfologie, kultivace a biochemické vlastnosti.....	28
2.1.7 Patogeneze .....	28
2.1.8 Salmonelóza .....	29
2.1.9 Terapie .....	29
2.2 Rod <i>Shigella</i> .....	30
2.2.1 Morfologie .....	30
2.2.2 Kultivace a biochemické vlastnosti .....	31
2.2.3 Patogeneze .....	31
2.2.4 Bacilární úplavice (shigelóza, dysenterie).....	32
2.2.5 Terapie .....	32

2.3	Rod <i>Yersinia</i> .....	32
A.	<i>Yersinia pestis</i> .....	33
2.3.1	Morfologie .....	33
2.3.2	Kultivace a biochemické vlastnosti .....	33
2.3.3	Patogeneze .....	34
2.3.4	Mor .....	34
2.3.5	Terapie .....	35
B.	<i>Yersinia enterocolitica</i> a <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> .....	35
2.3.6	Morfologie .....	36
2.3.7	Kultivace a biochemické vlastnosti .....	36
2.3.8	Patogeneze .....	36
2.3.9	Yersinióza a pseudotuberkulóza .....	37
2.3.10	Terapie a prevence .....	37
2.4	Rod <i>Escherichia</i> .....	38
2.4.1	Morfologie .....	38
2.4.2	Kultivace a biochemické vlastnosti .....	38
2.4.3	Patogeneze a onemocnění .....	39
2.4.4	Terapie .....	42
3	OSTATNÍ ENTEROBAKTERIE .....	43
3.1	Rod <i>Klebsiella</i> .....	43
3.1.1	Patogeneze a onemocnění .....	43
3.1.2	Terapie .....	43
3.2	Rod <i>Proteus</i> .....	44
3.2.1	Patogeneze a onemocnění .....	44
3.2.2	Terapie .....	44
3.3	Rod <i>Enterobacter</i> .....	45
3.3.1	Patogeneze a onemocnění .....	45
3.3.2	Terapie .....	45
3.4	Rod <i>Serratia</i> .....	45
3.4.1	Patogeneze a onemocnění .....	46
3.4.2	Terapie .....	46
3.5	Další zástupci .....	46
4	LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA ENTEROBAKTERIÍ .....	48
4.1	Kultivace .....	48
4.2	Mikroskopie .....	48
4.3	Testování citlivosti na antibiotika .....	48
4.4	Fenotypová identifikace .....	48

4.4.1	Biochemická identifikace .....	48
4.4.2	Hmotnostní spektrometrie .....	49
4.5	Průkaz antigenu.....	49
4.5.1	Aglutinace.....	50
4.5.2	ELISA.....	50
4.6	Genotypová identifikace .....	50
4.7	Molekulární epidemiologie.....	50
4.8	Průkaz toxinu .....	51
	PRAKTICKÁ ČÁST .....	52
5	CÍL A ÚKOLY PRÁCE .....	52
5.1	Hlavní cíl.....	52
5.2	Dílčí cíle.....	52
6	VÝZKUMNÉ OTÁZKY .....	53
6.1	Výzkumná otázka č. 1 .....	53
6.2	Výzkumná otázka č. 2.....	53
6.3	Výzkumná otázka č. 3 .....	53
6.4	Výzkumná otázka č. 4.....	53
7	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU .....	54
8	METODIKA PRÁCE .....	55
8.1	Odběr biologického materiálu.....	55
8.2	Kultivace.....	55
8.2.1	Vybraná diagnostická média .....	56
8.3	Mikroskopie .....	57
8.4	Citlivost na antibiotika.....	57
8.4.1	Disková difuzní metoda.....	57
8.4.2	Diluční bujónová metoda a E-test .....	58
8.5	Identifikace .....	58
8.5.1	ENTEROtest 16.....	58
8.5.2	MALDI-TOF MS .....	59
8.5.3	Aglutinace.....	59
A.	Aglutinace v rámci rodu <i>Salmonella</i> .....	59
B.	Sérotypizace v rámci rodu <i>Escherichia</i> .....	59
8.6	Finální identifikace .....	60
9	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ .....	61
9.1	VO 1: Jaká je četnost výskytu původců infekcí GIT z řad enterobakterií ve FN Plzeň v uvedeném období 2020 až 2023? .....	61
9.2	VO 2: Které sérovary salmonel se v uvedeném období 2020 až 2023 vyskytly ve FN Plzeň a v jakém zastoupení?.....	64

9.3 VO 3: Jaký nejčastější typ patogenní <i>Escherichia coli</i> byl zachycen ve FN Plzeň v uvedeném období 2020 až 2023? .....	67
9.4 VO 4: Měla pandemie COVID-19 vliv na infekce GIT?.....	69
DISKUZE .....	70
ZÁVĚR.....	73
SEZNAM LITERATURY .....	74
SEZNAM PŘÍLOH .....	77
PŘÍLOHY .....	78
Příloha A – Povolení sběru informací ve FN Plzeň .....	78
Příloha B – Kolonie ESCO na EA.....	79
Příloha C – Kolonie ESCO na XLD agaru .....	80
Příloha D – Kolonie SAEN na EA .....	81
Příloha E – Kolonie SAEN na EA.....	82
Příloha F – Kolonie SAEN na XLD agaru .....	83
Příloha G – Aglutinační séra pro diagnostiku salmonel.....	84
Příloha H – Aglutinační séra pro diagnostiku ESCO .....	85

## SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Počet pozitivních a negativních vyšetření.....	61
Graf 2: Původci infekcí GIT z řad enterobakterií.....	62
Graf 3: Vliv pohlaví na infekce vyvolané střevními patogeny.....	63
Graf 4: Vliv pohlaví u salmonelových infekcí .....	66
Graf 5: Vliv věku u salmonelových infekcí.....	66
Graf 6: Frekvence výskytu jednotlivých sérotypů patogenních ESCO.....	67
Graf 7: Vliv pohlaví u infekcí dětí do 6 let způsobených patogenními ESCO .....	68
Graf 8: Vliv věku u infekcí způsobených patogenními ESCO.....	68
Graf 9: Počty pozitivních výsledků dle jednotlivých let .....	69

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Antigenní struktura .....	21
Obrázek 2: Patogeneze <i>Salmonella</i> Typhi.....	26
Obrázek 3: Patogeneze rodu <i>Shigella</i> .....	31
Obrázek 4: Bubon.....	35
Obrázek 5: Nekróza a zvrhovatění ilea.....	37
Obrázek 6: Patogeneze vybraných kmenů bakterie <i>Escherichia coli</i> .....	39
Obrázek 7: Patogeneze kmene ETEC.....	40
Obrázek 8: <i>Proteus mirabilis</i> -Raussův fenomén.....	44
Obrázek 9: Diagnostická tabulka přiložená k ENTEROtestu 16 .....	49
Obrázek 10: Pozitivní zpětná aglutinace u <i>Salmonella</i> Enteritidis .....	59

## **SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1: Používaná média pro enterobakterie ..... 56

Tabulka 2: Jednotlivé sérovary salmonel a jejich počet ..... 64

## SEZNAM ZKRATEK

°C – stupeň Celsia

µm – mikrometr

AAF1 – agregační adhezenční fimbrie I

BFP – svazky tvořící pili (z angl. *The bundle-forming pili*)

CIN – z angl. *Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin*

cm – centimetr

DC agar – deoxycholát-citrátový agar

DNA – deoxyribonukleová kyselina (z angl. *deoxyribonucleotic acid*)

EAEC – enteroagregativní *Escherichia coli*

EHEC – enterohemoragická *Escherichia coli*

EIEC – enteroinvazivní *Escherichia coli*

ELISA – enzymová imunoanalýza na imunosorbentech (z angl. *Enzyme-Linked-ImmunoSorbent Assay*)

EPEC – enteropatogenní *Escherichia coli*

ESBL – širokospektrá beta-laktamáza (z angl. *Extended Spectrum Beta-Lactamase*)

ESCO – patogenní *Escherichia coli*

ETEC – enterotoxigenní *Escherichia coli*

GIT – gastrointestinální trakt

HUS – hemolyticko-uremický syndrom

JIP – jednotka intenzivní péče

LIS – Laboratorní informační systém

MALDI-TOF MS – hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti



matrice v kombinaci s detektorem doby letu (z angl. *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry*)

MBC – minimální baktericidní koncentrace

MCA – McConkeyho agar

MH – Mueller Hintonova půda

MIC – minimální inhibiční koncentrace

mm – milimetr

ONPG – z angl. *Ortho-Nitrophenyl-β-galaktoside*

PCR – polymerázová řetězová reakce (z angl. *Polymerase Chain Reaction*)

PFGE – pulsní gelová elektroforéza (z angl. *Pulsed-field gel electrophoresis*)

RFLP – polymorfismus délky restrikčních fragmentů (z angl. *Restriction fragment length polymorphism*)

SAEN – *Salmonella* Enteritidis

STEC – Shiga-like toxigenní *Escherichia coli*

T3SS – sekreční systém třetího typu (z angl. *The type III Secretion System*)

TNW – mikrobiologický identifikační systém

TSI test – z angl. *triple-sugar iron test*

UPEC – uropatogenní *Escherichia coli*

WB – Wilson Blairova půda

XLD – z angl. *Xylose Lysine Deoxycholate*

Yop – z angl. *Yersinia outer proteins*

# ÚVOD

Bakalářská práce pojednává o epidemiologicky významných patogenních rodech z čeledi enterobakterie. Jsou to fakultativně anaerobní gramnegativní nesporulující tyčinky nejčastěji se vyskytující v gastrointestinálním traktu obratlovců, kde tvoří fyziologickou mikroflóru střev.

Způsobují intestinální či extraintestinální infekce. Mezi někdy až závažné infekce, které vyvolávají, patří především břišní tyfus a paratyfus, salmonelózy, bacilární úplavice, mor či infekce způsobené patogenními kmeny bakterie *Escherichia coli*. Hlavním symptomem většiny zmíněných onemocnění je, někdy až urputný, průjem.

Průjmová onemocnění jsou velmi aktuální problematikou. Trpí jimi značná část populace, při dlouhodobém trvání jsou jedinci nuceni vyhledat lékařskou pomoc. Ve velké míře se bakteriální průjmy objevují u cestovatelů kvůli požívané stravě, převážně málo tepelně upravené nebo kořeněné.

Téma bakalářské práce bylo vybráno na základě autorovy prodělané infekci způsobené *Escherichia coli* v roce 2021 a zvědavosti, dozvědět se o problematice bakteriálních průjmů více.

Cílem práce je zmapovat a udělat přehled vybraných patogenů gastrointestinálního traktu a laboratorní diagnostiky, která se ve FN Plzeň používá, a vyhodnotit získaná data z laboratoře.

Bakalářská práce je rozdělena na dvě části, teoretickou a praktickou. Teoretická část je uvedena popisem střevních patogenů. Velkou kapitolu představuje kapitola o nejvýznamnějších enterobakteriích. U každé je popsána morfologie, kultivace a biochemické vlastnosti, patogeneze, způsobená onemocnění a terapie. Další kapitola se věnuje méně významným, ač klinicky důležitým enterobakteriím. Poslední kapitola teoretické části se zabývá laboratorní diagnostikou, metodami, kterými je možné identifikovat enterobakterie. V praktické části je popsán odběr možného biologického materiálu a pracovní postupy metod, které se ve FN Plzeň pro identifikaci používají. Dále jsou interpretována data získaná z Ústavu mikrobiologie FN Plzeň za období 2020 až 2023 pomocí grafů a tabulek.

V diskuzi jsou zhodnoceny výzkumné otázky. Bakalářskou práci shrnuje závěr.

# TEORETICKÁ ČÁST

## 1 ČELEĎ *ENTEROBACTERIACEAE*

*Enterobacteriaceae*, dále jen enterobakterie, je čeleď, která obsahuje značný počet gramnegativních fakultativně anaerobních bakterií. Vyskytují se nejčastěji v gastrointestinálním traktu (GIT) obratlovců jako součást fyziologické mikroflóry střeva. Řadí se do podmíněně patogenních bakterií, to znamená, že mohou u člověka způsobit intestinální či extraintestinální infekce. Nejčastěji jsou vyvolavateli průjmových onemocnění. Některé enterobakterie se přirozeně v GIT nevyskytují. (1)

Existuje více než 50 rodů a 130 druhů s různou patogenitou. Mezi primárně patogenní bakterie patří rody *Salmonella*, *Shigella* a *Yersinia*. Podmíněně patogenních enterobakterií je více. Jsou to rody *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Providentia* a další. (1, 2, 3)

Jejich odolnost vůči zevním vlivům a změnám teplot je proměnlivá. Mezi odolné bakterie můžeme zařadit rod *Salmonella* nebo *Serratia*, citlivý je např. rod *Shigella*. (1)

### 1.1 Morfologie

Enterobakterie mají tvar nesporelujících rovných tyčinek dosahující délky 2 až 4  $\mu\text{m}$  a tloušťky 1  $\mu\text{m}$ . Představují gramnegativní bakterie. Morfologicky jsou si velmi podobné, proto se diagnostika na základě morfologických vlastností nepoužívá. (1, 3)

Převážná část je pohyblivá, a to pomocí bičků, které se nacházejí po celém povrchu buňky (peritrichiálně). Bičky jsou zakotveny v cytoplazmatické membráně a dosahují velikosti 20  $\mu\text{m}$ . Skládají se ze tří částí, a to z vlákna, bazálního tělíska a kolénka. Existují ale zástupci, jako jsou klebsiely, *Yersinia pestis* nebo shigely, které pohyblivé nejsou. (1)

Na povrchu můžeme nalézat fimbrie (také zvané pilusy), jedná se o bílkovinná vlákna, která jsou důležitým faktorem virulence. Rozeznáváme dva typy fimbrií. První z nich, běžné fimbrie, zodpovídají za adhezi k receptorům buněk hostitele. Druhá skupina fimbrií je nazývána sex pilusy (jinak F-pilusy nebo konjugativní pilusy). Ty mají úlohu v konjugaci. (1, 2, 3)

Některé rody, *Klebsiella* a *Enterobacter*, mohou utvářet pouzdro, díky němuž mají kolonie typický mukózní vzhled. (3)

## 1.2 Kultivace

Tyto tyčinky se kultivují relativně snadno. Vyrůstají na obvyklých mikrobiologických půdách, nebo na selektivně diagnostických, a řadí se mezi tzv. mezofilní bakterie. Optimální teplota růstu je při 37 °C. Jedná se o fakultativně anaerobní bakterie, to znamená, že mohou přežívat v anaerobním prostředí, ale v prostředí s kyslíkem je jim lépe. Dobře tolerují změny teplot nebo vyschnutí. Kolonie narůstají obvykle za 24 hodin, existují ale výjimky, jako jsou yersinie, ty vyrůstají za 48-72 hodin, a jsou celkem velké (kolem 5 mm), vodnaté, vyklenuté a některé z nich mohou být mukózního charakteru. (1, 2, 4)

Pro kultivaci enterobakterií se používají diagnostické půdy jako je Endův agar (EA), XLD (z angl. *Xylose Lysine Deoxycholate*) agar, MacConkeyho agar (MCA), krevní agar (KA), Wilson Blairova půda (WB), Deoxycholátcitrátový (DC) agar nebo selenitový bujón. (4)

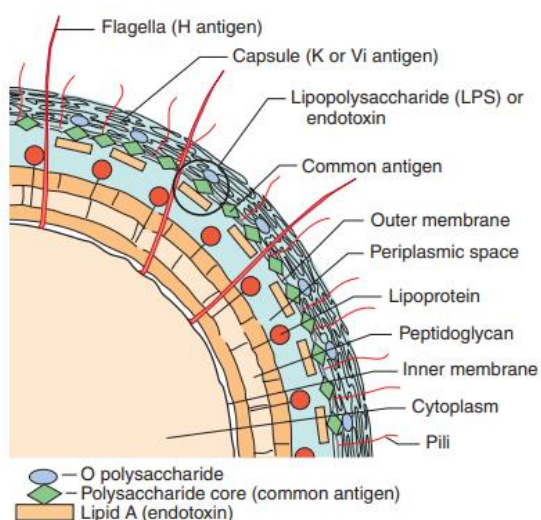
## 1.3 Biochemické vlastnosti

Biochemicky se řadí mezi velmi aktivní bakterie. Jsou katalasa pozitivní, a kromě rodu *Plesiomonas*, i oxidasa negativní. Mají schopnost fermentovat glukosu i jiné cukry, štěpí aminokyseliny, redukují nitráty, zužitkovávají organické kyseliny a jsou schopny tvořit sirovodík či ureasu. Některé enterobakterie umí také štěpit laktosu, ale jelikož ji neumí transportovat přes cytoplazmatickou membránu, vypadají navenek jako laktosa negativní. (1, 4)

## 1.4 Antigenní struktura

Enterobakterie obsahují různé typy antigenů. Vyskytuje se u nich tzv. OHK systém. Hlavní tělový O antigen, který je termostabilní, tvoří lipopolysacharidový komplex a zahrnují ho tři složky. První z nich je vnější somatický O polysacharid, používá se k taxonomii daných kmenů a nachází se uvnitř bakterie. Druhou složku představuje jaderný (core) polysacharid, který se vyskytuje u každé enterobakterie. Poslední složku O antigenu tvoří lipid A. Dále se objevuje termolabilní antigen bičíku (H-antigen), který se skládá z bílkoviny flagelinu. Najdeme ho pouze u bakterií, které jsou schopny pohybu. Posledním antigenem OHK systému je K-antigen. Ten se může objevovat buď jako polysacharidový kapsulární antigen pouzdra, který je termostabilní, nebo termolabilní polypeptidový antigen fimbrií. Kapsulární antigeny jsou důležitým faktorem virulence, k diagnostice se však nepoužívají. Zato antigeny fimbrií ano, a to především při aglutinaci se specifickou

protilátkou. Dle antigenní struktury enterobakterií se konkrétní druhy řadí do jednotlivých sérovarů. (2)



Obrázek 1: Antigenní struktura, převzato z (5)

## 1.5 Výskyt

Většina bakterií z této čeledi se nachází převážně v tlustém střevě člověka a zvířat jako fyziologická střevní mikroflóra, nebo patogenní agens. Patogenní enterobakterie můžeme nalézat i v urogenitálním traktu. Dále se vyskytují v půdě, vodě nebo na rostlinách. (4, 6)

## 1.6 Faktory virulence

Faktory virulence představují určité znaky dané bakterie vyjadřující stupeň patogenity, přičemž patogenita je schopnost vyvolat onemocnění. Mezi nejvýznamnější patří lipid A, ostrovy patogenity, fimbrie, sekreční systém třetího typu, metabolismus železa a bakteriální pouzdro. (2, 7)

Lipid A je endotoxin, který se vylučuje a začne plnit svou funkci až po rozpadu bakterie. Tvoří lipopolysacharidový komplex vnější membrány bakterie. Tento polysacharid má za úkol ochraňovat buňku před nástrahami komplementu. (1, 2)

Ostrovy patogenity představují úseky deoxyribonukleové kyseliny (DNA, z angl. *deoxyribonucleotic acid*) velikosti 7-200 kilobází nacházejí se na bakteriálním chromosomu. Obsahují geny schopné kódovat odlišné faktory virulence, např. toxiny, sekreční systém nebo metabolismus železa. Vyskytují se pouze u některých bakterií, konkrétně u jejich virulentních kmenů. (2, 7)

Fimbrie jsou řasinkové struktury, které se vyskytují na povrchu bakterií a jsou složeny z bílkoviny pilinu. Jejich hlavní úloha spočívá v adhezi bakterie ke sliznici. (1)

Bakterie rodu *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* nebo *Escherichia* bývají spojovány s faktorem virulence, který je nazýván sekreční systém třetího typu (T3SS). Ten je tvořen z minimálně dvaceti bílkovinných podjednotek nacházejících se v cytoplazmě, a dále periplazmatickém prostoru, vnější a vnitřní membráně buňky bakterií. Jeho hlavní funkcí je přinucení buněk k fagocytóze. (1, 2)

Železo je velmi klíčovou látkou pro růst většiny bakterií. Vyskytuje se především v hemoglobinu a transferinu. (2)

Pouzdro obsahující hydrofilní K-antigeny má schopnost chránit bakterie před procesem fagocytózy. (1)

## 1.7 Epidemiologie

Za zdroj onemocnění se považují zvíře, člověk nebo jsou infekce endogenní. Přenos probíhá zejména fekálně-orální cestou, kontaminovanými potravinami, vodou či kapénkami. Objevují se i případy, kdy proběhne prostřednictvím blechy, to se objevuje především u infekčního onemocnění zvané mor. (2, 3, 4)

Enterobakterie zahrnují primárně patogenní, např. bakterie *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Typhi, dále jen *Salmonella* Typhi, *Yersinia pestis*, shigely, nebo oportunní patogeny. Bakteriemi této skupiny jsou *Escherichia coli* nebo *Klebsiella pneumoniae*. Rod *Escherichia* a *Klebsiella* společně s dalšími, *Proteus*, *Serratia*, *Enterobacter* a *Citrobacter*, patří do skupiny koliformních bakterií. Koliformní bakterie představují fyziologickou součást střevní mikroflóry lidí a zvířat a jsou velmi užitečné pro zdravý chod střev. Nicméně jsou však schopny vyvolat nespočet onemocnění. (2, 3)

Mohou způsobovat intestinální i extraintestinální infekce. Salmonely, shigely a některé sérotypy *Escherichia coli* vyvolávají infekce intestinální. Přenášejí se zejména fekálně-orální cestou, kontaminovanými potravinami, vodou či kapénkami. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí několika dnů. Mezi typické symptomy intestinálních infekcí patří průjemy, zvracení a křeče v břiše. Původci extraintestinálních infekcí mohou být klebsiely, proteové nebo enterobaktery. Jedná se o nozokomiální nákazy nebo infekce různých orgánů, např. močových cest. Mezi typické symptomy onemocnění patří špatné trávení a páchnoucí stolice. Kromě výše zmíněných bakterií mohou i rody *Salmonella*, *Escherichia* nebo *Shigella*

způsobovat extraintestinální infekce. Právě *Escherichia coli* je považována za nejčastějšího původce močových infekcí. (3, 8)

Někteří zástupci zapříčiňují respirační infekce, infekce ran nebo sepse. Sepse způsobené enterobakteriemi se objevují převážně u novorozenců či starších osob a vedou často ke smrti jedince. Jejich negativní vliv pro organismus se může uplatnit i u infekcí ledvin a pohybového aparátu. (3)

## **1.8 Terapie**

Při intestinálních infekcích je naším cílem pacienta rehydratovat, tedy zavodnit ho a dodat mu příslušné ionty. Využívají se také střevní antiseptika (např. Endiaron). K antibiotické terapii se přikláníme pouze ve výjimečných případech. (1, 8)

Léčba extraintestinálních infekcí nebo závažných gastroenteritid spočívá v podání antibiotik. Nejčastěji se používají cefalosporiny vyšších generací (cefotaxim), kotrimoxazol nebo doxycyklin. U infekcí močových cest se uplatňuje antibiotikum Nitrofurantoin. (2)

## **1.9 Protiepidemická opatření**

Protiepidemická opatření se rozdělují na preventivní a represivní. (9)

Mezi preventivní patří správné hygienické návyky, postupy, distribuce a uchování potravin, očkování jedinců před výjezdy do méně vyspělých zemí, očkování zvířat, distribuce pitné vody, odstranění vod odpadních, přehled a monitorování jedinců trpících onemocněním. (9)

Represivními opatřeními jsou hlášení infekcí příslušné hygienické stanici, separace a terapie infikovaného na infekčním oddělení, místní opatření jako dezinfekce a dohled zdravotníka. (9)

## 2 NEJVÝZNAMNĚJŠÍ ZÁSTUPCI

Mezi nejvýznamnější zástupce z čeledi enterobakterií patří rod *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* a *Escherichia*. Rod *Salmonella*, *Shigella* a *Yersinia* patří mezi primárně patogenní bakterie. Rod *Escherichia* je oportunním patogenním druhem, ale některé jeho sérotypy mohou být v GIT i primárními patogeny. (2)

### 2.1 Rod *Salmonella*

Salmonely se rozdělují na dva druhy, prvním je *Salmonella enterica* a druhým *Salmonella bongori*. Patogenní pro lidskou rasu je výhradně *Salmonella enterica*, ta je jedním z nejobvyklejších druhů vyvolávající průjemová onemocnění po celém světě. Obsahuje šest poddruhů, nejznámější a nejdůležitější je *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, která zahrnuje minimálně 2500 sérovarů. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* se dělí do dvou skupin, na primárně antropopatogenní a primárně zoopatogenní salmonely. Do primárně antropopatogenních salmonel patří *Salmonella* Typhi a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Paratyphi, dále jen *Salmonella* Paratyphi. Vyskytují se pouze u lidí a jsou původci břišního tyfu a paratyfu. Do druhé skupiny, primárně zoopatogenních salmonel, patří bakterie *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Enteritidis, dále jen *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium a *Salmonella* Infantis. Ty jsou vyvolavateli salmonelóz. (1, 2)

Salmonely se nacházejí v GIT lidí a zvířat. Dalším místem jejich výskytu jsou kontaminované vody, rostliny a ovzduší. Určité sérovary salmonel se objevují u různých organismů, jež umožňují výživu cizopasníka, např. sérovar Typhi a Paratyphi A u člověka, Gallinarum a Pullorum u drůbeže, Choleraesuis u prasete, nebo Dublin spojovaný se skotem. Další sérovary, jako Enteritidis a Typhimurium, se vyskytují u většího počtu hostitelů, jak lidí, tak i zvířat. (10, 11, 12)

#### A. Primárně antropopatogenní salmonely

Skupina primárně antropopatogenních salmonel zahrnuje druhy *Salmonella* Typhi a sérovary *Salmonella* Paratyphi. Jsou vyvolavateli vážných systémových onemocnění, břišního tyfu a paratyfu. Jejich odolnost proti zevním podmínkám je na velmi dobré úrovni, avšak teploty nad 60 °C je ničí. K jejich hubení je dobrá také dezinfekce. Obsahují antigeny O (*Salmonella* Typhi má typ 9 a 12), Vi a H. Antigen Vi, pouzderný antigen, je charakteristický pro onemocnění břišní tyfus. Jeho hlavním úkolem je ochrana O antigenu



před působením protilátek. Primárně antropopatogenní salmonely zahrnují faktory virulence jako T3SS a ostrovy patogenity. (1, 13)

Mohou se diagnostikovat přímým (kultivace z krve, stolice, moče, ojediněle z kostní dřene, nebo PCR (polymerázová řetězová reakce, z angl. *Polymerase Chain reaction*), i nepřímým průkazem (hemaglutinace, ELISA (z angl. *Enzyme-Linked-ImmunoSorbent Assay*), imunofluorescence, či Widalova reakce, ta se ovšem kvůli malé specifitě již tolik nevyužívá). (1, 2)

### **2.1.1 Morfologie**

Představují gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky dosahující délky 2 až 4  $\mu\text{m}$  a tloušťky kolem 1  $\mu\text{m}$ . Obsahují bičíky, jsou tedy schopny pohybu. (14)

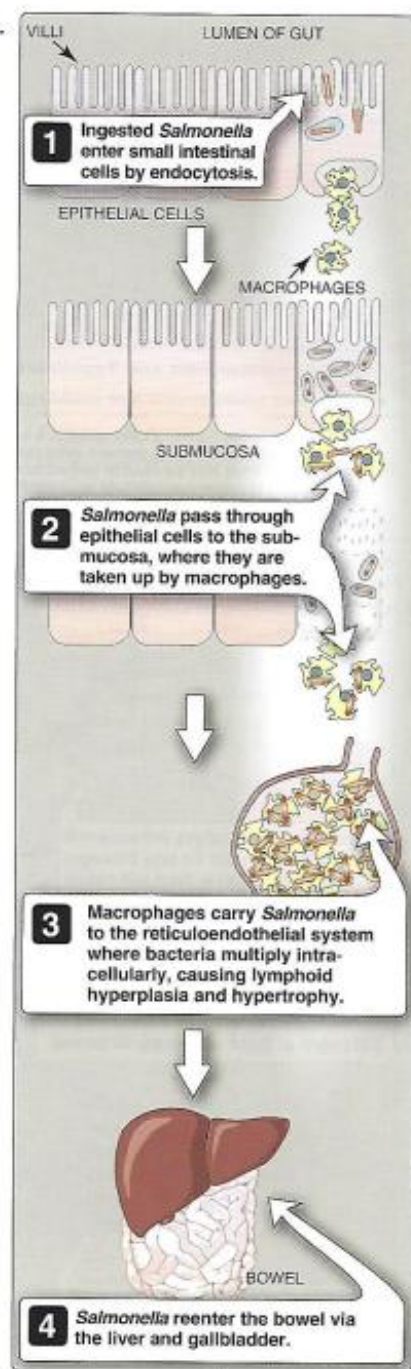
### **2.1.2 Kultivace a biochemické vlastnosti**

Kultivují se buď na selektivně pomnožovacích tekutých médiích, např. selenitový bujón, nebo na pevných médiích, jako XLD, KA agar či MAL (z angl. *mannit-arabinosa-laktosa*) agar. Díky jejich schopnosti tvořit sirovodík vznikají na pevných půdách bledé kolonie s černým středem. Tím, že nemají schopnost fermentovat laktosu, se mohou kultivovat i na EA, MCA a DC agaru, narostlé kolonie jsou pak bezbarvé. Dalším používaným médiem je WB půda, na níž jsou narostlé kolonie zbarvené černě spolu s černým středem. (4, 10)

Po biochemické stránce nejsou příliš aktivní. Mají schopnost tvořit sirovodík a fermentovat glukosu s produkcí plynu. Nemají ovšem funkci fermentace laktosy a sacharosy. (4, 10)

### **2.1.3 Patogeneze**

Vyvolavatelem břišního tyfu je *Salmonella Typhi*. S objevením tohoto původce roku 1880 je spojen Karl Joseph Eberth. Zdrojem nákazy může být člověk, nemocný nebo nosič tohoto onemocnění. Břišní tyfus se přenáší kontaminovanou vodou či potravou, či fekálně-orální cestou. Přenos může probíhat i pasivně prostřednictvím členovců. Infekční dávka se pohybuje v rozmezí  $10^3$ - $10^4$  bakterií. Salmonely díky fagocytóze prostupují přes střevo a M-buňky až do sliznice, a poté do submukózy a mezenteria, kde se rozmnožují. Dále se lymfou dostávají do krve, to má za následek bakteriémii nebo v některých případech sepsi. Z krve salmonely pronikají skrze játra až do střeva. Vzniklý zánět, v oblasti Peyerských plátů, ve střevě může mít za následek poškození až protržení stěny tohoto orgánu. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí 7 až 20 dní. (1, 13, 15)



Obrázek 2: Patogeneze *Salmonella Typhi*, převzato z (7)

Vyvolavateli paratyfů mohou být sérovary *Salmonella Paratyphi A*, *Salmonella Schottmuelleri* (kdysi Paratyphi B) nebo *Salmonella Hirschfeldii* (kdysi Paratyphi C). Za zdroj onemocnění se u paratyfu A a B považuje nemocný člověk nebo nosič, v případě paratyfu B nebo C i zvířata. Přenos probíhá stejně jako u břišního tyfu, a to kontaminovanou vodou, potravou, fekálně-orální cestou, či přes členovce. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí 1 až 10 dní. (2, 13)

#### 2.1.4 Břišní tyfus a paratyfus

Břišní tyfus je septické horečnaté onemocnění, u kterého po uplynutí inkubační doby nastanou symptomy, jako vysoká horečka, hnědé povlaky na jazyku a velmi silné bolesti hlavy. K teplotám se přidávají růžové skvrny v oblasti kůže nazývané tyfová roseola. Na počátku onemocnění se nalézá zácpa, která se mění v krvavý průjem. Břišní tyfus trvá v řádu týdnů, v některých případech dochází k relapsům. Nebezpečím může být krvácení a protržení stěny střeva. Úmrtnost se pohybuje v rozmezí 15-30 %, při zavedení léčby antibiotiky je kolem 1 %. Ojediněle nastává dlouhodobé či celoživotní nosičství, nebývají salmonely skryté ve žlučníku a žlučových cestách. Břišní tyfus se nachází po celém světě. Lokality jeho hlavního působení je jižní a jihovýchodní Asie, zejména Indie, Nepál, a subsaharská Afrika. V Evropě se objevuje jako importované onemocnění pouze zřídka, díky hygienickým předpokladům. Existují i další druhy tyfů, jako rekurentní tyfus, skvrnitý tyfus, krysí tyfus, nebo křovinný tyfus, jejich původcem však nejsou enterobakterie. K zachycení onemocnění se provádějí různá mikrobiologická vyšetření, která byla popsána u charakteristiky primárně antropopategenních salmonel. Též se provádí fagotypizace za pomoci bakteriofágů. (1, 4, 16)

Paratyfus má mírnější průběh než břišní tyfus a objevuje se ve třech formách, A, B a C. Paratyfus A je velmi podobný středně těžkému tyfu a vyskytuje se pouze u lidí. Paratyfus B má ve většině případů zhoršený průběh a neobjevuje se pouze u lidí. Třetí forma, paratyfus C, bývá spojen s dýchacím traktem a vyskytuje se vzácně. V některých případech, kolem 3 %, dochází k nosičství. Onemocnění se nachází po celém světě, buď jako importované onemocnění, např. v České republice, nebo endemické v méně vyspělých zemích. Největším působištěm *Salmonella Paratyphi A* je Středomoří a jižní a jihovýchodní Asie. K diagnostice onemocnění se provádějí stejná mikrobiologická vyšetření jako u diagnostiky břišního tyfu. (1, 13, 15)

#### 2.1.5 Terapie

K léčbě se používají antibiotika jako cefalosporiny vyšších generací nebo kotrimoxazol. V případě bacilonosičství je třeba přejít k cholecystektomii. Při vycestování do méně vyspělých zemí se navrhuje vakcinace. Proti paratyfu očkování neexistuje. (1, 2, 9)

U člověka trpícího břišním tyfem je potřeba provádět vyšetření vzorků stolice a moče, dokud nebudou výsledky negativní. V případě nosičství se o něm vedou záznamy po dobu 12 měsíců. (9)

## **B. Primárně zoopatogenní salmonely**

Skupinu primárně zoopatogenních salmonel tvoří převážně sérotypy *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium a *Salmonella* Infantis. Po kampylobakterech představují druhého nejčastějšího vyvolavatele bakteriálních průjmů v České republice. Za 96 % salmonelóz na našem území je zodpovědná *Salmonella* Enteritidis. Odolnost vůči zevním vlivům je dobrá, dokážou přežít odběr na suchý tampón a také několik týdnů až měsíců ve vlhké nebo zmrazené atmosféře. Prostředí kyselého charakteru, dezinfekce a teploty nad 70 °C je likvidují. Vyznačují se schopností zabraňovat fagocytóze a účinkům komplementu. Obsahují adhezivní faktory, tedy bílkoviny zodpovědné za proniknutí do buněk. Také tvoří cytotoxiny. (1, 13)

Mikrobiologická diagnostika se provádí pomocí přímého průkazu, a to kultivace (stolice, krve, moče). K identifikaci slouží aglutinace a antigeny H a O. (4, 13)

### **2.1.6 Morfologie, kultivace a biochemické vlastnosti**

Morfologie, kultivace i biochemické vlastnosti jsou shodné s primárně antropopogenními salmonelami. (4)

### **2.1.7 Patogeneze**

Původcem onemocnění v České republice jsou bakterie rodu *Salmonella*, a to především sérovary *Salmonella* Enteritidis, nejčastější, *Salmonella* Typhimurium nebo *Salmonella* Infantis. Do těchto sérovarů se rozdělují dle své antigenní struktury. Za objevitele původců je považován August Anton Hieronymus Gärtner, bylo to roku 1888. Zdrojem onemocnění mohou být v první řadě hospodářská zvířata, nejčastěji drůbež a skot, dále vodní ptáci, hlodavci, a plazi. Jako zdroj se v ojedinělých případech považuje i člověk, a to především při zanedbání hygienických návyků. Přenos probíhá fekálně-orální cestou při požití kontaminované potravy, mezi kterou patří např. vejce, mléčné výrobky a maso. Kontaminaci lze rozdělit na primární a sekundární. Primární kontaminaci způsobují především infikovaná zvířata kvůli krmivu nebo stelivu. Sekundární kontaminace nastává při nedodržení výroby, rozdělení, skladování a vyhotovení výrobků. K vyvolání infekce je potřeba velké množství salmonel, rozmezí  $10^5$ - $10^9$  bakterií, tato dávka je vyšší než v případě primárně antropopogenních salmonel. K onemocnění dochází tím, že salmonely přilnou na mikrovili sliznice střeva díky adhezivním a prostupují do střevních epitelových buněk a M-buněk. Poté nastává jejich množení ve fagozomech. Inkubační doba se nachází v rozmezí 12 hodin až 5 dní. Díky pomnožení salmonel dochází k sekreční odezvě epitelů střeva, a to k vylučování vody a chloridových iontů, zabránění vstřebávání natriových iontů a odstranění

prozánětlivých cytokinů. K boji s infekcí jsou zapotřebí T-lymfocyty a protilátky vznikající z B-lymfocytů. (1, 11, 13, 15)

### **2.1.8 Salmonelóza**

Salmonelóza představuje průjmovitě onemocnění, které se vyskytuje celoročně, převážně však v letních měsících. Nejčastějšími nositeli jsou děti batolecího věku a jedinci staršího věku. Klinický obraz je tvořen různými formami, které se v některých případech vzájemně kombinují. První je asymptomatická, kdy se symptomy neprojevují, salmonely se jen vyplavují stolicí. Druhou formou infekce je forma gastroenteritická, která se u salmonelóz vyskytuje nejfrekventovaněji. Na počátku dochází k nechutenství a zvracení, někdy se připojují i bolesti hlavy a horečka. Poté se objevují bolesti břicha a typický symptom, průjem s nebo bez krve. Zpočátku je stolice kašovitá, později se mění na vodnatý průjem. Po 24-48 hodinách odezní zvracení a teploty se sníží na fyziologickou hodnotu. Průjem a bolesti v oblasti břicha mohou přetrvávat až několik dní. V průběhu rekonvalescence nastává nosičství a salmonely jsou vyplavovány stolicí. Další formou je bakteriémie se zvýšenou teplotou až horečkou. Nebezpečí této formy infekce se vyskytuje častěji u malých dětí, starších osob a u lidí, kteří mají jakýmkoliv způsobem porušenou imunitu. Může se ovšem nacházet i u imunokompetentních osob. Mezi typické symptomy této formy salmonelózy patří horečka, slabost a zimnice. Symptomy ustupují většinou po třech dnech. Poslední formou je extraintestinální ložisko, které se tvoří následkem bakteriémie. V tomto případě salmonely nacházející se v krvi ulpí na trombu nebo hematomu. Toto ložisko se nachází u 5-10 % salmonelóz způsobených bakteriemi. Nastává horečka a po určitém časovém období může docházet k symptomům nasvědčujícím poškození některého orgánu, vzniká tak např. endokarditida, hnisavá artritida nebo meningitida. (2, 15)

Průjmy jsou velmi nebezpečné pro malé děti, starší generaci a osoby s oslabeným organismem z důvodu dehydratace, nebo vyvinutí salmonelové sepse, která v některých případech končí smrtí. Salmonelóza se nachází po celém světě, převažuje v rozvinutých zemích. Počet úmrtí nepřesahuje 0,1 %. (2, 9)

### **2.1.9 Terapie**

Léčba se volí symptomatická. K uzdravení pacienta je nutné jeho zavodnění a podání probiotik a prebiotik. U lidí trpících salmonelózami není vhodné předepisovat antibiotika kvůli odolnosti salmonel a z důvodu, že dochází k jejich delšímu vylučování. Antibiotika, jako ampicilin či ciprofloxacin, jsou podána pouze v případě komplikací. (1, 15)

K uzdravení jedinců dochází po 7-14 dnech. V případě, kdy nastala salmonelová meningitida, léčba trvá nejméně 21 dní a antibiotika jsou aplikována intravenózně. Pokud došlo k problémům cévního řečiště, antibiotická léčba by měla být intravenózní nejméně 6 týdnů, nebo by se mělo provést chirurgické ošetření, pokud taková možnost je. (15)

Při komunitní infekci je nutno vypátrat jedince, jež požili konkrétní infikovanou stravou, a vyšetřit jejich stolici. Začlenění dětí do kolektivu po nákaze salmonelózami nastává až po vyšetření jejich stolice, z něhož jeden výsledek kultivace musí být negativní. (9)

## 2.2 Rod *Shigella*

Sérotypy rodu *Shigella* způsobují čistě lidské onemocnění bacilární úplavici. Nejsou tak odolné vůči zevním podmínkám jako salmonely. Vyskytují se převážně ve vodním prostředí, půdě a GIT u zvířat. (2)

K zařazení do jednotlivých sérotypů slouží O antigeny. Ty mohou shigely rozdělit na čtyři druhy (A-D), na *Shigella dysenteriae* (skupina A, obsahuje 10 sérotypů), *Shigella flexneri* (skupina B, 13 sérotypů), *Shigella boydii* (skupina C, 15 sérotypů) a *Shigella sonnei* (skupina D, 1 sérotyp). Některé kmeny *Shigella dysenteriae* se vyznačují Shiga toxinem. Shiga toxin patří mezi faktory virulence dané bakterie a působí enterotoxicky, cytotoxicky a neurotoxicky. Bývá spojován se vznikem hemolyticko-uremického syndromu (HUS). Tento toxin je tvořen dvěma podjednotkami. První podjednotka, A, se poutá na ribozom a má schopnost zastavit proteosyntézu a druhá, B, se navazuje na mikrovlákna a vyvolává přesun A podjednotky do nitra buňky. Objevuje se u nich i T3SS. (1, 2, 15)

K laboratorní diagnostice se využívá přímý průkaz, a to kultivace stolice nebo výtěru z rektu v transportním médiu, případně PCR ze stolice. Pro finální identifikaci je nutné provést zpětnou aglutinaci. K odhalení shigel se používají také biochemické testy či MALDI-TOF MS (z angl. *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry*). Je možné realizovat i fagotypizaci. (1, 2, 16)

### 2.2.1 Morfologie

Jsou to gramnegativní fakultativně anaerobní nesporulující bakterie tvaru tyčinek, které nemají bičík. Dosahují délky 3  $\mu\text{m}$  a tloušťky 1  $\mu\text{m}$ . (14)

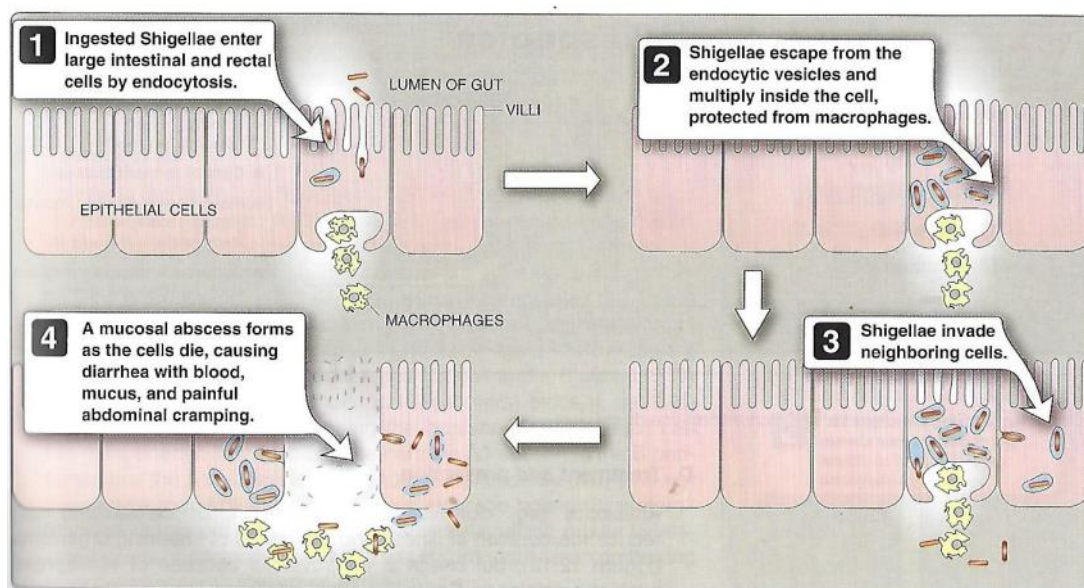
### 2.2.2 Kultivace a biochemické vlastnosti

Kultivace není lehká. Nejsou schopny fermentovat laktosu, tudíž na EA a DC agaru vyrůstají jako bezbarvé kolonie. Ke kultivaci můžeme použít i XLD agar, na kterém tvoří červené kolonie. (4)

Nevykonávají příliš velkou biochemickou aktivitu, díky tomu v některých případech dochází ke špatné identifikaci (záměna s *Escherichia coli*). (4)

### 2.2.3 Patogeneze

Shigely způsobují pouze lidské onemocnění bacilární úplavici. Původci infekce jsou jednotlivé sérotypy rodu *Shigella*, nejvíce *Shigella sonnei*, dále *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* nebo *Shigella boydii*. Jednotlivé sérotypy určili Shiga, Flexner, Kruse a Boyd, bylo to počátkem 19. století. S objevením původců jsou spojována dvě jména, Widal a Chantemesse, roku 1888. Za zdroj onemocnění bývá považován člověk nemocný nebo nosič tohoto onemocnění. Přenos probíhá fekálně-orální cestou nebo kontaminovanými předměty. Přenos může probíhat i přes vektor pasivně, a to zejména mouchami. Infekční dávka není vysoká, pohybuje se okolo 100 bakterií. Po invazi shigel do buněk tlustého střeva nastává množení bakterií a defekt epiteliálních buněk sliznice. Proces replikace probíhá v nitru cytoplazmy jednotlivých buněk. Dále atakují enterocyty v jejich blízkosti. Nakonec nastává zánět a nekróza, a tím dochází k tvorbě vředů. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí 1 až 3 dny. (1, 2, 15, 16)



Obrázek 3: Patogeneze rodu *Shigella*, převzato z (7)

#### 2.2.4 Bacilární úplavice (shigelóza, dysenterie)

Bacilární úplavice se vyvíjí jako hemoragická enterokolitida. Typickými symptomy tohoto infekčního onemocnění jsou horečka, vodnatý průjem, časté nucení na stolicí, bolest břicha a později průjem s příměsí krve a hlenu. Možnou komplikací může být dehydratace spolu s protržením tlustého střeva pacienta. K úmrtnosti nedochází často, pouze 0,1 %. V některých případech nastává nosičství trvající několik týdnů. Za tři až sedm dnů dochází k ústupu shigelové infekce. Sekrece bakterií probíhá okolo tří týdnů. Toto onemocnění bývá nazýváno „nemoc špinavých rukou“. Mezi nejvíce ohrožené jedince patří děti. Bacilární úplavice bývá v ojedinělých případech spojována s nemocemi zápal plic či artritida. Onemocnění se objevuje po celém světě, výskyt bacilární úplavice se zvyšuje u romských kultur a v psychiatrických léčebnách. *Shigella sonnei* se vyskytuje převážně v rozvinutých zemích, v méně rozvinutých zemích *Shigella flexneri*. *Shigella dysenteriae* je z rodu *Shigella* pro člověka nejvíce nebezpečným druhem, úmrtnost dosahuje 15 %. Nalézá se v Africe a Střední Americe. Nejméně se objevuje *Shigella boydii*. V České republice jde převážně o importované onemocnění. (1, 2, 15, 16, 17)

#### 2.2.5 Terapie

Léčba se volí symptomatická. V první řadě je potřeba pacienta zavodnit. Mohou se předepsat antibiotika jako kotrimoxazol, dále azitromycin nebo cefalosporiny III. generace (cefotaxim, ceftriaxon), a to především ve společnostech s nízkými hygienickými podmínkami. Díky antibiotické léčbě nedochází k rozšiřování shigel do dalších vrstev sliznice. (1, 2, 15)

Začlenění dětí do kolektivu po nákaze se může uskutečnit až po vyšetření jejich stolice, z něhož tři výsledky musejí být negativní. Pokud se v rodině vyskytla bacilární úplavice, klinicky zdravé děti se mohou vrátit do společnosti po 5 dnech od posledního setkání s infikovaným. (9)

### 2.3 Rod *Yersinia*

V dřívějších dobách rod *Yersinia* spadal do rodu *Pasteurella*. Některé vlastnosti těchto bakterií jsou oproti ostatním enterobakteriím jiné. Růst je zdlouhavější, menší velikost, tvar, odlišnost se objevuje i v patogenitě. Existují tři významní zástupci, a to *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica* a *Yersinia pseudotuberculosis*. Tyto jednotlivé druhy se odlišují epidemiologicky. *Yersinia pestis* je vyvolavatelem velmi nebezpečného onemocnění, moru. *Yersinia enterocolitica* a *Yersinia pseudotuberculosis* jsou bakterie zasahující primárně střevo. Yersinie jsou charakterizovány pleomorfismem, jinak



označováno jako mnohotvárnost. Pleomorfismus se vztahuje hlavně na kultivaci, a to na kompozici diagnostického média a teplotu kultivace. Mají schopnost fermentovat glukosu, maltosu a mannitol s tvorbou kyselin. Obsahují faktory virulence, nejvýznamnější jsou T3SS a invaziny. T3SS zastává primárně funkci blokace fagocytózy a tvorby cytokinů. Druhým důležitým faktorem virulence jsou invaziny, ty se poutají na povrch buněk hostitele a proteiny Yop (z angl. *Yersinia outer proteins*), které jsou umístěny na vnější membráně yersinií. Pokud dojde ke styku s fagocytem, yersinie vypouštějí proteiny Yop do fagocytu, tím nastane defosforylace proteinů, destrukce mikrofilament, a nakonec programovaná buněčná smrt neboli apoptóza makrofágů. (2, 10, 15)

#### **A. *Yersinia pestis***

*Yersinia pestis*, vyvolavatel moru, je z enterobakterií nejvíce patogenní. V dřívějších dobách byla nazývána *Pasteurella pestis*. Obsahuje četné faktory virulence, proteinové pouzdro, které má funkci blokace fagocytózy, T3SS, a také antigeny. Dominantním antigenem je kapsulární antigen, značený F1. *Yersinia pestis* je dále zodpovědná za tvorbu aktivátoru plazminogenu, kterým je Pla proteáza, tím dochází k procesu zvaném fibrinolýza a k zániku C3a a C3b složek komplementu. (1, 2, 4, 10)

K diagnostice je možno provést přímý průkaz (kultivace ze sputa a aspirátu a mikroskopie). Dále je do laboratoře dodán i vzorek hemokultury. V některých případech lze použít metodu PCR. Je možné detekovat i antigen F1 za pomoci imunofluorescence. Realizuje se též průkaz nepřímý, a to hemaglutinace. (2, 9)

#### **2.3.1 Morfologie**

Jsou to gramnegativní fakultativně anaerobní nesporulující tyčinky dosahující délky 1,5  $\mu\text{m}$  a tloušťky 0,7  $\mu\text{m}$  s pouzdrem. Neobsahují bičík. Lépe se zvýrazní při Giemsovo barvení, kdy dochází k výraznému polárnímu barvení tyčinek, které poté vypadají jako zavírací špendlík, než při barvení dle Grama. (1, 10)

#### **2.3.2 Kultivace a biochemické vlastnosti**

Kultivují se poměrně snadno. Používají se obvyklá média, jako KA, MCA a také speciální půdy. Rostou pomaleji než jiné enterobakterie, a to za 48-72 hodin, při teplotě 0-40 °C. (1, 4, 18)

Bakterie jsou katalasa pozitivní a mají schopnost redukovat nitráty. (10)

### 2.3.3 Patogeneze

Vyvolavatelem moru je *Yersinia pestis*, která představuje lidské patogenní agens. Může se objevovat ve třech formách, Antiqua, Mediaevalis a Orientalis, dle tří nejzávažnějších pandemií. Prvním člověkem, jenž vyizoloval bakterii *Yersinia pestis*, byl Alexandre Yersin v roce 1894. Zdrojem onemocnění jsou hlodavci, veverky, fretky a domácí zvířata, především kočky. V dřívějších dobách byli za zdroj nákazy považováni potkani a krysy. Dýmějový mor se přenáší díky infikované bleše morové-*Xenopsylla cheopsis*, *Oropsylla montana*, ta se vyskytuje v Severní Americe, nebo *Pulex irritans*, lidská blecha v oblasti And. Blecha se nakazí při procesu sání onoho infikovaného zdroje onemocnění. Poté dochází k pomnožení *Yersinia pestis* v oblasti střeva blechy, která následně putuje k jedinci a kousne ho. Nebo k infekci může docházet prostřednictvím výkalů blechy. Pro plicní formu infekce je charakteristický přenos prostřednictvím kapének. Může výjimečně vznikat i z dýmějové formy moru. Septická forma se rozvíjí z dýmějového moru a přenáší se krví. Dále se mor může přenášet úzkým kontaktem s infikovanými zvířaty nebo kůžemi zvířat či pokousáním nebo poškrábáním. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí 1 až 7 dní. U dýmějové formy moru je to 7 dní, v případě formy plicní okolo 2 dnů. (1, 2, 4, 10, 13)

### 2.3.4 Mor

Rozeznáváme tři formy infekce. Nejvíce vyskytujícím je dýmějový (bubonický) mor, ke kterému dochází díky přenosu vektorem-infikované bleše morové (*Xenopsylla cheopsis*). Mezi hlavní symptomy tohoto onemocnění patří zduření lymfatických uzlin v oblastech třísel nebo podpažních jamek (bubony), vysoká teplota a úbytek energie. K úmrtnosti dochází u 50 % infikovaných jedinců po 4 dnech od nákazy. Druhou formou infekce je plicní forma. Vyznačuje se kašlem a krvavým sputem. Úmrtnost nastává v 95 % případů po 3 dnech od nákazy. Septická forma je velmi vzácná. Symptomy této formy jsou horečka a zbarvení kůže do purpurova. Pouze v ojedinělých případech nekončí smrtí. Dříve způsoboval mor epidemie nebo pandemie. Nalézají se na endemických území jako Afrika, Jižní Amerika (Peru, Bolívie, Brazílie), USA (Texas, Arizona) a jižní Asie (Vietnam, Indie). V Evropě mor již nenajdeme. (1, 2, 11, 13, 17)



Obrázek 4: Bubon, převzato z (7)

Za celá léta se objevily tři nejzávažnější pandemie. První z nich je nazývána Justiniánova, trvala od roku 542 n. l. do 750 n. l. Působila v zemích jako Egypt, severní Afrika, Evropa a Asie. Justiniánova pandemie moru měla velké ztráty na životech, zemřelo kolem 100 miliónů osob. Další pandemie, černá smrt, se udála v roce 1346 a přetrvávala okolo 5 let. Může za úmrtí 25 miliónů lidí na celém světě. V Evropě postihla smrtí 40 % populace. Třetí nejzávažnější pandemií byla pandemie moderní, která se vyskytovala v letech 1894 až 1930 a působila hlavně v Číně. Odtud se rozšířila do Evropy, Afriky a Ameriky. Mor zde býval spojován se špatnými hygienickými podmínkami. *Yersinia pestis* byla během druhé světové války užita jako biologická zbraň. (2, 13)

### 2.3.5 Terapie

Léčba je prováděna za pomoci antibiotik jako gentamicin, doxycyklin a ciprofloxacin. Při zavedení léčby dochází k menší úmrtnosti. Na trhu existuje vakcína určena jedincům, kteří jsou ve zvýšené míře vystavováni yersiniím, např. pracovníci v nebezpečných oblastech. Jedná se o mrtvou neboli inaktivovanou ochranou očkovací látku vzniklou z umrtvených bakterií. Tato vakcína chrání jedince pouze krátkodobě. Nemá účinek proti plicní formě infekce. (1, 2, 15)

Prevence proti štípnutí blechou spočívá v použití repelentů a insekticidů. Osoby, které přišly do kontaktu s nakaženým, musejí podstoupit karanténu trvající 7 dní. (9)

#### **B. *Yersinia enterocolitica* a *Yersinia pseudotuberculosis***

Tyto druhy nevyvolávají mor, ale navozují enterokolitidu, jež v některých případech přechází v mezenteriální lymfadenitidu. (1)

*Yersinia enterocolitica* byla nalezena roku 1933, zasloužil se o to Gilbert. Tvoří ji více jak 60 sérotypů. V České republice se vyskytuje pouze sérotyp O:3, ve výjimečných

případech O:9. Obsahuje enterotoxin, což je významný faktor virulence. Nachází se ve vodním prostředí, potravinách a jako cizopasník některých zvířat. (10, 15)

*Yersinia pseudotuberculosis* má acidorezistentní charakter. Obsahuje minimálně 6 sérotypů. Vyskytuje se ve vodě, půdě a u obratlovců v GIT a je vyvolavatelem pseudotuberkulózy. Na našem území se objevuje vzácně. (2, 15)

K diagnostice se využívá jak přímý, tak nepřímý průkaz. U přímého průkazu se provádí kultivace výtěru z rekta a biochemický průkaz. Pokud je původcem onemocnění *Yersinia pseudotuberculosis*, do laboratoře je dopraven i vzorek punktátu uzliny, případně krev. Pokud máme pochybnosti, že by konečná diagnóza měla spět k onemocnění mezenteriální lymfadenitida, je nutno provést nepřímý průkaz, tím je průkaz protilátek pomocí aglutinace. Další metodou, která může být použita, je ELISA. (1, 2)

### 2.3.6 Morfologie

*Yersinia enterocolitica* je gramnegativní tyčinka dosahující délky 1 až 3  $\mu\text{m}$  a tloušťky 0,3  $\mu\text{m}$ . *Yersinia pseudotuberculosis* představuje též gramnegativní tyčinku. Jsou schopny pohybu pouze za nízkých teplot. (10, 15)

### 2.3.7 Kultivace a biochemické vlastnosti

Kultivace není náročná. Mají schopnost množení i při nízké teplotě, obvykle rostou pomalu při teplotě 0-40 °C. K průkazu těchto bakterií se užívá selektivní půda nazývaná CIN (z angl. *Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin*). *Yersinia enterocolitica* roste ve formě kolonií s průhledným okrajem a středem červené barvy. (4, 10, 15)

Mají schopnost štěpit močovinu. (4)

### 2.3.8 Patogeneze

Zdrojem onemocnění, které způsobuje *Yersinia enterocolitica*, jsou kontaminované potraviny, zejména vepřové maso. Charakteristicky se objevují v období zabijačkových hodů. Přenos probíhá fekálně-orální cestou, možný je i přenos kontaktem s nemocným člověkem nebo infikovanými domácími zvířaty. K vyvolání infekce je potřeba velké množství bakterií ( $10^9$ ). Yersinie navozují infekce střev. Atakují lymfatické tkáně v oblasti červovitého výběžku slepého střeva, napodobuje to tedy zánět slepého střeva neboli apendicitidu. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí 3 až 7 dní. (1, 15)

*Yersinia pseudotuberculosis* je vyvolavatelem onemocnění, které se, jak již z názvu bakterie vypovídá nazývá pseudotuberkulóza. Zdrojem onemocnění jsou zvířata (kočky,

hlodavci, ptactvo), někdy vodní zdroje nebo půda. Přenos probíhá stejně jako v případě *Yersinia enterocolitica* fekálně-orální cestou, a to infikovanými potravinami. Pomnožení bakterií se uskutečňuje v makrofázích a pomocí M-buněk vnikají do Peyerských plátů v tenkém střevě. (2, 15)

### 2.3.9 Yersinióza a pseudotuberkulóza

*Yersinia enterocolitica* vyvolává yersiniózu, která se vyznačuje průjmy, bolestmi břicha s délkou typicky 1,5 týdne v místě, kde se nachází slepé střevo, zánětem lymfatické tkáně a horečkou. Možnou potíží může být *erythema nodosum* nebo polyartritida. *Yersinia enterocolitica* v České republice příliš nezpůsobuje průjmová onemocnění, častěji se objevuje ve Skandinávii a Severní Americe. (2, 15)



Obrázek 5: Nekróza a zvředovatění ilea, převzato z (19)

Pseudotuberkulóza je onemocnění vyznačující se kožními problémy, horečkou, hnisavým zánětem tkání (absces) v oblasti jater, a bolestí břicha. Komplikací pseudotuberkulózy může být, stejně jako v případě yersiniózy, *erythema nodosum* nebo polyartritida. Ojedinele vzniká sepse, převážně se objevuje u pacientů s nižší úrovní imunity, která je nebezpečná. V České republice se pseudotuberkulóza příliš nevyskytuje. (2, 15)

### 2.3.10 Terapie a prevence

Pokud se vyskytují pouze střevní příznaky, antibiotika se nepředepisují. Jestliže se má k antibiotické léčbě přistoupit, uplatňují se antibiotika kotrimoxazol, cefalosporiny III. generace nebo fluorochinolony. V případě, že se vyvine *erythema nodosum* nebo reaktivní artritida, využívají se antirevmatika nesteroidního typu nebo kortikosteroidy. Yersinie jsou odolné vůči aminopenicilinům a ostatním cefalosporinům. (1, 15)

Je třeba respektovat hygienické podmínky a dávat pozor na nedostatečně tepelně upravené maso. (15)

Při onemocnění, jejímž vyvolavatelem je *Yersinia pseudotuberculosis*, se používají antibiotika, především ampicilin, tetracyklin a gentamicin. V ojedinělých případech, např. při sepsi, se přistupuje k léčbě cefalosporiny vyšších generací spolu s gentamicinem. (2)

## 2.4 Rod *Escherichia*

Důležitým představitelem rodu *Escherichia* je bakterie *Escherichia coli*. Za jejího objevitele je považován Theodor Escherich, bylo to roku 1885. Uplatňuje se při vzniku vitamínu K a tvoří látky zvané koliciny. Vyskytuje se u ní OHK systém, pro laboratorní diagnostiku se však užívají jen O antigeny. *Escherichia coli* je zastoupena minimálně 240 sérotypy. Rozděluje na velký počet kmenů, ty jsou identifikovány pomocí faktorů virulence, kterými jsou endotoxin, fimbrie nebo exotoxin. Vybrané kmeny jsou vyvolavateli chorob intestinálních nebo extraintestinálních. Ve velké míře se jedná o střevní a močové komplikace. Podílí se ale také na vzniku onemocnění novorozenecká meningitida, HUS nebo sepse. Představuje běžnou část fyziologické mikroflóry tlustého střeva. *Escherichia coli* se může použít při zhotovení rekombinantních vakcín, klonování DNA nebo při tvorbě látek (inzulin). Dalšími, méně známými druhy jsou *Escherichia vulneris* a *Escherichia hermannii*. (1, 2, 4, 15)

Využívanými laboratorními metodami pro odhalení *Escherichia coli* jsou kultivace, zpětná aglutinace, případně je možno provést i metodu PCR, a to nejčastěji při diagnostice HUS. Dále se pro identifikaci užívají biochemické testy a MALDI-TOF MS. Na trhu existují i metody, např. polymorfismus délky restrikčních fragmentů (RFLP, z angl. *Restriction fragment length polymorphism*) nebo separace fragmentů pulsní gelovou elektroforézou (PFGE, z angl. *Pulsed-field gel electrophoresis*), které lze též použít, ale spíše k epidemiologickým záměrům. (1, 2)

### 2.4.1 Morfologie

Jsou to gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky dosahující délky 3  $\mu\text{m}$  a tloušťky 0,8  $\mu\text{m}$ . Převážně mají bičíky. (14)

### 2.4.2 Kultivace a biochemické vlastnosti

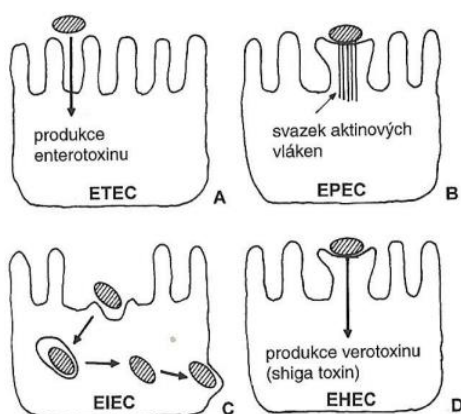
Kultivace je poměrně snadná. *Escherichia coli* se kultivuje na různých typech diagnostických médií. Nejvýznamnější z nich je EA, kde tvoří kolonie purpurové barvy s někdy až kovovým leskem. Na KA roste v hladkých koloniích šedobílé barvy. Někdy se na tomto médiu projevuje viridací nebo hemolýzou. Kmen STEC (Shiga-like toxigenní *Escherichia coli*) je možno diagnostikovat na MCA se sorbitolem, kolonie se na něm

projevují jako bezbarvé. Dále se ke kultivaci užívají DC agar, XLD agar nebo agar s brilantní zelení. Používají se i média se složkou antibiotik. (2, 14)

Mají schopnost fermentovat laktosu, glukosu, i jiné cukry, a produkují indol. (4)

### 2.4.3 Patogeneze a onemocnění

S bakterií *Escherichia coli* je spojena celá řada kmenů, které jsou vyvolavateli intestinálních i extraintestinálních infekcí. Mezi nejvíce významné patří kmeny EHEC (enterohemoragické *Escherichia coli*), ETEC (enterotoxigenní *Escherichia coli*), EPEC (enteropatogenní *Escherichia coli*), EIEC (enteroinvazivní *Escherichia coli*), EAEC (enteroagregativní *Escherichia coli*) a UPEC (uropatogenní *Escherichia coli*). (1)



Obrázek 6: Patogeneze vybraných kmenů bakterie *Escherichia coli*, převzato z (20)

#### A. EHEC

Zkratka EHEC znamená enterohemoragické *Escherichia coli*. V některých případech se může vyskytovat označení STEC nebo VTEC, verotoxigenní (dřívější označení). Vyskytuje se u nich tzv. „attaching-effacing“ aktivita, díky které dochází k zániknutí mikroklků. Dalším faktorem virulence jsou shigatoxiny, ty obsahují A a B podjednotku. První toxin je shodný s toxinem vyskytujícím se u *Shigella dysenteriae*, druhý se mu více jak z poloviny podobá. (1, 2)

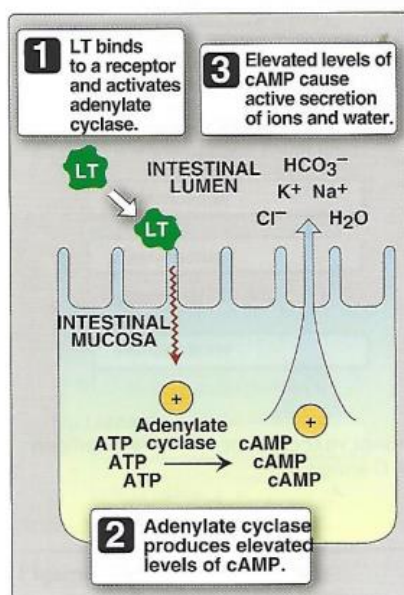
Významný sérotyp EHEC představuje O157:H7, který se nachází po celém světě. Sérotypem vyskytujícím se převážně v České republice je O26. Tento kmen představuje jeden z nejzávažnějších, nastává hemoragická kolitida, ze které může vznikat HUS. Za zdroj onemocnění bývají považována zvířata, jako skot, ovce a kozy. Přenos probíhá fekálně-orální cestou prostřednictvím potravin (převážně hovězí maso nebo mléko). K vyvolání

onemocnění postačuje pouze 10 bakterií. Převažujícími symptomy hemoragické kolitidy jsou průjem, zvýšená teplota a bolesti břicha. Inkubační doba se nachází v rozmezí 2 až 8 dní. Zavedením antibiotické léčby může docházet ke zhoršenému průběhu nákazy, proto se antibiotika nedoporučují. Infekce způsobené EHEC se více vyskytují v rozvinutých zemích. (1, 2, 11)

HUS představuje velmi nebezpečné onemocnění, které se objevuje převážně u dětí. Bývá charakterizováno třemi symptomy, a to hemolytickou anémií, akutním poškozením ledvin a trombocytopenií. Onemocnění bývá spojováno i s infekcemi způsobenými *Streptococcus pneumoniae*. (1)

## B. ETEC

Sérotypy se vyznačují tvorbou dvou enterotoxinů. První z nich, termolabilní, označovaný LT (z angl. *heat-labile toxin*), má funkci vyvolání účinku adenylátcyklázy, a tím nastává zvětšení hladiny cAMP (cyklický adenosinmonofosfát) a zvýšená sekrece vody. Druhý enterotoxin se nazývá termostabilní, označovaný ST (z angl. *heat-stable toxin*), a vyskytuje se ve dvou verzích. Buď má schopnost zvětšovat hladinu cGMP (cyklický guanosinmonofosfát) a dochází opět ke zvýšené sekreci vody, u druhé verze zatím není funkce objasněna. (1, 2)



Obrázek 7: Patogeneze kmene ETEC, převzato z (7)



Kmen je spojován s cestovatelskými průjmy, které častěji postihují děti. Obsahuje hlavně sérotypy O6 a O8. Zdrojem infekce je kontaminovaná voda či potraviny. Onemocnění se vyznačuje vodnatým průjmem s trváním kolem 4 dnů a silnými křečemi v oblasti břicha. Inkubační doba je přibližně 9 až 12 hodin. Nachází se převážně v Mexiku a Egyptě. (2, 10, 13)

### **C. EPEC**

Při vzniku nákazy se prosazují ostrovy patogenity, T3SS, intimin a BFP (z angl. *The bundle-forming pili*). Ostrovy patogenity obsahují více než 40 genů, jejich úloha spočívá v navázání k buňkám hostitele, které se poté rozpadají. Pomocí intiminu nastává rovněž zánik buněk hostitele. Svazky tvořící pili neboli BFP mají funkci shlukování bakterií, na buňkách následně vznikají mikrokolonie. (2)

EPEC obsahuje sérotypy, z nichž nejvýznamnější jsou O55, O86 a O126. Vyvolává novorozenecké průjmy a průjmy kojenců. Jedním z důsledků je dehydratace. V nejhorším znění nastává smrt jedince. Zdroj onemocnění představuje matka nebo dětská výživa. Přenos probíhá fekálně-orální cestou, případně kontaktem. Typickými symptomy jsou vodnatý průjem, ve kterém se může vyskytovat krev, někdy se k němu přidává zvracení nebo horečka. Inkubační doba je v rozmezí 12 až 72 hodin. EPEC působí převážně v méně vyspělých zemích. (1, 4, 11)

### **D. EIEC**

Tento kmen vniká do epitelů a dochází k jeho pomnožení. (2)

Nejčastějšími sérotypy jsou O124 a O143. Způsobují průjem obsahující krev se zvýšeným počtem leukocytů. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí 10 až 18 hodin. Výskyt je ojedinělý. (2, 13)

### **E. EAEC**

V patogenezi hrají roli agregační adhezenční fimbrie I (AAF1). Ty se navazují na střevní povrch, poté dochází ke zvýšenému vylučování slizu. Sliz má za úkol bránit bakterie proti účinkům antibiotik. (2)

Vyvolané infekce bývají spojovány s cestovatelskými průjmy, stejně jako kmen ETEC. Nejvýznamnějšími sérotypy jsou O3 a O33. Nachází se převážně v méně vyspělých zemích. (13)

## F. UPEC

Patogeneze spočívá ve vzniku specifických adhezinů, jejichž úlohou je jejich poutání k močovému měchýři, tím zůstanou bakterie uvnitř těla a nedojde k jejich vyplavení. Může se využít i hemolysin HlyA zprostředkávající hemolýzu. (2)

Název uropatogenní *Escherichia coli* vypovídá o tom, že je tento kmen spojen s nákazami močového traktu. Bývá považován za nejčastějšího vyvolavatele močových nákaz, a to až z 80 %. Objevuje se i u nozokomiálních nákaz, vyjma nich může být vyvolavatelem sepsí nebo novorozeneckých meningitid. Nejvíce se vyskytuje ST 131, a to na celém světě. (2, 4)

Kromě intestinálních infekcí vyvolávají oportunní nepatogenní typy *Escherichia coli* extraintestinální infekce. Mezi nejčastější patří močové infekce, ty jsou již zmíněny u kmene UPEC, břišní, infekce žlučových cest, bakteriémie a sepse. K břišním infekcím dochází při defektu střev, např. tumorem, protržením stěny, zánětem. Bakterie se tím dostávají ze střeva a vznikají nepříjemné infekce. Nejčastějšími typy této skupiny bývají absces jater a peritonitida (zánět pobřišnice). Patogeneze žlučových infekcí probíhá analogicky jako infekce močové s tím rozdílem, že bakterie putují do žlučových cest. Bakteriémie bývá buď asymptomatická, nebo při zvýšeném počtu bakterií v krevním řečišti nastává sepse. (2, 15)

### 2.4.4 Terapie

U intestinálních infekcí se provádí terapie symptomatická, kdy dochází k rehydrataci pacienta a užívá se např. Endiaron či probiotika. Pokud jsou infekce závažnější, používají se dostupná antibiotika jako gentamicin, ale to pouze u infekcí, které vyvolává kmen EPEC. U extraintestinálních infekcí je nutností za každé situace podat antibiotika. V případě močových nákaz se užívá nitrofurantoin nebo kotrimoxazol. U nebezpečných forem připadají v úvahu cefalosporiny II. a III. generace. (15)

Proti kmeni ETEC existuje vakcína, nemá ovšem dlouhodobý účinek. (9)

### 3 OSTATNÍ ENTEROBAKTERIE

Mezi další enterobakterie patří rod *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter* a *Serratia*. Zmíněny budou i *Hafnia alvei* a rody *Citrobacter*, *Providencia* a *Plesiomonas shigelloides*. Představují gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky. (4)

#### 3.1 Rod *Klebsiella*

Objevitelem byl roku 1883 Carl Friedländer. Nejdůležitějšími zástupci jsou *Klebsiella pneumoniae* a *Klebsiella oxytoca*. Tvoří širokospektré  $\beta$ -laktamasy, především ESBL (z angl. *Extended Spectrum Beta-Lactamases*). Nacházejí se v GIT, dýchacím traktu, vodním prostředí a na kůži. (4, 15)

Nejsou pohyblivé a jsou schopny vytvářet mohutná pouzdra, při kultivaci vznikají kolonie mukózního vzhledu. Dále produkují enzym PYRázu. *Klebsiella oxytoca* je navíc schopna vytvářet indol, to slouží k odlišení od *Klebsiella pneumoniae*. (4, 15)

Pro diagnostiku jsou použity metody kultivace a citlivost vůči antibiotikům. Následná identifikace se provádí pomocí MALDI-TOF MS a biochemických testů. (2)

##### 3.1.1 Patogeneze a onemocnění

Přenos probíhá fekálně-orálně, případně kontaktem nebo vzduchem. Bakterie jsou oportunními patogenními agens, které velmi často způsobují nozokomiální nákazy. Druhým nejfrekventovanějším vyvolavatelem močových nákaz je právě *Klebsiella pneumoniae*. Mohou být také původci pneumonií a bronchopneumonií, nejvíce napadají jedince s oslabeným organismem. Způsobují i velmi závažné infekce, mezi které patří meningitidy, infekce krevního řečiště nebo sepse. S klebsielami bývá spojeno i tvoření granulomů v nosní dutině (*Klebsiella pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis*) a na genitáliích (*Klebsiella granulomatis*). (2, 15, 21)

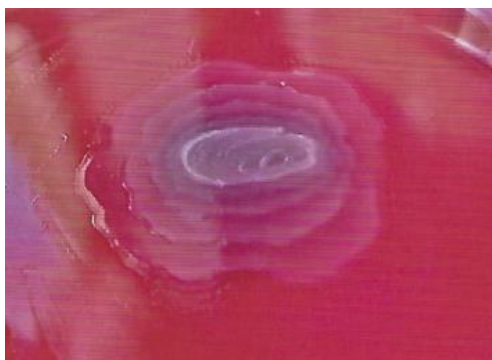
##### 3.1.2 Terapie

Jsou odolné vůči karbapenemům, ampicilinu a aminoglykosidům. Proto se k léčbě využívají kotrimoxazol nebo cefalosporiny (např. cefotaxim). U infekcí, jež způsobují určité kmeny tvořící ESBL, jsou zapotřebí karbapenemy (např. meropenem). Při odolnosti vůči karbapenemům je nutností použít kolistin. (2, 21)

## 3.2 Rod *Proteus*

Epidemiologicky důležitými zástupci jsou *Proteus mirabilis* a *Proteus vulgaris*. Vyznačují se odolností proti vnějším podmínkám. Tvoří fyziologickou mikroflóru střev lidí a zvířat, nalézají se i ve vodním prostředí nebo v půdě. (1, 15)

Je pro ně charakteristický plazivý růst, např. na KA, díky velkému množství bičíků. Toto plazení se nazývá tzv. Raussův fenomén. Z toho důvodu se využívá půda nazývaná CLED (z angl. *Cystine-lactose.electrolyte-deficient*), na které schopnost plazení není možná. Jsou také rozpoznatelní prostřednictvím typicky aromatického pachu po maggi. Díky schopnosti tvořit ureasu může docházet ke vzniku močových kamenů. Dominují proteolytickou aktivitou a schopností vytvářet biofilm. Dále produkují indol, kromě *Proteus mirabilis*. (1, 4, 15)



Obrázek 8: *Proteus mirabilis*-Raussův fenomén, převzato z (2)

Laboratorní diagnostika je shodná jako u klebsiel. (1, 15)

### 3.2.1 Patogeneze a onemocnění

K přenosu infekce dochází fekálně-orální cestou. Jako patogenní působí extraintestinálně, převážně v močovém traktu. Způsobují nozokomiální nákazy, méně častěji komunitní. V nemocnicích *Proteus mirabilis* nejvíce obývá močové katétry. Infekce postihují především jedince s oslabeným organismem a děti. Dále se objevují u pneumonií, sepsí, ve vředech diabetiků nebo proleženinách. V některých případech může docházet k novorozeneckým meningitidám. (1, 4, 15, 21)

### 3.2.2 Terapie

Vyznačují se odolností vůči kolistinu, nitrofurantoinu a tetracyklinu, *Proteus vulgaris* proti cefalosporinům I. generace a aminopenicilinům. K terapii se tedy používají u

infekcí způsobených *Proteus mirabilis* aminopeniciliny, jinak cefalosporiny vyšších generací. (2)

Při nozokomiálních nálezích je nutné užití dezinfekčních prostředků při čištění povrchů a opatrnost při zavádění močových katétrů. (15)

### **3.3 Rod *Enterobacter***

Důležitými zástupci jsou *Enterobacter cloacae* a *Enterobacter aerogenes*. Představují oportunní střevní patogenní agens. Hlavními funkcemi jsou tvorba enzymů, biofilmu, exotoxinů a pozměňování propustnosti membrány. Představují velmi odolnou skupinu enterobakterií vůči antibiotické léčbě. Nacházejí se v GIT, případně v dýchacím traktu. (1, 2, 15)

Laboratorní diagnostika je shodná s klebsiely. (1)

#### **3.3.1 Patogeneze a onemocnění**

Jsou původci nozokomiálních nález, nejčastěji močových, pneumonií a infekcí ran. Infekce mohou u pacientů vzniknout i výskytem cizího materiálu, např. katétrů. Nejvíce postihují jedince na JIP (jednotka intenzivní péče). Mohou vzniknout i nebezpečné sepse a meningitidy. (1, 21)

#### **3.3.2 Terapie**

Enterobaktery tvoří AmpC  $\beta$ -laktamasy, díky tomu jsou odolné vůči aminopenicilinům a cefalosporinům (okrem vyšších generací). V některých případech dochází i k tvorbě ESBL, stejně jako u klebsiely. K léčbě se tedy užívají antibiotika jako cefalosporiny vyšších generací a aminoglykosidy. Pokud dochází k tvorbě ESBL, připadají v úvahu karbapenemy a kolistin. (2)

### **3.4 Rod *Serratia***

Důležitým zástupcem je *Serratia marcescens*. Obsahuje faktory virulence, mezi něž patří vytváření biofilmu a faktoru ShIA. Vyznačují se odolností vůči některým antibiotikům. Vyskytují se v prostředí půdním a vodním, méně v GIT. (1, 15)

Určité druhy tvoří při kultivaci nerozpustný pigment červené barvy prodigiosin. (15)

Laboratorní diagnostika je shodná s klebsiely. (1)

### 3.4.1 Patogeneze a onemocnění

Zdroj onemocnění představují infikované lékařské povrchy, nástroje, vybava oddělení, a člověk. Seratie jsou nozokomiálními patogeny, zejména při nákazách dýchacího a močového traktu. Dále mohou vyvolávat sepse, infekce operačních ran a krevního řečiště. Postihují především jedince na JIP. (1, 2)

### 3.4.2 Terapie

Terapie není snadná. Jsou odolné na řadu  $\beta$ -laktamových antibiotik, jako aminopeniciliny, kolistin a cefalosporiny, z důvodu tvorby AmpC  $\beta$ -laktamas. K léčbě se tedy využívají cefalosporiny vyšších generací a gentamicin. (1)

## 3.5 Další zástupci

*Hafnia alvei* je charakteristická zápachajícími narostlými kulturami po myšíně. Vyvolává oční a močové náказы. Je odolná vůči aminopenicilinům, kolistinu a cefalosporinům nižších generací. K léčbě infekcí se užívají cefalosporiny vyšších generací. (2, 4)

Epidemiologicky důležitými z rodu *Citrobacter* jsou *Citrobacter freundii* a *Citrobacter koseri*. Kultivačně jsou zaměnitelné s koloniemi *Escherichia coli* nebo salmonelami. K odlišení od salmonel se provádějí biochemické testy, ONPG (z angl. *Ortho-Nitrophenyl- $\beta$ -galaktoside*) a PYR test. Citrobaktery jsou v obou případech pozitivní, salmonely negativní. Jsou původci střevních a nozokomiálních nákaz, nejvíce močových. V některých případech prostupují hematoencefalickou bariérou. Léčba je komplikovaná. Pokud je vyvolavatelem *Citrobacter koseri*, užívají se ampicilin či cefalosporiny III. generace. Je-li to *Citrobacter freundii*, který je odolný vůči těmto výše zmíněným antibiotikům, je nutností podat aminoglykosidy, karbapenemy nebo fluorochinolony. (1)

Důležitými druhy z rodu *Providencia* jsou *Providencia stuartii* a *Providencia rettgeri*. Tvoří AmpC  $\beta$ -laktamasy, některé i ESBL. *Providencia stuartii* tvoří manosa-rezistentní hemaglutinin. Vyskytují se jako fyziologická mikroflóra střeva nebo ve vnějším prostředí. Vyvolávají močové infekce, které se nejčastěji objevují u osob staršího věku, a enteritidy postihující jak děti, tak dospělou populaci. S močovými infekcemi bývají spojovány převážně kvůli jejich výskytu na močových katétrech nebo cévkách. V menší míře způsobují sepse. K léčbě se nejčastěji používají meropenem a kotrimoxazol. (1, 21)

*Plesiomonas shigelloides* je jako jediná z enterobakterií oxidasa pozitivní. Způsobuje průjmová onemocnění, ke kterým dochází po koupelích v teplých oblastech nebo po požití mořských plodů. (4)

## **4 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA ENTEROBAKTERIÍ**

Pro mikrobiologickou diagnostiku se využívá přímý průkaz, kdy se rozeznává určitý mikroorganismus nebo jeho produkty přímo, nebo průkaz nepřímý, v němž se prokazuje finální výsledek odezvy imunitního systému na výskyt mikroorganismu. Mezi metody přímého průkazu patří kultivace, mikroskopie, testování citlivosti na antibiotika, identifikace, průkaz antigenu, či vyšetření DNA, popřípadě RNA. Metodou nepřímého průkazu je průkaz specifických protilátek. (1)

### **4.1 Kultivace**

Představuje základní metodu k pomnožení bakterií. Pro kultivaci enterobakterií se využívají diagnostická média jako EA, XLD agar, MCA, KA, WB půda, DC agar nebo selenitový bujón. Výsledkem kultivace je provedení hodnocení narostlých kolonií. (1, 22)

### **4.2 Mikroskopie**

Využívá se pouze u extraintestinálních infekcí. Nikdy se neprovádí samostatně. Mikroskopie zahrnuje přípravu preparátu, barvicí techniky a popis preparátu. K barvení fixovaného preparátu se u enterobakterií používají techniky dle Grama, dle Burriho a dle Giemsy (pro yersinie). (1, 8)

### **4.3 Testování citlivosti na antibiotika**

K vyšetření citlivosti vůči antibiotikům se přistupuje po kultivaci, k rozočkování agens se nejvíce používá Mueller-Hintonova půda (MH). Užívané metody se rozdělují na kvalitativní (disková difuzní metoda) a kvantitativní (diluční bujónová metoda a E-test). (1)


### **4.4 Fenotypová identifikace**

Volí se metody biochemické a hmotnostní spektrometrie. (8)

#### **4.4.1 Biochemická identifikace**

Následuje po kultivaci. K biochemické identifikaci jsou nutné komerčně vyráběné testy od firmy Erba Lachema. Nejčastěji se pro diagnostiku enterobakterií používá ENTEROtest 16. (22)



**ENTEROtest 16** 

Barevná škála / Farebná stupnica / Colour scale / Цветная шкала / Porównawcza skala barw / Színskála / Farbskala / Escala de colores

1	H	G	F	E	D	C	B	A
	H <sub>2</sub> S	LYS	IND	ORN	URE	PHE	ESL	SCI
(+)	Black, Grey	Blue, Cyan	Pink, Red	Blue, Cyan	Red, Orange	Black, Brown	Black, Brown	Blue, Cyan
(-)	White, Yellow	Yellow, Green	White, Yellow	Yellow, Green	Yellow, Orange	White, Orange	White, Orange	Yellow, Green

2	H	G	F	E	D	C	B	A
	MAL	INO	ADO	CEL	SUC	SOR	TRE	MAN
(+)	Blue, Cyan	Yellow, Yellow	Yellow, Yellow	Yellow, Yellow	Yellow, Yellow	Yellow, Yellow	Yellow, Yellow	Yellow, Yellow
(-)	Yellow, Green	Green, Green	Green, Green	Green, Green	Green, Green	Green, Green	Green, Green	Green, Green

OXItest		ONPtest	
(+)	Blue, Blue	Yellow, Yellow	
(-)	Grey	White	

MIKROTEST® BLUE POINT OF QUALITY

Obrázek 9: Diagnostická tabulka přiložená k ENTEROtestu 16, převzato a upraveno z (23)

V minulosti se hojně provádělo stanovení nazvané krátká řada biochemických testů, od toho se postupem času ustupuje.

#### 4.4.2 Hmotnostní spektrometrie

Nyní je na trhu velmi žádaná. Nejvíce se používá MALDI-TOF MS, což je spektrofotometrická metoda. Výhody identifikace pomocí této metody spočívají v rychlosti (měření probíhá v řádu minut), pestré stupnici mikroorganismů (více než 2000 rodů) a preciznosti měření. Princip je v užití ionizace látek. Ionty se řadí podle podílu jejich váhy a náboje. Metoda MALDI-TOF MS uplatňuje ke vzniku iontů matrix, kdy se vyšetřovaný vzorek smísí s matrix a dochází k jeho přemístění na podložku vyrobenou z kovu. Následuje přístrojová analýza, kde nastává ozáření onoho vyšetřovaného materiálu společně s matrix za pomoci laseru, a nakonec se ionty odpoutají. Ionty migrují prostorem v měřícím zařízení. Na pohyb iontů má vliv elektrické pole. Výsledkem měření je hmotnostní spektrum, které se porovnává s databází a dochází k identifikaci mikroorganismů. (1, 8)

#### 4.5 Průkaz antigenu

Používá se sérologická diagnostika. Reakce se odehrává na klasickém principu antigenu s protilátkou. K průkazu antigenu se v mikrobiologické diagnostice užívají metody aglutinace a ELISA. Mezi výhody tohoto vyšetření patří rychlost a nenáročnost, nevýhodu mohou představovat nedostatečná citlivost a omezenost vyšetření. (1)

#### **4.5.1 Aglutinace**

Aglutinace spočívá v reakci protilátky s korpuskulárním antigenem. Metodami přímého průkazu jsou zpětná aglutinace a latexová aglutinace. Do nepřímého průkazu patří přímá aglutinace a hemaglutinace. (1)

#### **4.5.2 ELISA**

Metodu zavedli Engvall a Perlmann. Principem je reakce antigenu s protilátkou, přičemž jedna z těchto komponent je značena enzymem. Enzymem může být alkalická fosfatáza nebo křenová peroxidáza. Metoda slouží k detekci antigenu nebo protilátky. ELISA se u enterobakterií používá k průkazu antigenu. Detekce antigenu spočívá ve vazbě antigenu na primární fixovanou protilátku, sekundární protilátka je značena enzymem. Díky enzymu dochází ke změně substrátu na produkt, který je zbarven. Tato metoda bývá označována jako sendvičová. Barevné zbarvení produktu svědčí o pozitivitě. Pomocí ELISA lze provést vyšetření více pacientů naráz. U enterobakterií se užívá především u diagnostiky salmonel. (1, 22, 24)

### **4.6 Genotypová identifikace**

PCR je nejčastější metoda molekulární biologie, která se nyní používá. Slouží ke specifickému pomnožení (amplifikaci) DNA. Zavedl ji v roce 1983 Kary Mullis. K provedení se užívá přístroj termocycler. V reakci se opakují tři kroky. Prvním je denaturace, kdy dojde k zahřátí na 85-95 °C a nukleové kyseliny se rozštěpí, vzniká jednovláknová DNA. Druhým krokem je hybridizace, tedy nasazení primerů, kdy se teplota snižuje. Primery představují krátké oligonukleotidy velmi důležité pro správné provedení PCR reakce. Musí se nacházet na obou koncích vyšetřované DNA. Jako třetí probíhá syntetická fáze, kdy se do reakce zapojí DNA-polymerasa, která je termostabilní. Teplota se pohybuje kolem 72 °C. Je nutností dodat volné nukleotidy. Tyto tři kroky se cyklicky opakují, obvykle postačuje 20-40 cyklů. K detekci produktů je nutná gelová elektroforéza, po které následuje vizualizace díky roztoku Ethidium bromid. PCR nachází uplatnění v průkazu DNA či pro přípravu sond. (1, 22)

### **4.7 Molekulární epidemiologie**

RFLP je metoda, jež se užívá pro genotypovou identifikaci organismů. Využívá se hlavně v genetice pro mapování genomu. Po rozštěpení několika vzorků DNA od rozmanitých mikrobů pomocí enzymů (restrikčních endonukleáz) se projeví rozdíly v délce

takto vzniklých DNA restrikčních fragmentů, které jsou detekovatelné prostřednictvím gelové elektroforézy. Poté dochází k vizualizaci DNA restrikčních fragmentů. (1, 25)

PFGE se používá pro rozřídění jednotlivých bakterií dle typů. Princip spočívá v enzymovém omezení bakterií, oddělení pruhů DNA díky elektroforéze v pulsním poli a klonálním připojení bakterií. Vyšetření trvá poměrně dlouhou dobu a není jednoduché, z toho důvodu se přechází většinou k vyšetřením MALDI-TOF MS nebo PCR. (26)

#### **4.8 Průkaz toxinu**

Buď se provádí průkaz antigenu nebo nukleových kyselin. Např. EHEC je schopen tvořit Shiga-like toxin. K průkazu tohoto toxinu se používá PCR. (1)

# PRAKTICKÁ ČÁST

## 5 CÍL A ÚKOLY PRÁCE

### 5.1 Hlavní cíl

Hlavním cílem bakalářské práce bylo zmapovat výskyt vybraných patogenů GIT ve vzorcích pacientů ve FN Plzeň během let 2020 až 2023 a vyhodnotit získaná data z laboratoře.

### 5.2 Dílčí cíle

1. Seznámit se s prací v laboratoři
2. Zvládnout laboratorní diagnostiku enterobakterií

## **6 VÝZKUMNÉ OTÁZKY**

### **6.1 Výzkumná otázka č. 1**

Jaká je četnost výskytu původců infekcí GIT z řad enterobakterií ve FN Plzeň v uvedeném období 2020 až 2023?

### **6.2 Výzkumná otázka č. 2**

Které sérovary salmonel se v uvedeném období 2020 až 2023 vyskytly ve FN Plzeň a v jakém zastoupení?

### **6.3 Výzkumná otázka č. 3**

Jaký nejčastější typ patogenní *Escherichia coli* byl zachycen ve FN Plzeň v uvedeném období 2020 až 2023?

### **6.4 Výzkumná otázka č. 4**

Měla pandemie COVID-19 vliv na infekce GIT?

## **7 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU**

Na Ústavu mikrobiologie FN Plzeň bylo během let 2020 až 2023 vyšetřeno celkem 34899 vzorků. Vzorky pocházely od pacientů FN Plzeň, výjimečně od externích klientů. Tyto vzorky byly zpracovány a vyšetřovány z biologického materiálu, nejčastěji stolice a krve. Výsledky byly zaznamenány do Laboratorního informačního systému (LIS). Výsledná data z LISu jsou statisticky zhodnocena. Povolení o sběru informací ve FN Plzeň se nachází v přílohách bakalářské práce.

## 8 METODIKA PRÁCE

Zahrnuje odběr, zpracování a vyhodnocení výsledků.

### 8.1 Odběr biologického materiálu

Odběr se provádí nejčastěji výtěrem z rekta pomocí tampónu. Ten se zavádí 5 cm hluboko do rekta a následným krouživým pohybem se provede výtěr. Tampón se vzorkem biologického materiálu se transportuje v transportním médiu, nejčastěji Amiesovo. Transport by měl proběhnout do 24 hodin od odběru. Pokud vzorky není možné transportovat do této doby, případnou možností je uchovávat je při chladničkové teplotě. Zásadní je, aby nádoba se vzorkem byla označena a spolu s ní byla přítomna žádanka na mikrobiologické vyšetření. Pokud toto není dodrženo, vzorek do laboratoře není přijat. (27)

Dalším možným vzorkem biologického materiálu pro diagnostiku enterobakterií je hemokultura. Je nutno odebrat pacienta třikrát během jediného dne. Jako i u obvyklých odběrů se kůže nejdříve musí vydezinfikovat. Poté se odebírá 10 ml krve, která se převádí do označené speciální kultivační nádoby. Zátka nádoby je před převodem krve též vydezinfikována. Hemokultura je následně transportována do laboratoře, opět spolu se vzorkem je nutno dopravit i žádanku. Uchování nesmí probíhat za chladničkové teploty. (27)

Po kontrole materiálu a žádanky je vzorek do laboratoře přijat a zpracovává se.

### 8.2 Kultivace

Kultivace spočívá v očkování vzorku na tuhá nebo do tekutých diagnostických médií, např. Kaufmannovo médium. K nánosu a roztěru vzorku se používají bakteriologické kličky. Optimální teplota růstu enterobakterií je při 37 °C. Kolonie narůstají za 24 hodin, existují ale výjimky, jako yersinie, ty vyrůstají za 48-72 hodin. Tyto fakultativně anaerobní bakterie rostou jak v aerobní, tak anaerobní atmosféře. (2, 4, 28)

Pro kultivaci enterobakterií se využívají diagnostická média jako EA, XLD agar, MCA, KA, WB půda, DC agar nebo selenitový bujón. (1, 22)

Výsledkem kultivace na tuhých médiích je provedení hodnocení narostlých kolonií, které zahrnuje zbarvení, velikost kolonií, tvar, možný pach, zevní obal, konzistence kolonií, typ, lemy a změny v okolí. (1)

V tekutých diagnostických médiích dochází ke vzniku zákalu či vloček. (29)

## 8.2.1 Vybraná diagnostická média

Tabulka 1: Používaná média pro enterobakterie, převzato a upraveno z (1, 2, 14, 22)

Médium	Využití a popis	Poznámka
EA	Laktosa pozitivní x negativní bakterie	Laktosa pozitivní (červené) Laktosa negativní (bezbarvé)
		<i>Escherichia coli</i> (kolonie kovového lesku)
XLD agar	Identifikace salmonel a shigel	Kolonie salmonel (černé) Kolonie shigel (červené)
MCA	Laktosa pozitivní x negativní bakterie	Laktosa pozitivní (červenorůžové) Laktosa negativní (bezbarvé)
KA	Hemolýza	
	Raussův fenomén	
WB půda	Identifikace salmonel	
DC agar	Identifikace salmonel	Kolonie salmonel (černé)
	Laktosa pozitivní x negativní bakterie	Laktosa pozitivní (růžové) Laktosa negativní (bezbarvé)
Chromogenní půdy	Identifikace patogenních agens	Např. Uriselect
Selenitový bujón	Pomnožení salmonel a shigel	
MH půda	Určení citlivosti na antibiotika	



EA, MCA a DC agar představují diagnostická média, na kterých jsou schopny růst pouze gramnegativní bakterie. (1)

### **8.3 Mikroskopie**

Pro mikroskopickou diagnostiku enterobakterií se používá preparát fixovaný. Jeho příprava spočívá v aplikaci kapky fyziologického roztoku na podložní sklíčko, ve které se rozmíchají narostlé kolonie vyšetřovaného vzorku. Poté vzorek musí oschnout, a nakonec dochází k fixaci plamenem. (1)

Po vytvoření fixovaného preparátu následuje barvení. Používají se techniky dle Grama, dle Burriho a dle Giemsky. Barvení dle Grama se užívá k dělení na grampozitivní a gramnegativní bakterie. Postup spočívá v použití tzv. VLAku (krystalová violet, Lugolův roztok, aceton, karbolfuchsin). Výsledné barvení enterobakterií je červené. Preparáty se pozorují pod mikroskopem při 1000násobném zvětšení. Dále je možno pro některé zástupce použít barvení dle Burriho na průkaz pouzder. K tomu se používá tuš, která se na sklíčku promíchá s narostlou kolonií. Pomocí dalšího sklíčka se vytvoří nátěr, ten se po oschnutí fixuje v plamenu. Poté se nátěr barví pomocí violeti, omyje se a po jeho zaschnutí se prohlíží pod mikroskopem. Bakterie jsou zbarvené do fialova, pouzdro bezbarvé, pozadí černé. Pro diagnostiku yersinií se používá barvení dle Giemsky. Komerční barvivo se ředí s destilovanou vodou v poměru 1:10, barvení probíhá 30 minut. Výsledkem je tmavě modré výrazné polární barvení tyčinek, které připomínají zavírací špendlík. (1)

Na závěr se přechází k popisu jednotlivých preparátů. Hodnotí se pouze výskyt, morfologie a organizace enterobakterií. (1)

### **8.4 Citlivost na antibiotika**

K testování citlivosti vůči antibiotikům se používají dvě možná stanovení, kvalitativní a kvantitativní. (1)

#### **8.4.1 Disková difuzní metoda**

Je kvalitativní metoda, jež se využívá k odhalení citlivosti nebo odolnosti jednotlivých enterobakterií. Není ovšem určena k hodnocení stupně citlivosti. Postup spočívá v nanesení disků napuštěnými antibiotiky na diagnostické médium, na kterém je rozočkovaný daný vyšetřovaný kmen. Po kultivaci se médium vyhodnotí v podobě tzv. inhibičních zón. (1)

#### **8.4.2 Diluční bujónová metoda a E-test**

Kvantitativní metoda, která se užívá k vyšetření efektivity antibiotik a je závislá na minimální inhibiční koncentraci (MIC) a minimální baktericidní koncentraci (MBC). Tvoří ji dvě prováděná stanovení. (1)

K provedení diluční bujónové metody jsou potřeba zkumavky s obsahem bujónu a stoupající koncentrací antibiotik, případně mikrotitrační destičky pro manuální stanovení. Při stanovení v mikrotitrační destičce se do již předpřipravené destičky (naplněna bujónem s antibiotiky) nainokuluje kultura vyšetřovaného kmene. Poté dochází ke kultivaci při 37 °C 18-24 hodin. Následující den se provádí posouzení MIC a MBC. Tuto metodu je možno realizovat i automaticky. (1)

Druhou metodu představuje E-test, který se provádí na pevných půdách prostřednictvím proužku napuštěného odlišnými koncentracemi antibiotik. MIC se posuzuje dle narůstajících bakterií v oblasti proužku. (1)

### **8.5 Identifikace**

K identifikaci enterobakterií se využívají nejčastěji metody ENTEROtest 16, MALDI-TOF MS a aglutinace. (1, 23)

#### **8.5.1 ENTEROtest 16**

Před stanovením se musí vždy provést kontrola kvality činidel a reakcí. Ta je možná pomocí příslušných kontrolních kmenů. Jednotlivé kmeny jsou lyofilizované nebo umístěné na discích se želatinou. (23)

Nejdříve se vyšetřovaná čistá kultura smísí s 3 ml fyziologického roztoku. Do jednotlivých jamek mikrotitrační destičky se napipetuje 0,1 ml smíchané směsi. Dále se postupuje dle návodu přiloženém k testu. Tam, kde se mají odehrát anaerobní podmínky, je potřeba přidat dvě kapky parafinového oleje. Po nakapání všech jamek je nutné vložit mikrotitrační destičku do neprůhledného obalu. Poté se destička kultivuje při standardních podmínkách pro enterobakterie (37 °C 18-24 hodin). Před odečtem je zapotřebí do jamek pro tvorbu indolu a deaminace fenylalaninu přidat příslušná činidla, které souprava obsahuje. Odečtení reakce v časovém rozmezí podle návodu probíhá prostřednictvím diagnostické tabulky dodané v soupravě, výsledky se zapisují do tabulky, která je též součástí soupravy. Konečnou identifikaci je možno provést pomocí TNW (mikrobiologický identifikační systém) díky identifikačnímu skóre a T indexu. (23)

### 8.5.2 MALDI-TOF MS

Ke konečné identifikaci enterobakterií slouží metoda MALDI-TOF MS. Tu může v mikrobiologické laboratoři provádět pouze proškolený pracovník.

### 8.5.3 Aglutinace

Pro sérotypizaci enterobakterií se ve FN Plzeň nejčastěji provádí zpětná aglutinace jinak zvaná aglutinace na sklíčku. K aglutinaci se přistupuje, pokud při identifikaci není jednoznačný výsledek, ale objevuje se pouze podezření, o jakou enterobakterii by mohlo jít. K provedení jsou zapotřebí pomůcky jako podložní sklíčka, bakteriologické kličky a komerčně vyráběná séra od firmy BIO-RAD, SIFIN, I TEST. (30)

#### A. Aglutinace v rámci rodu *Salmonella*

Pro zpětnou aglutinaci salmonel je zapotřebí vykultivovaný kmen z tuhého média, případně z šikmého agaru. Ten se na podložním sklíčku smíchá s aglutinačním sérem. Prvním krokem bývá použití aglutinačních sér, kdy následná identifikace spěje k *Salmonella* Enteritidis nebo *Salmonella* Typhimurium. Ty jsou prokázány pomocí Salmonella H antiséra m (*Salmonella* Enteritidis) nebo Salmonella H antiséra 2 (*Salmonella* Typhimurium). Pokud jsou reakce negativní, přechází se k provedení dalších aglutinací podle Kauffmann-White schématu. Jestliže víme, že se jedná o salmonelu, ale sérotypizací není kmen dourčen, zasílá se do SZÚ (Státní zdravotní ústav) Praha do NRL (Národní referenční laboratoř). (30)



Obrázek 10: Pozitivní zpětná aglutinace u *Salmonella* Enteritidis, zdroj vlastní

#### B. Sérotypizace v rámci rodu *Escherichia*

K identifikaci nejčastějšího zástupce *Escherichia coli* se dospěje inokulací kolonie na chromogenní půdu. Poté se přistupuje ke zpětné aglutinaci pomocí aglutinačních sér. K identifikaci laktosa negativních escherichií dále slouží MALDI-TOF MS nebo krátká řada biochemických testů. (30)

Jelikož je analýza a interpretace výsledků směřována hlavně na salmonely a escherichie, v rámci sérotypizace se objevily pouze tyto enterobakterie.

## **8.6 Finální identifikace**

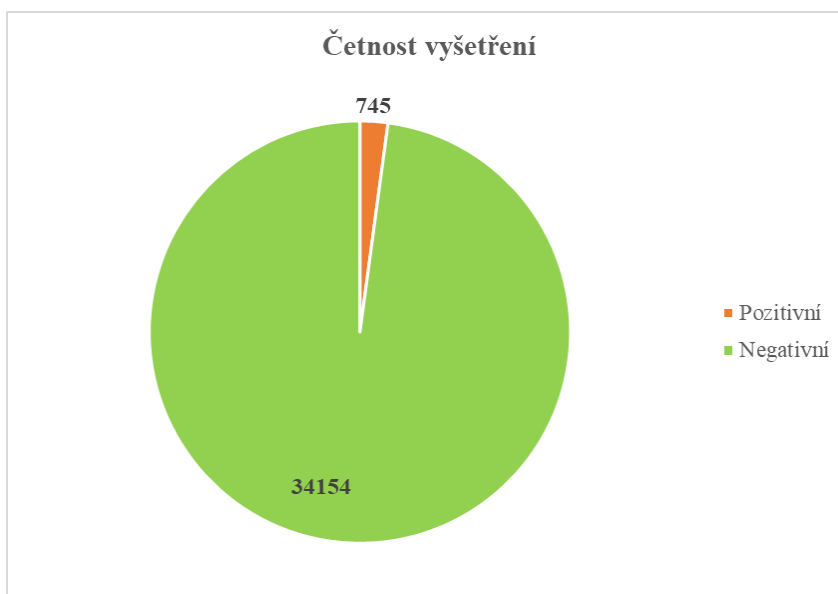
Při konečné identifikaci je třeba přihlížet ke všem provedeným metodám a druhu biologického materiálu. Finální určení je zaznamenáno do LIS.

## 9 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Analýza výsledků zaznamenaných v LISu byla provedena za období 2020 až 2023. Výsledná data jsou zhodnocena pomocí grafů a tabulek. Byly vyřazeny duplicitní vzorky.

### 9.1 VO 1: Jaká je četnost výskytu původců infekcí GIT z řad enterobakterií ve FN Plzeň v uvedeném období 2020 až 2023?

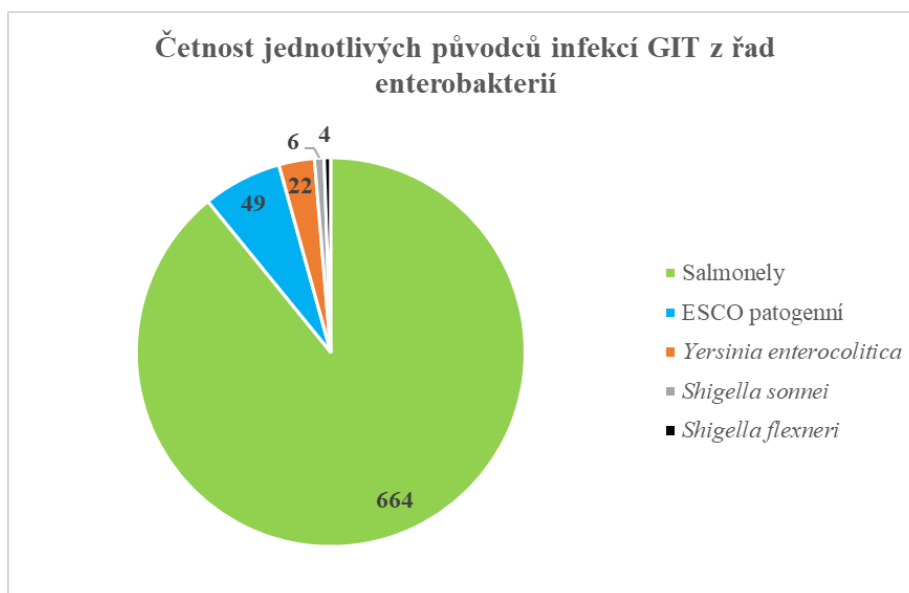
Graf 1: Počet pozitivních a negativních vyšetření



Zdroj: Vlastní zpracování dle poskytnutých dat z Ústavu mikrobiologie FN Plzeň

Na Ústavu mikrobiologie FN Plzeň bylo k diagnostice střevních patogenů za období 2020 až 2023 vyšetřeno celkem 34899 vzorků, ze kterých bylo pouze 745 pozitivních na enterobakterie.

Graf 2: Původci infekcí GIT z řad enterobakterií



Zdroj: Vlastní zpracování dle poskytnutých dat z Ústavu mikrobiologie FN Plzeň

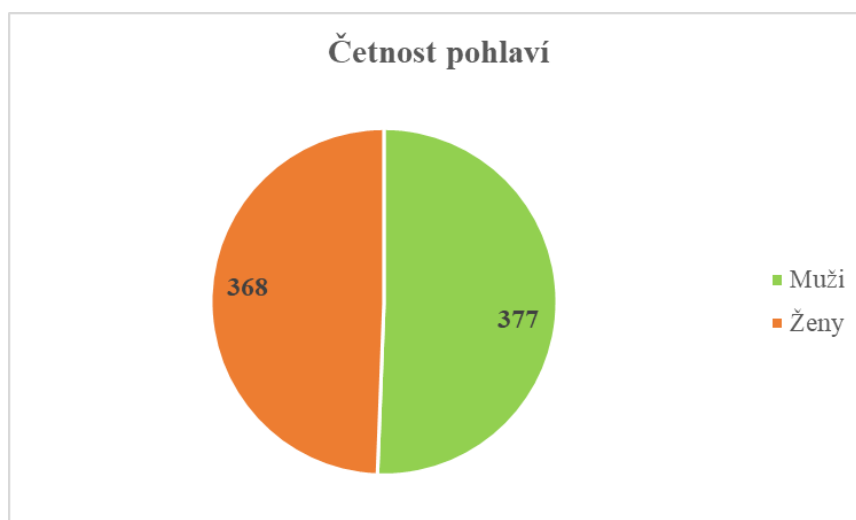
Ze 745 pozitivních vzorků byly nejvíce zastoupenými salmonely. Jednalo se o více než  $\frac{3}{4}$  výsledků, přesněji 664, pozitivních na enterobakterie.

Druhým nejčastěji zastoupeným druhem byly patogenní ESCO v počtu 49 pozitivních výsledků.

*Yersinia enterocolitica* byla diagnostikována 22×.

Nejméně se objevily *Shigella sonnei* (6×) a *Shigella flexneri* (4×).

*Graf 3: Vliv pohlaví na infekce vyvolané střevními patogeny*



*Zdroj: Vlastní zpracování dle poskytnutých dat u Ústavu mikrobiologie FN Plzeň*

Častější výskyt enterobakterií byl prokázal u mužů, celková četnost pozitivních výsledků u nich byla 377. U žen byla pozitivita diagnostikována u 368 výsledků.

**9.2 VO 2: Které sérovary salmonel se v uvedeném období 2020 až 2023 vyskytly ve FN Plzeň a v jakém zastoupení?**

*Tabulka 2: Jednotlivé sérovary salmonel a jejich počet*

<b>Sérovar salmonel</b>	<b>Počet</b>
<i>Salmonella</i> Enteritidis (SAEN)	580
<i>Salmonella</i> Typhimurium	37
<i>Salmonella</i> Infantis	10
<i>Salmonella</i> Virchow	6
<i>Salmonella</i> Schleissheim	4
<i>Salmonella</i> Oranienburg	4
<i>Salmonella</i> Goldcoast	3
<i>Salmonella</i> Choleraesuis	2
<i>Salmonella</i> London	2
<i>Salmonella</i> Schwarzengrund	2
<i>Salmonella</i> Bovismorbificans	1
<i>Salmonella</i> Corvallis	1
<i>Salmonella</i> Panama	1
<i>Salmonella</i> Strathcona	1
<i>Salmonella</i> Bredney	1
<i>Salmonella</i> Stanley	1
<i>Salmonella</i> Hadar	1
<i>Salmonella</i> Coeln	1



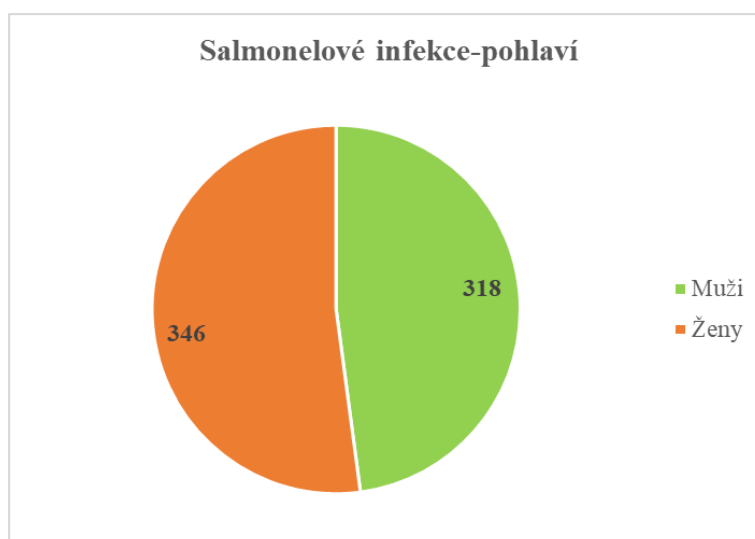
<i>Salmonella</i> Ibadan	1
<i>Salmonella</i> Mbandaka	1
<i>Salmonella</i> Rubislaw	1
<i>Salmonella</i> Saintpaul	1
<i>Salmonella</i> Vitkin	1
Nedourčeno	1

*Zdroj: Vlastní zpracování dle poskytnutých dat z Ústavu mikrobiologie FN Plzeň*

Tabulka 2 zobrazuje jednotlivé sérovary salmonel a jejich celkový počet, které byly během let 2020 až 2023 identifikovány na Ústavu mikrobiologie FN Plzeň.

Nejvíce, v 87 %, se vyskytla SAEN v přesném počtu 580 pozitivních výsledků.

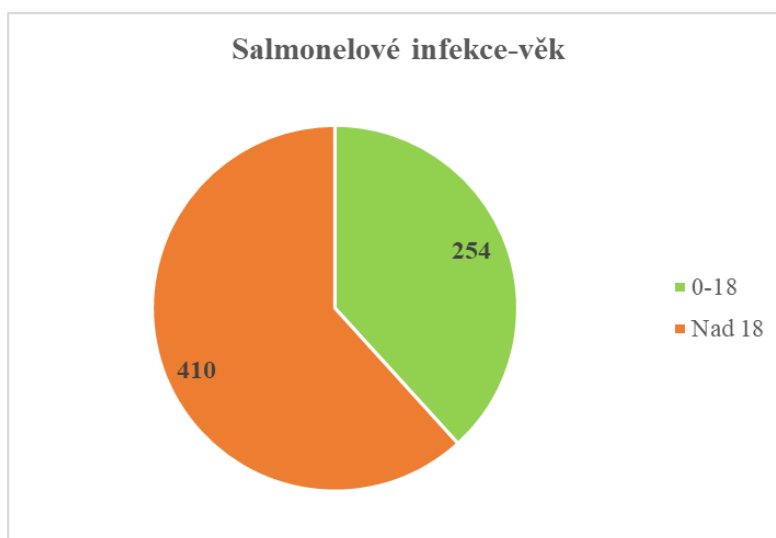
*Graf 4: Vliv pohlaví u salmonelových infekcí*



*Zdroj: Vlastní zpracování dle poskytnutých dat z Ústavu mikrobiologie FN Plzeň*

Salmonelové infekce byly více diagnostikovány u žen, konkrétně ve 346 případech. U mužů se vyskytly v počtu 318.

*Graf 5: Vliv věku u salmonelových infekcí*

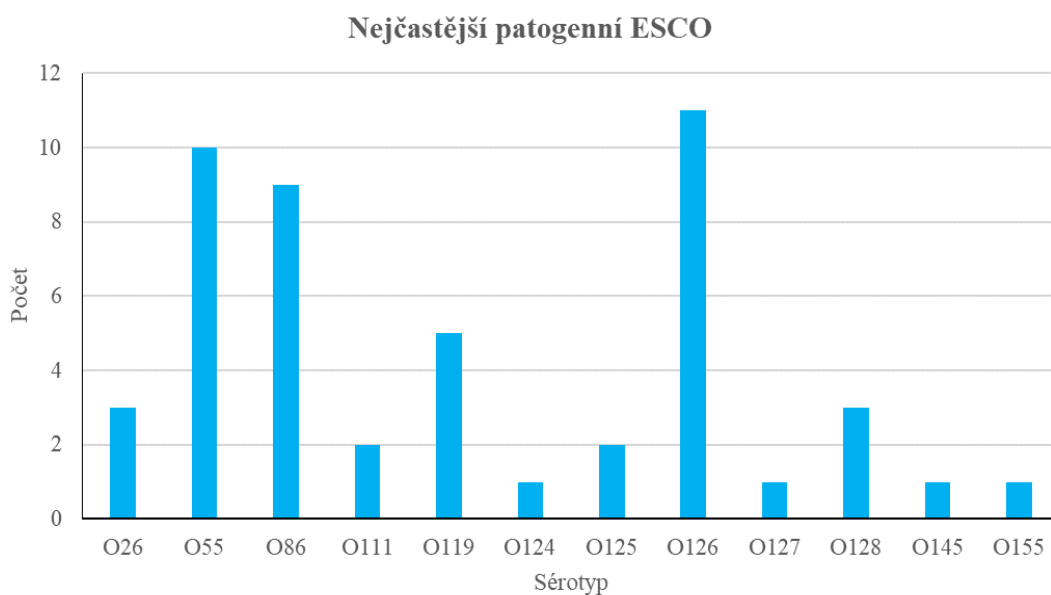


*Zdroj: Vlastní zpracování dle poskytnutých dat z Ústavu mikrobiologie FN Plzeň*

Z grafu 5 je zjevné, že četnější výskyt salmonelových infekcí byl u pacientů nad 18 let. Z 664 výsledků pozitivních na salmonely byla více než polovina, přesněji 410 výsledků, od pacientů starších 18 let. Pacientů mladších 18 let bylo pozitivně diagnostikováno 254.

### 9.3 VO 3: Jaký nejčastější typ patogenní *Escherichia coli* byl zachycen ve FN Plzeň v uvedeném období 2020 až 2023?

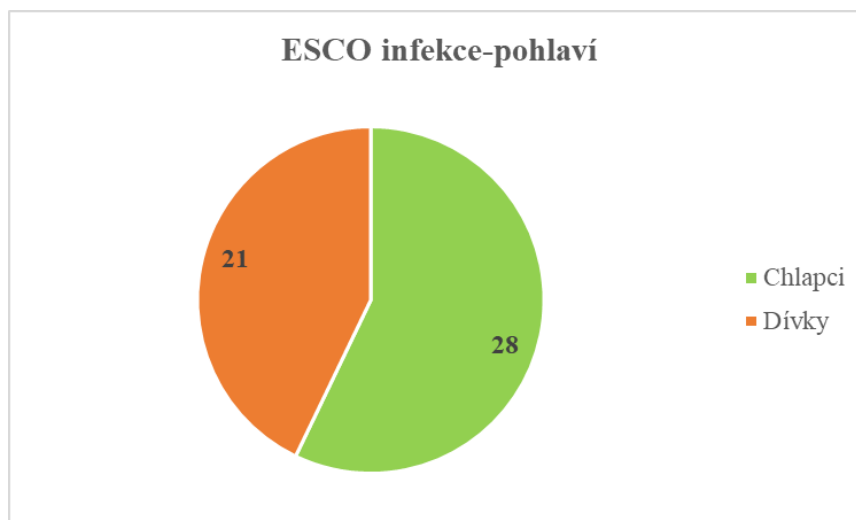
Graf 6: Frekvence výskytu jednotlivých sérotypů patogenních ESCO



Zdroj: Vlastní zpracování dle poskytnutých dat z Ústavu mikrobiologie FN Plzeň

Nejfrekventovanějším sérotypem patogenní ESCO byl O126, vyskytl se celkem 11×, další časté sérotypy byly O55, který se objevil 10×, a O86 9×. Nejméně zachycenými byly sérotypy O124, O127, O145 a O155.

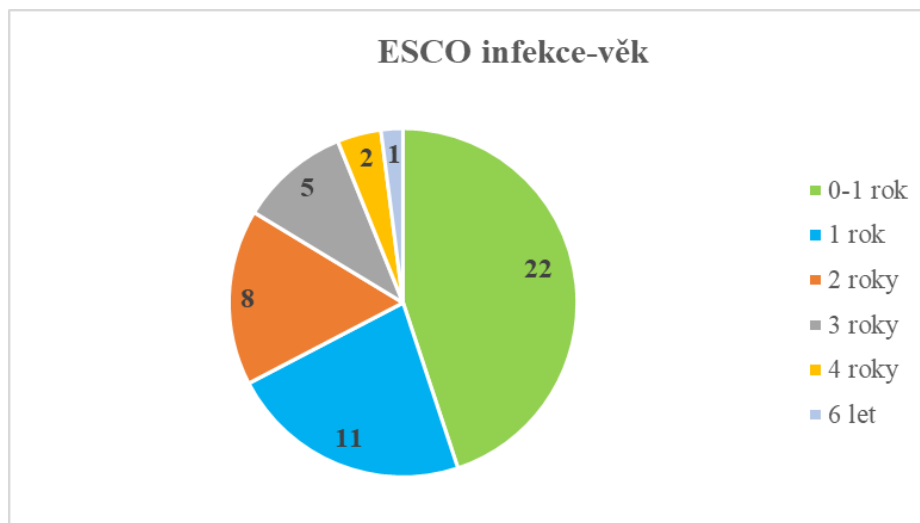
Graf 7: Vliv pohlaví u infekcí dětí do 6 let způsobených patogenními ESCO



Zdroj: Vlastní zpracování dle poskytnutých dat z Ústavu mikrobiologie FN Plzeň

Častěji se vyskytly u chlapců. Počet pozitivních výsledků u nich byl 28, u dívek 21.

Graf 8: Vliv věku u infekcí způsobených patogenními ESCO



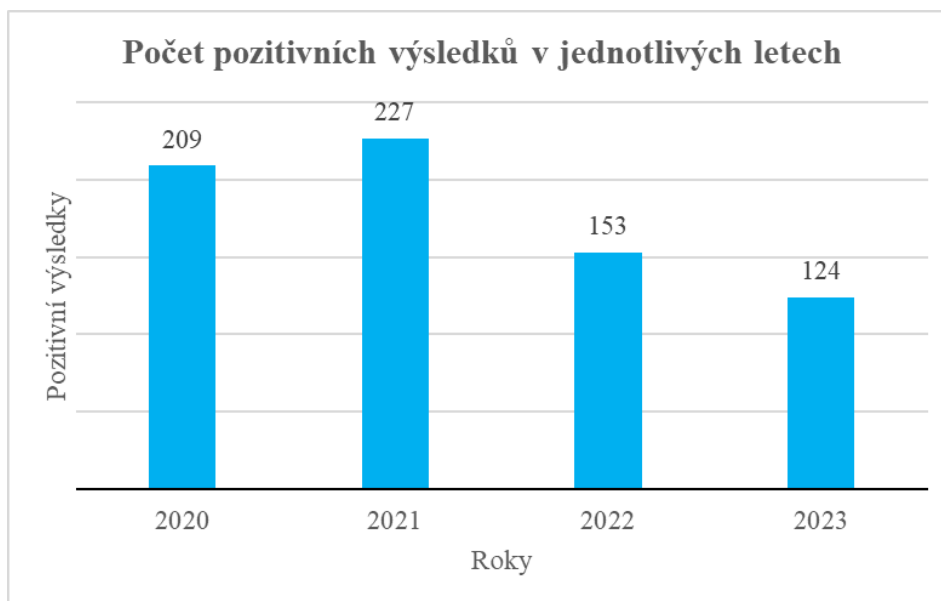
Zdroj: Vlastní zpracování dle poskytnutých dat z Ústavu mikrobiologie FN Plzeň

Graf 8 je rozdělen na 6 oddílů dle věkové kategorie dětí.

Nejvíce se patogenní ESCO diagnostikovaly u dětí ve věku 0-1 rok, v počtu 22 pozitivních výsledků. Druhou nejčastěji zastoupenou věkovou skupinou byl věk 1 rok, kde se objevily již v polovičním počtu 11. U dětí ve věku 2 a 3 roky bylo diagnostikováno 8 a 5 pozitivních výsledků. Nejméně se patogenní ESCO objevily u dětí ve věku 4 a 6 let.

## 9.4 VO 4: Měla pandemie COVID-19 vliv na infekce GIT?

Graf 9: Počty pozitivních výsledků dle jednotlivých let



Zdroj: Vlastní zpracování dle poskytnutých dat z Ústavu mikrobiologie FN Plzeň

Z grafu 9 lze vyčíst, že během pandemie COVID-19, která probíhala převážně v letech 2020 a 2021, bylo celkem 436 výsledků pozitivních na enterobakterie, konkrétně v roce 2020 jich bylo 209 a v roce 2021 227. V době nekovidové jich bylo méně, pouze 277, a to v roce 2022 153 a v roce 2023 124.

## DISKUZE

Hlavním cílem bakalářské práce bylo zmapovat výskyt vybraných patogenů GIT diagnostikovaných ve FN Plzeň během let 2020 až 2023 a vyhodnotit získaná data z laboratoře. Celkově bylo na Ústavu mikrobiologie FN Plzeň vyšetřeno 34899 vzorků. Diagnostika probíhala ve třech laboratořích označených C, D a I. Rozdělení laboratoří není na základě zpracovávaného materiálu, ale podle materiálů z jednotlivých klinik FN. V laboratoři C bylo vyšetřeno 5341 vzorků, v laboratoři D 14900 vzorků a v laboratoři I 14658 vzorků. K interpretaci získaných dat z laboratoře jsem si položila čtyři výzkumné otázky, ve kterých jsem zhodnotila výsledky pomocí grafů a tabulek. V praktické části jsem převážně kladla důraz na rody *Salmonella* a *Escherichia*.

1. Jaká je četnost výskytu původců infekcí GIT z řad enterobakterií ve FN Plzeň v uvedeném období 2020 až 2023?

Z již zmíněných celkově vyšetřených 34899 vzorků k diagnostice střevních patogenů bylo pouze 745 pozitivních na enterobakterie a 34154 negativních. Při zpracování sběru dat byly vyřazeny duplicitní vzorky. Nejvíce zastoupenými enterobakteriemi byly salmonely, které tvořily 89 % z celkového počtu pozitivních výsledků, konkrétně 664 výsledků. Druhým nejčastěji se vyskytujícím druhem byly patogenní ESCO, které byly pozitivně diagnostikovány 49×. Dalšími významnými enterobakteriemi byly yersinie a shigely. Konkrétní druh *Yersinia enterocolitica* se v období 2020 až 2023 diagnostikoval ve FN Plzeň 22×, shigely představovaly pouze nepatrný výskyt ze všech pozitivních výsledků (celkový počet *Shigella sonnei* byl 6 a *Shigella flexneri* 4). Dalším kritériem četnosti výskytu původců infekcí GIT z řad enterobakterií bylo pohlaví, kdy bylo prokázáno, že zvýšený počet pozitivních výsledků byl u mužů v počtu 377. Šlo ale pouze o nepatrné zvýšení oproti ženám, u kterých byly střevní infekce diagnostikovány 368×. V souvislosti s touto výzkumnou otázkou mě zajímalo, na kterém oddělení se střevní patogeny vyskytovaly nejvíce. Bylo zjištěno, že z celkových 745 pozitivních výsledků se nejvíce, a to 283×, enterobakterie vyskytly na infekční příjmové ambulanci.

2. Které sérovary salmonel se v uvedeném období 2020 až 2023 vyskytly ve FN Plzeň a v jakém zastoupení?

V rámci výzkumné otázky 2 byla vytvořena tři kritéria. Prvním bylo zjistit, které sérovary salmonel se v uvedeném období vyskytly ve FN Plzeň a v jakém početném

zastoupení. Byla vytvořena tabulka, která shrnuje konkrétní sérovar salmonel a jejich počet. Před analýzou výsledků byla má domněnka, že se nejvíce diagnostikovaly SAEN a *Salmonella* Typhimurium, jelikož v našich podmínkách vyvolávají tyto dva druhy průjmové infekce nejčastěji. Nejvíce se na Ústavu mikrobiologie FN Plzeň diagnostikoval sérovar SAEN, který tvořil 580 výsledků z celkově 664 pozitivních. Za zmínku ještě stojí druhý nejčastěji se vyskytující sérovar, což byl *Salmonella* Typhimurium, který byl diagnostikován 37×. Ostatní sérovary se vyskytly pouze v nepatrném množství. Druhým kritériem bylo pohlaví. Zde nebyl zaznamenán žádný výrazný rozdíl mezi muži a ženami. Početně salmonelové infekce postihly více ženy, a to 346×. U mužů se diagnostikovaly 318×. Některé sérovary se vyskytly pouze u mužů, jiné pouze u žen. U mužů se oproti ženám diagnostikovaly sérovary Goldcoast, London, Bovismorbificans, Panama, Strathcona, Bredney, Stanley, Rubislaw, Saintpaul a Vitkin. Pouze u žen se diagnostikovaly sérovary Corvallis, Hadar, Coeln, Ibadan a Mbandaka. Posledním kritériem byl věk, kde jsem salmonelové infekce rozdělila na ty postihující jedince od narození do 18 let věku a na starší 18 let. Mé očekávání bylo, že infekce více postihovaly osoby starší 18 let, a to se potvrdilo. Původci salmonelových infekcí se u osob zletilých diagnostikovaly v 62 %, konkrétně 410 výsledků z celkových 664. Stejně jako u pohlaví, i u těchto dvou věkových skupin se vyskytovaly pouze některé sérovary salmonel. U nezletilých jedinců se oproti druhé věkové skupině diagnostikovaly sérovary Bredney, Coeln, Ibadan, Saintpaul a Vitkin. U zletilých osob se vyskytly sérovary Virchow, Goldcoast, Choleraesuis, London, Bovismorbificans, Corvallis, Panama, Strathcona, Stanley, Hadar, Mbandaka a Rubislaw. Jeden sérovar nebyl dourčen, ani z NRL.

### 3. Jaký typ patogenní *Escherichia coli* byl zachycen ve FN Plzeň v uvedeném období 2020 až 2023?

Za období 2020 až 2023 se ve FN Plzeň objevilo celkem 12 různých sérotypů patogenních ESCO. Nejčastěji vyskytujícími byly O126 (11×), O55 (10×) a O86 (9×). Všechny tyto tři sérotypy jsou součástí kmene EPEC. Nejméně zachycenými byly sérotypy O124, O127, O145 a O155, každý se v uvedeném období diagnostikoval 1×. I u této výzkumné otázky byly dalšími kritérii pohlaví a věk. Z celkových 49 pozitivních výsledků tvořili chlapci 28 pozitivních výsledků a dívky 21 pozitivních výsledků. Ke kritériu věk je nutno říci, že ve FN Plzeň se vyšetřují pouze děti do 3 let věku či děti starší 3 let, které se vrátily ze zahraničí a v jejich případě se jedná o cestovatelské průjmy. Graf 8 zachycující vliv věku u infekcí způsobených patogenními ESCO tudíž zobrazuje pouze věkové rozpětí

0-6 let. Nejvíce postiženou skupinou, která trpěla průjmy, byly kojenci. Z grafu je též zjevné, že potvrzené pozitivní výsledky se nejvíce diagnostikovaly u nejmladších jedinců a nejméně u nejstarších uvedených jedinců. Děti starší 3 let, které byly vyšetřeny a diagnostikovány na patogenní ESCO, byly 3. U jedince ve věku 6 let byl potvrzen jeho návrat ze zahraničí.

#### 4. Měla pandemie COVID-19 vliv na infekce GIT?

Tuto výzkumnou otázku jsem si položila, jelikož mě zajímalo, jestli se během vyskytující se pandemie COVID-19 snížil nebo zvýšil počet výskytu pozitivních případů infekcí GIT. Má domněnka byla, že se během pandemie vyšetřovalo méně vzorků kvůli karanténě obyvatelstva, tudíž bylo i méně pozitivních výsledků. Vytvořila jsem graf, který zobrazuje, že tento předpoklad byl mylný. V grafu 9 jsou vyobrazeny jednotlivé roky 2020, 2021, 2022 a 2023. V letech 2020 a 2021 se COVID-19 na světě vyskytoval ve zvýšené míře, označila bych toto období jako “kovidová doba”. Naopak roky 2022 a 2023 bych označila jako “nekovidová doba”, ikdyž onemocnění bylo zachycováno dále, ale již ve sníženém množství. Zhodnocení výsledků tedy je, že během ve zvýšené míře vyskytující se pandemii COVID-19 (roky 2020 a 2021) se střevní infekce diagnostikovaly u 436 pacientů (v roce 2020 209 a v roce 2021 227), což je téměř o polovinu více než v letech 2022 a 2023, kdy se infekce diagnostikovaly u 277 jedinců (v roce 2022 153 a v roce 2023 124).



## ZÁVĚR

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo zmapovat výskyt vybraných patogenů GIT, které byly diagnostikovány na Ústavu mikrobiologie FN Plzeň během let 2020 až 2023, a vyhodnotit získaná data z laboratoře.

V teoretické části byly nejprve popsány enterobakterie, a to jejich morfologie, kultivace, biochemické vlastnosti, antigenní struktura, výskyt, faktory virulence, epidemiologie, která se věnovala zdroji nákazy, druhy možného přenosu a infekcemi, které mohou enterobakterie vyvolávat, terapie a protiepidemická opatření. Následující obsáhlá kapitola se věnovala epidemiologicky nejvýznamnějším enterobakteriím, u kterých byly popsány jejich vlastnosti, patogeneze, možná onemocnění a terapie, jako v kapitole první, ale tento popis byl již specifický pro jednotlivé druhy. Další kapitola se zabývala ostatními, méně známými, avšak epidemiologicky důležitými druhy enterobakterií. I u nich byly popsány jejich vlastnosti, patogeneze, vyvolané infekce a terapie. Poslední kapitola teoretické části byla zaměřena na laboratorní diagnostiku enterobakterií. Byly v ní popsány metody, které lze využít k identifikaci střevních patogenů.

Praktická část se zabývala metodikou práce a analýzou a interpretací výsledků. Nejdříve byl popsán odběr možného biologického materiálu. Dále se kapitola věnovala metodám užívajícím k diagnostice střevních patogenů ve FN Plzeň. Nejvíce používanými metodami byly kultivace, ENTEROtest 16, MALDI-TOF MS a zpětná aglutinace. Následující kapitola obsahovala interpretovaná sbíraná data za období 2020 až 2023, která byla získána z Ústavu mikrobiologie FN Plzeň. K interpretaci výsledků byly vytvořeny grafy a tabulky. V praktické části byl převážně kladen důraz na rody *Salmonella* a *Escherichia*.

Závěrem lze konstatovat, že průjmová onemocnění patří mezi jedny z aktuálně nejčastějších infekcí, kterými trpí celá populace. Některé mohou být epidemiologicky závažné pro komunitu, např. salmonelové infekce, u kterých je v případě komunitních infekcí nutná okamžitá karanténa jedinců. Nutností lékařů je zvážit antibiotickou léčbu, kvůli které v některých případech dochází k zvýšenému vylučování enterobakterií nebo jsou vůči antibiotikům odolné. Hlavním doporučením pro jedince, kteří trpí průjmy, je dostatek tekutin, podání probiotik a prebiotik a dietní strava. Dalším doporučením je dodržování protiepidemických opatření, mezi nejvýznamnější patří správné hygienické návyky, důraz je převážně kladen na osobní hygienu, kvalita pitné vody, tepelné zpracování potravin a případné očkování.

## SEZNAM LITERATURY

1. HURYCH, Jakub a ŠTÍCHA, Roman et al. *Lékařská mikrobiologie: repetitorium*. 3. vydání. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2021. ISBN 978-80-7553-976-2.
2. KOLÁŘOVÁ, Libuše et al. *Obecná a klinická mikrobiologie*. Praha: Galén, [2020]. ISBN 978-80-7492-477-4.
3. JULÁK, Jaroslav. *Úvod do lékařské bakteriologie*. Praha: Karolinum, 2006. ISBN 80-246-1270-4.
4. VOTAVA, Miroslav a kol. *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, c2010. ISBN 978-80-86850-04-8.
5. MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, Ken S. a PFALLER, Michael A. *Medical microbiology*. Online. 8th edition. Philadelphia: Elsevier, 2016. ISBN 978-0-323-29956-5.  
Dostupné z:  
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjkrZ2kmtGEAxUBxQIHHTN-C-AQFnoECA8QAQ&url=https%3A%2F%2Fpre-med.jumedicine.com%2Fwp-content%2Fuploads%2Fsites%2F7%2F2018%2F09%2FMurray-Medical-Microbiology-8th-Edition-c2016.pdf&usg=AOvVaw0rDflu4pSyFdISWqRjKwtD&opi=89978449>. [cit. 2023-10-29].
6. SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Sestra (Grada). Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4771-2.
7. CORNELISSEN, Cynthia N. a HOBBS, Marcia M. *Microbiology*. Fourth edition. Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo: Wolters Kluwer, 2019. ISBN 978-9751-1831-0.
8. MELTER, Oto a MALMGREN, Annika. *Principy a praktika lékařské mikrobiologie*. Praha: Karolinum, 2014. ISBN 978-80-246-2414-3.
9. GÖPFERTO VÁ, Dana a PAZDIORA, Petr a kol. *100 infekcí: (epidemiologie pro praxi)*. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2015. ISBN 978-80-7387-846-7.

10. KLABAN, Vladimír. *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*. Praha: Galén, c2005. ISBN 80-726-2341-9.
11. SEDLÁK, Kamil a TOMŠÍČKOVÁ, Markéta. *Nebezpečné infekce zvířat a člověka*. Biologie pro všední den. Praha: Scientia, 2006. ISBN 80-869-6007-2.
12. MACELA, Aleš a kol. *Infekční choroby a intracelulární parazitismus bakterií*. Malá monografie (Grada). Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-0664-4.
13. GÖPFERTOVÁ, Dana; PAZDIORA, Petr a DÁŇOVÁ, Jana. *Epidemiologie: obecná a speciální epidemiologie infekčních nemocí*. 2., přeprac. vyd. Praha: Karolinum, 2013. ISBN 978-80-246-2223-1.
14. MOSIO, Petra. *Atlas bakterií*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2012. ISBN 978-80-7395-467-3.
15. BENEŠ, Jiří. *Infekční lékařství*. Praha: Galén, c2009. ISBN 978-80-7262-644-1.
16. HAMPLOVÁ, Lidmila. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena pro bakalářské studium a všechny typy zdravotnických škol*. 3., aktualizované vydání. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2022. ISBN 978-80-7684-122-2.
17. ŠULCOVÁ, Margaréta. *Mikrobiologie, epidemiologie, hygiena: učební texty pro zdravotnické obory*. Vydání třetí přepracované. Ústí nad Labem: Univerzita Jana Evangelisty Purkyně v Ústí nad Labem, Fakulta zdravotnických studií, 2018. ISBN 978-80-7561-116-1.
18. SMETANA, Jan et al. *Vysoce nebezpečné nákazy*. Edice postgraduální medicíny. Praha: Mladá fronta, 2018. ISBN 978-80-204-4655-8.
19. GOERING, Richard V.; ZUCKERMAN, Mark; DOCKREL, Hazel M.; CHIODINI, Peter L., foreword by Cedric Mims. *MIMS Medical Microbiology AND Immunology*. Sixth edition. Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto: Elsevier, 2019. ISBN 978-0-7020-7154-6.
20. SCHINDLER, Jiří. *Ze života bakterií*. Průhledy (Academia). Praha: Academia, 2008. ISBN 978-80-200-1666-9.

21. JINDRÁK, Vlastimil; HEDLOVÁ, Dana a URBÁŠKOVÁ, Pavla a kol. *Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici*. Aeskulap. Praha: Mladá fronta, 2014. ISBN 978-80-204-2815-8.
22. KUZMA, Jozef a CHMELAŘ, Dittmar. *Praktická cvičení z lékařské mikrobiologie I*. Ostrava: Ostravská univerzita, 2020. ISBN 978-80-7599-200-0.
23. KOPECKÁ, Jana a ROTKOVÁ, Gabriela. *Skripta ke cvičení z obecné mikrobiologie, cytologie a morfologie bakterií*. Online. Brno: Masarykova univerzita, 2017. Dostupné z: [https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/js17/cviceni\\_mikrobiologie/web/pages/identifikace\\_bakterii.html](https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/js17/cviceni_mikrobiologie/web/pages/identifikace_bakterii.html). [cit. 2024-02-04].
24. LIN, Alice V. Direct ELISA. Online. *ELISA. Methods in Molecular Biology*. 2015, s. 61-67. ISBN 978-1-4939-2741-8. Dostupné z: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2742-5\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2742-5_6). [cit. 2024-01-03].
25. DAI, Shutao a LONG, Yan. Genotyping Analysis Using an RFLP Assay. Online. *Plant Genotyping. Methods in Molecular Biology*. 2015, s. 91-99. ISBN 978-1-4939-1965-9. Dostupné z: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1966-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1966-6_7). [cit. 2024-01-03].
26. NEOH, Hui-min; TAN, Xin-Ee; SAPRI, Hassriana Fazilla a TAN, Toh Leong. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE): A review of the “gold standard” for bacteria typing and current alternatives. Online. *Infection, Genetics and Evolution*. 2019, roč. 74. ISSN 15671348. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.103935>. [cit. 2024-01-03].
27. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun, 2005. ISBN 80-868-5000-5.
28. CHMELAŘ, Dittmar a KUZMA, Jozef. *Praktická cvičení z lékařské mikrobiologie II*. Ostrava: Ostravská univerzita, 2021. ISBN 978-80-7599-235-2.
29. ŽEMLIČKOVÁ, Helena a kol. *Praktikum lékařské mikrobiologie*. Praha: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 2019. ISBN 978-80-246-4378-6.
30. *Pracovní postup Ústavu mikrobiologie FN Plzeň, PP/MIKRO/BAK/009/05*. 2021.

## **SEZNAM PŘÍLOH**

- Příloha A – Povolení sběru informací ve FN Plzeň
- Příloha B – Kolonie ESCO na EA
- Příloha C – Kolonie ESCO na XLD agaru
- Příloha D – Kolonie SAEN na EA
- Příloha E – Kolonie SAEN na EA
- Příloha F – Kolonie SAEN na XLD agaru
- Příloha G – Aglutinační séra pro diagnostiku salmonel
- Příloha H – Aglutinační séra pro diagnostiku ESCO

# PŘÍLOHY

## Příloha A – Povolení sběru informací ve FN Plzeň



Vážená paní  
Pavla Baumruková  
Studentka oboru Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví  
Fakulta zdravotnických studií, Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví  
Západočeská univerzita v Plzni

### Povolení sběru informací ve FN Plzeň

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro vnější vztahy a spolupráci s LF Fakultní nemocnice Plzeň **uděluji souhlas** se získáváním / zpracováním anonymizovaných informací o laboratorních metodách / analýzách / výsledcích těchto metod, včetně jejich statistického zpracování, používaných na pracovišti Ústavu mikrobiologie (MIKRO) FN Plzeň. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „Patogenní enterobakterie a jejich laboratorní diagnostika“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Vrchní zdravotní laborantka MIKRO souhlasí s Vaším postupem.
- Osobně provedete svoje šetření.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, ochrany dat pacientů a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb., o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.**
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, pokud budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe na MIKRO, pod přímým vedením oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je pan **RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D., přednosta MIKRO FN Plzeň.**

Po zpracování Vámi zjištěných údajů poskytnete zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

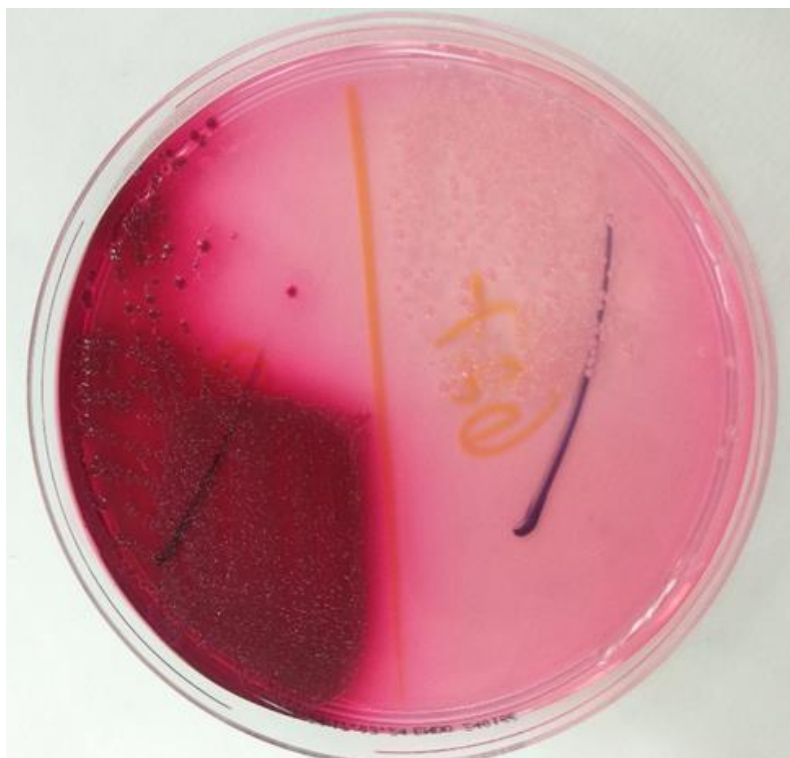
Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

**Mgr. Bc. Světluše Chabrová**  
Manažerka pro vzdělávání nelékařů  
Útvar náměstkyně pro vnější vztahy a spolupráci s LF

Fakultní nemocnice Plzeň  
Edvarda Beneše 1128/13, 301 00 Plzeň  
Tel: 377 401 663  
E-mail: [chabrovas@fnplzen.cz](mailto:chabrovas@fnplzen.cz)

11. 9. 2023

## **Příloha B – Kolonie ESCO na EA**



*Zdroj: Ústav mikrobiologie FN Plzeň*

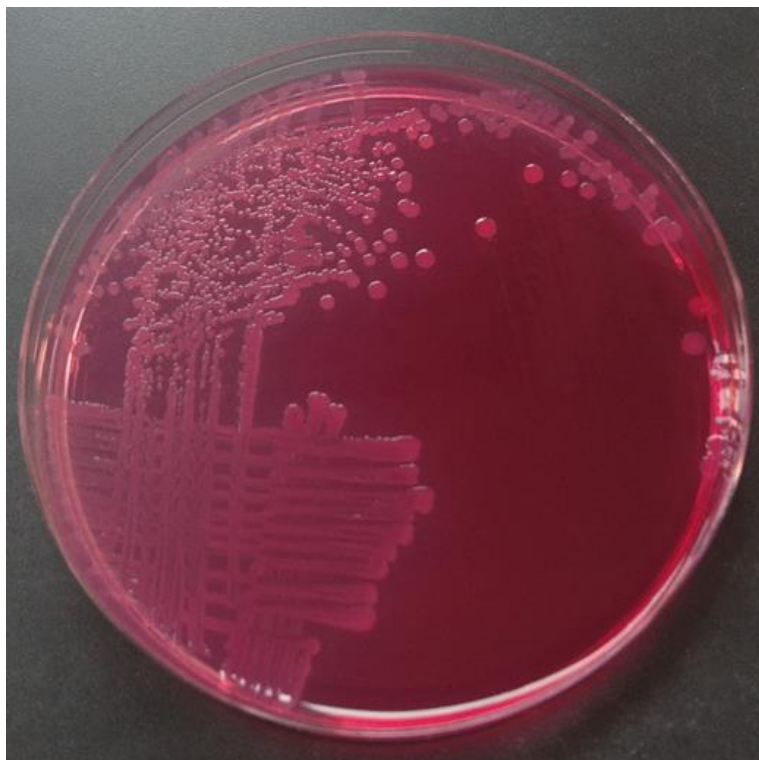
## Příloha C – Kolonie ESCO na XLD agaru



*Zdroj: Ústav mikrobiologie FN Plzeň*

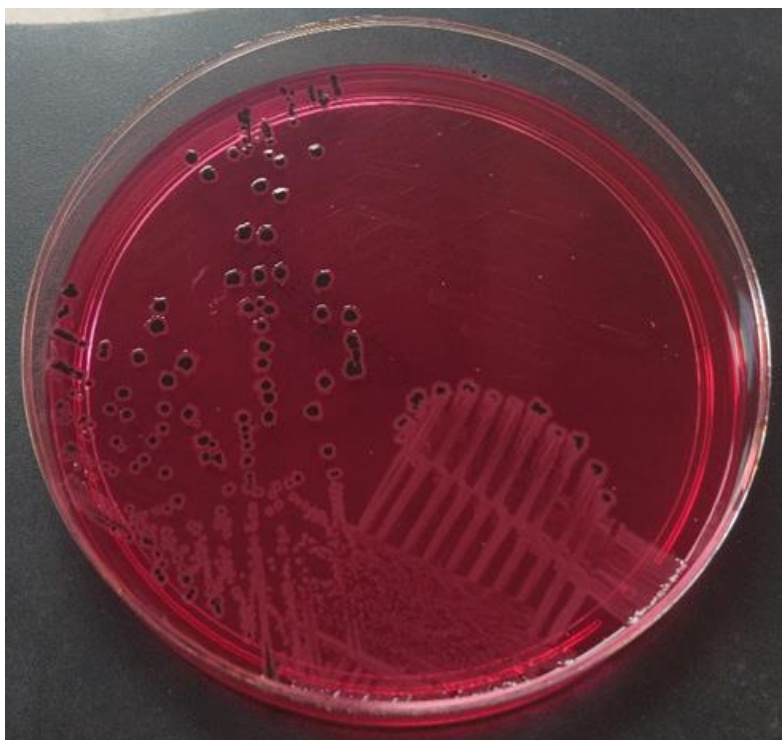


## **Příloha D – Kolonie SAEN na EA**



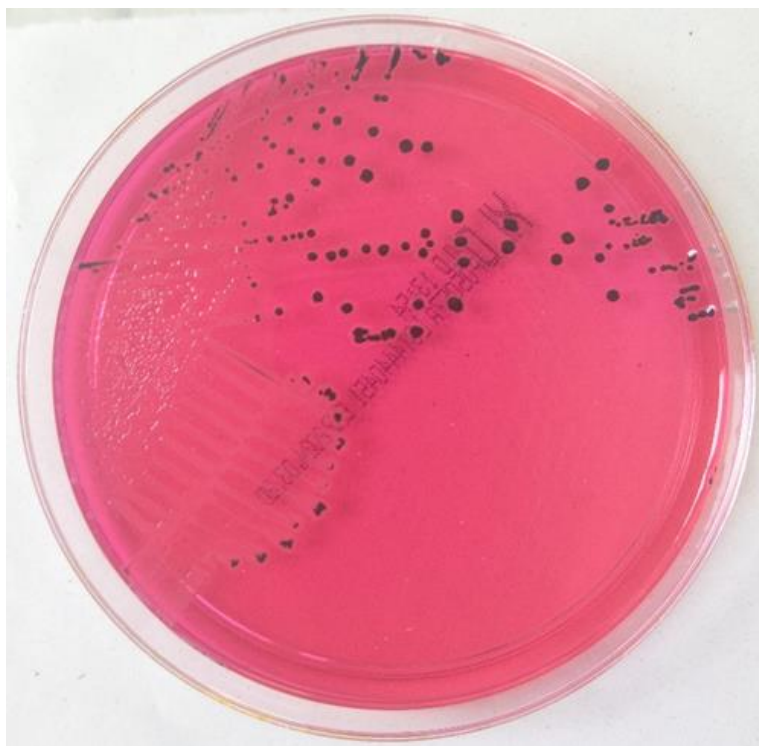
*Zdroj: Ústav mikrobiologie FN Plzeň*

## **Příloha E – Kolonie SAEN na EA**



*Zdroj: Ústav mikrobiologie FN Plzeň*

## **Příloha F – Kolonie SAEN na XLD agaru**



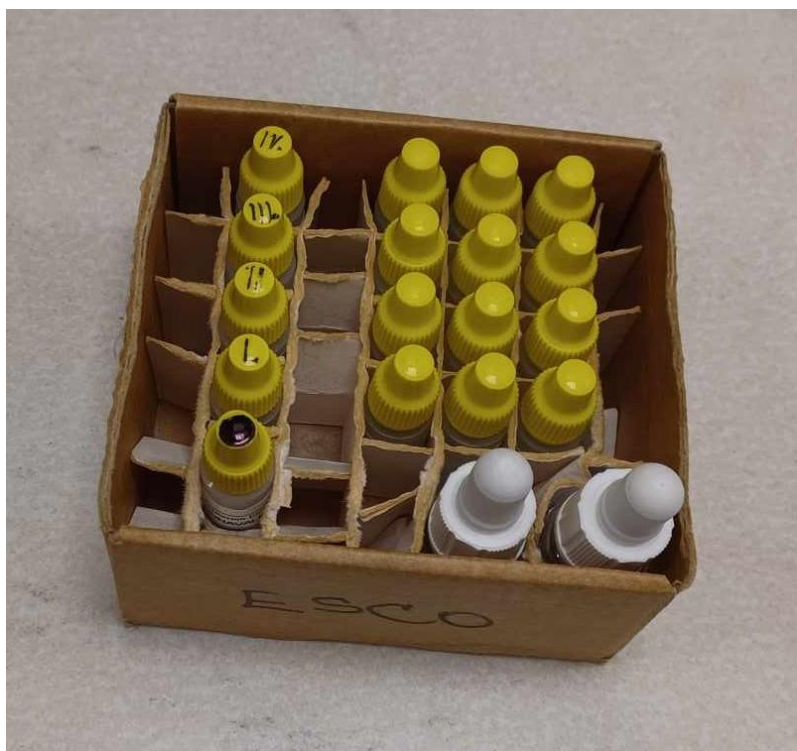
*Zdroj: Ústav mikrobiologie FN Plzeň*

## Příloha G – Aglutinační séra pro diagnostiku salmonel



*Zdroj vlastní*

## Příloha H – Aglutinační séra pro diagnostiku ESCO



*Zdroj vlastní*