

**A normál human intestinális flóra
Gram-negatív fakultatív anaerob
pálcák**

Füzi Miklós

**Semmelweis Egyetem, Orvosi
Mikrobiológiai Intézet**

A normál human gastrointestinális flora

- 10^8 – 10^{10} mikroba/gram faeces
- A kapcsolat nem csak kommenzális, hanem szimbiotikus:
 - emésztetlen szubsztrátok lebontása
 - az immunrendszer „hangolása”
 - káros, patogén baktériumok növekedésének meggátlása
 - vitamins termelés
 - trofikus hatások
 - allergia megelőzése
- Kárrossá válhat
 - fertőzések okozása (immunszupresszió)
 - megnövekedett esély a karcinómára

A normál human gastrointestinális flora

- **A normál flóra kialakulása és összetétele:**
 - születést követően gyorsan bekerülnek az *Escherichia coli* és egyes streptococcus-ok amelyek anaerob környezetet hoznak létre
 - anyatejjel táplált csecsemőknél bifidobacterium flora alakul ki
 - tápszereken nevelt csecsemőknél, illetve a szilárd táplálékra való áttérést követően további anaerob fajok telepednek meg: bacteroides (30%), clostridiumok, fusobactriumok, peptococcusok majd az enterobacteriaceae további speciesei
 - egyéb mikróbák: sarjadzó gombák, protozoonok

A bélflóra hatása a testsúlyra

An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest.

Nature 2006, 444, 1027-31

✂...colonization of germ-free mice with 'obese microbiota' results in a significantly greater increase in total body fat than colonization with a 'lean microbiota'..."

A *Lactobacillus rhamnosus* bélflóra állatkísérletben pozitívan befolyásolja a pszichés állapotot

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2011, 108, 16050-55

⌘ ...alterations in central GABA receptor expression are implicated in in the pathogenesis of anxiety...”

⌘ ...*L. rhamnosus* reduced stress-induced corticosterone and anxiety- and depression-related behavior...”

⌘... effects were not found in vagotomized mice...”

Gram-negatív fakultatív anaerob pálcák: Enterobacteriaceae.

- Élőhely: állatok, ember bélcsatornája,
talaj
növények
- Növekednek eosin-metilénkék táptalajon
- Spórát nem képeznek
- Általában csillóval rendelkeznek
- Anyagcsere:
 - cukrokat fermentálják
 - nitrátot nitritté bontják
 - kataláz változó
 - oxidáz negatív

Enterobacteriaceae: a legfontosabb genusok

- **Escherichia:**
 - A human normál enterális flora legfontosabb tagja
 - K vitamin termelés
 - Egyes típusok enteropathogének
- **Klebsiella:** ankylosing spondilitis (HLA-B27); Crohn betegség?
- **Enterobacter**
- **Proteus:** rheumatoid arthritis (antigen rokonság a P. mirabilis urease és az ízületi porc kollagén között)
- **Citrobacter**
- **Serratia**

Enterobacteriaceae: legfontosabb tulajdonságok

- **E. coli**: indol termelés tryptophanból
- **Klebsiella**: ureum bontás
- **Enterobacter**
- **Proteus**: szilárd táptalajon is képes mozogni
- **Citrobacter**
- **Serratia**: pigment képzés; légutakat is kolonizálhatja

Az Enterobacteriaceae családba tartozó baktériumok I. fokú elkülönítő reakciói

| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Klebsiella oxytoca</i> | Enterobacteriaceae | <i>Enterobacter aerogenes</i> | <i>Serratia</i> | <i>Paratuberculosis agglomerans</i> | <i>Hafnia</i> | <i>Escherichia coli</i> | <i>Citrobacter koseri</i> | <i>Citrobacter freundii</i> | <i>Salmonella</i> | <i>Edwardsiella</i> | <i>Providencia stuartii</i> | <i>Proteus rettgeri</i> | <i>Proteus morgani</i> | <i>Proteus vulgaris</i> | <i>Proteus mirabilis</i> | <i>Proteus penneri</i> |
|----------------------|------------------------------|---------------------------|--------------------|-------------------------------|-----------------|-------------------------------------|---------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------------|-------------------|---------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|
| Mozgás | - | - | + | + | + | d | d | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| H ₂ S | - | - | - | - | - | - | - | - | - | d | + | + | - | - | - | + | + | + |
| Ureáz | + | + | d | - | d | d | - | - | d | d | - | - | d | + | + | + | + | + |
| Indol | - | + | - | - | - | d | - | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - |
| Lizin-dekarboxiláz | + | + | - | + | + | - | + | + | - | - | + | + | - | - | - | - | - | - |
| Arginin-dihidrláz | - | - | + | - | - | - | - | d | d | d | d | - | - | - | - | - | - | - |
| Ornitin-dekarboxiláz | - | - | + | + | + | - | + | d | + | - | + | + | - | - | + | - | + | - |
| Citát | + | + | + | + | + | d | - | - | + | d | + | - | + | + | - | d | d | - |
| Voges Proskauer | + | + | + | + | + | d | d | - | - | - | - | - | - | - | - | - | d | - |
| Pigment | - | - | - | - | d | d | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fermentáció: | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| - Adonit | + | + | d | + | d | - | - | - | + | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| - Inozit | + | + | d | + | d | d | - | - | - | - | d | - | + | + | - | - | - | - |
| - Laktóz | + | + | + | + | d | d | - | + | d | d | - | - | - | - | - | - | - | - |
| - Mannit | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | - | - | - | - |
| - Szacharóz | + | + | + | + | + | d | - | d | d | d | - | - | d | d | - | + | - | + |
| Polymyxin-B | E | E | E | E | R | E | E | E | E | E | E | E | R | R | R | R | R | R |

2006. 03. 06.

A Proteus és Providencia speciesek elkülönítő biokémiai reakciói

| | Proteus | | | | | | | | Providencia | | | | |
|------------------------|-----------|----------|---------------------------|--------------------------|----------|------------|---------|-------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------|------------|
| | mirabilis | vulgaris | Morganii ssp. morganii | morganii ssp. sibonii | rettgeri | inconstans | parneri | myxofaciens | stuartii biocaport 4 | stuartii biocaport 5 | stuartii biocaport 6 | rustigianii | heinrichae |
| Ureáz | + | + | + | + | + | - | + | + | + | - | - | - | - |
| Indol | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | - |
| H ₂ S | + | + | - | - | - | - | d | - | - | - | - | - | - |
| Metilvörös | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | d | + |
| Voges-Proskauer | d | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - |
| Zselatin | + | + | - | - | - | - | d | + | - | - | - | - | - |
| Fenilalanin-deamináz | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Omitin-dexarboxiláz | + | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Gázképzés glukozból | + | + | + | + | d | d | d | + | - | - | - | d | - |
| Fermentáció: | | | | | | | | | | | | | |
| - Glukóz | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| - Adonit | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - | + | - | + |
| - Inozit | - | - | - | - | + | - | - | - | - | + | + | - | d |
| - Maltóz | - | + | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - | d |
| - Mannit | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| - Mannóz | - | - | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + |
| - Ramnóz | - | - | - | - | d | - | - | - | - | - | - | - | + |
| - Trehalóz | + | d | - | + | - | - | d | + | + | + | + | - | - |

2006. 03. 06.

Eosin-metilénkék agar

Szelektív és differenciáló táptalaj:

- Az eosin és metilénkék gátolják a Gram-pozitív baktériumok növekedését
- Anionaktív detergens (pl. Na-laurilsulfát) tartalma gátolja a proteusok rajzását
- Laktozt tartalmaz; a laktozbontó baktériumok savat képeznek, amely kicsapja az eosint és ezt a metilénkék megfesti - a laktozbontó baktériumok telepei kék, a laktozt nem bontók telepei rózsaszín/szürkés színűek

Előnyös, hogy a sav csak a telepek alatt képződik.



E. coli
E. coli



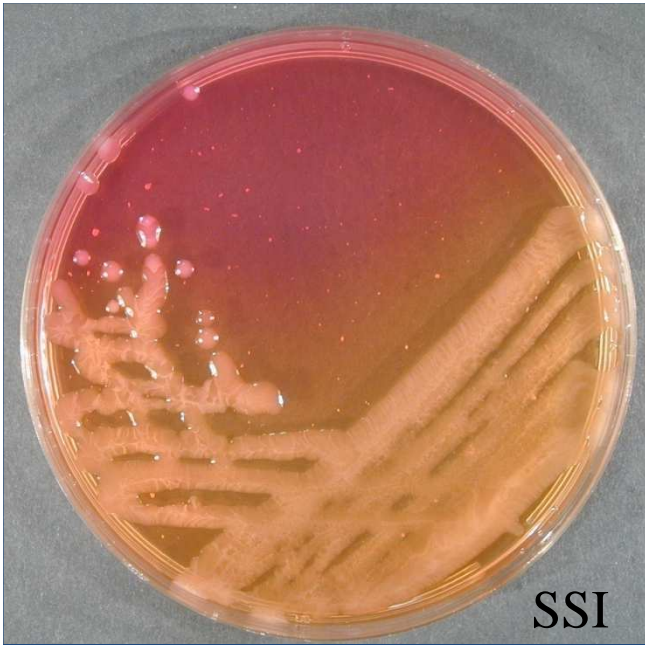
Eo

VA

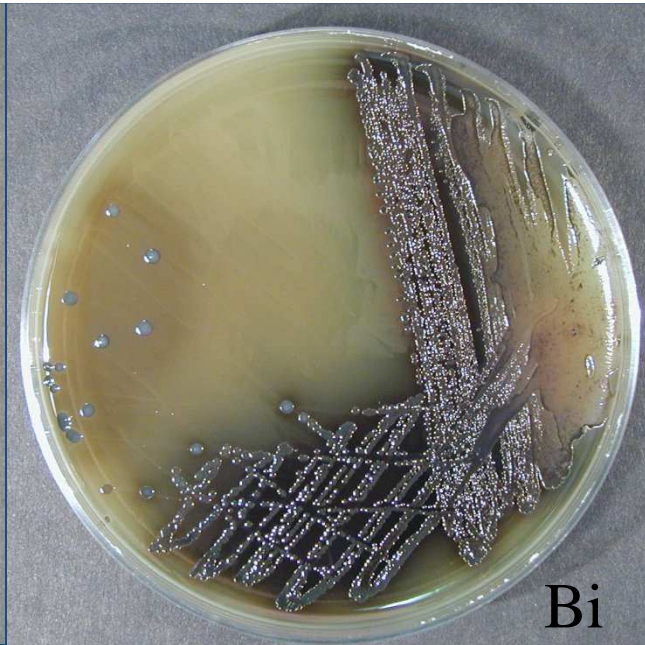


Br

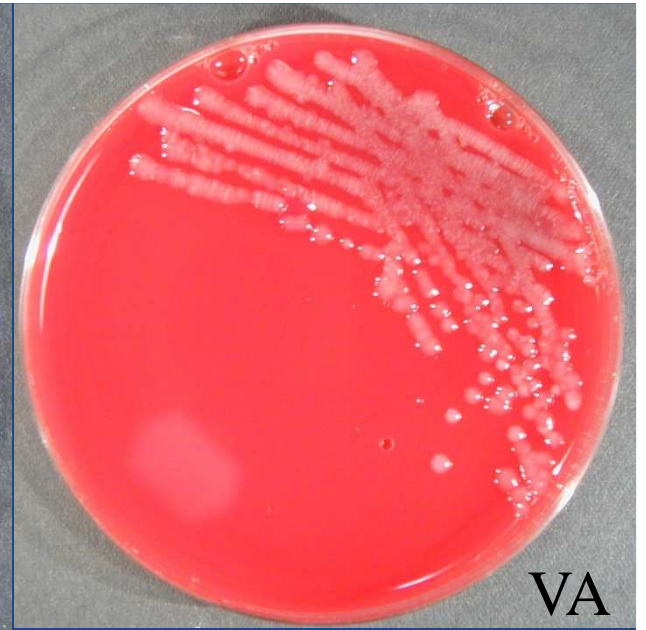
2006. 03. 06.



SSI



Bi

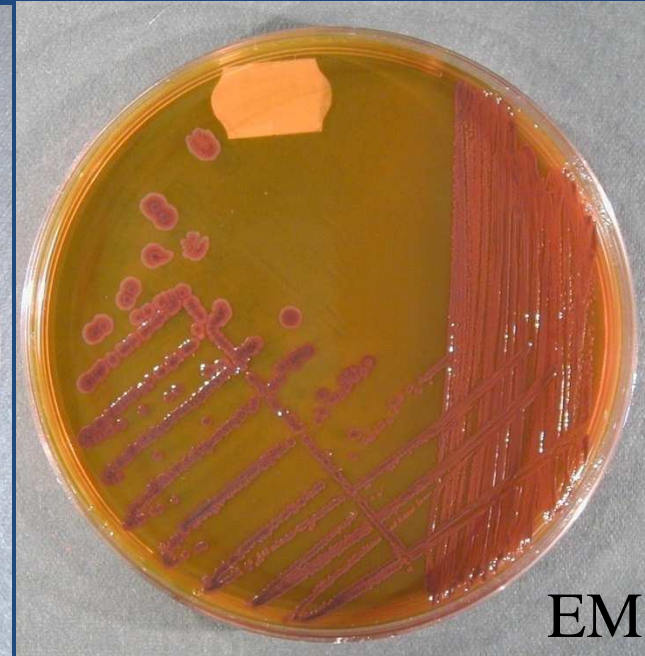


VA

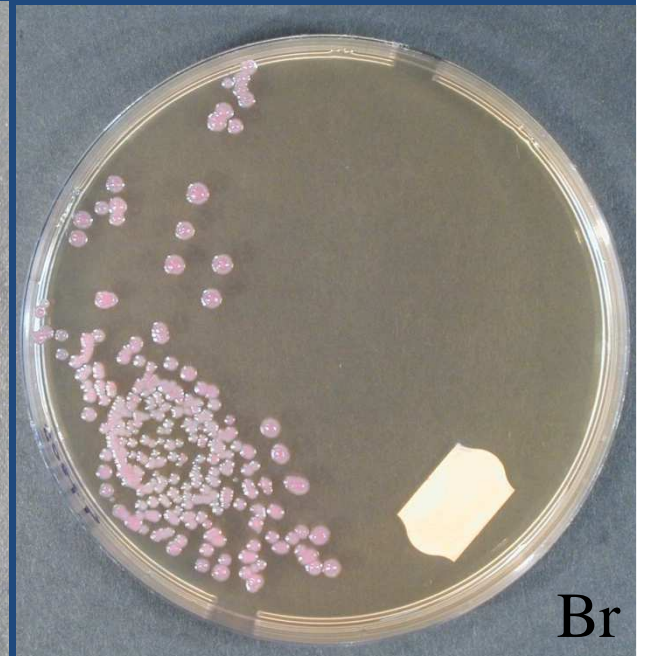
Klebsiella



DC



EM



Br

Klebsiella véres agaron



2006. 03. 06.



Proteus

Proteus growing on eosin methylene blue agar



ASM MicrobeLibrary © Cheeptham and Fardy

Serratia marcescens véres agaron



Enterobacteriaceae: extraintestinális fertőzések

**Leggyakoribb nosocomiális fertőzések /fertőzés forrása:
beteg; nedves környezet/**

- sebfertőzés
- urogenitális infekció /katéter/
- pneumonia /mesterséges lélegeztetés/
- sepsis
- meningitis

Leggyakoribb otthon szerzett fertőzések

- urogenitális infekciók /E. coli/
- otitis externa
- pneumonia /klebsiella/

Uropathogén E. coli

- Az otthon szerzett cystitisek, urethritisek 90%-át E. coli okozza
- Fertőzés a normál flórától; nőknél gyakoribb
- Az infekció lehet ascendáló: pyelonephritis, prostatitis
- Uropathogén törzsek:
 - „P” fimbriával rendelkeznek specifikusan kötődik a P vércsoport antigénhez (az uroepithel sejtek felszínén is megtalálható)
 - haemolysineket termelnek, amelyek az epithel sejteket is károsítják
 - intracellulárisan is képes kolóniákat képezni

Enterobacteriaceae: Antibiotikum rezisztencia

Leggyakrabban használt szerek:

- cephalosporin származékok
- carbapenemek
- aminoglikozidok
- fluorokinolonok

Legfontosabb rezisztencia: mechnizmusok

- beta-laktamáz termelés
- Efflux rendszerek
- Sejtmembrán fehérjék megváltozása

β -laktamáz enzimek

- Kiterjedt enzimcsalád
- Igen sokféle baktérium termeli – szabadban élők is
- Csoportosításuk: szerkezet, vagy hatássppektrum alapján
- Az enterobacteriaceae család több tagja is konstitutív módon termel egyes egyszerűbb enzimeket, amelyek kromozómán találhatóak
- Az antibiotikumok kiterjedt alkalmazása következtében a β -laktamáz enzimeknek több igen hatásos variánsa alakult ki

β -laktamáz enzimek

Antibiotikum rezisztencia szempontjából legveszélyesebbek:

- szélesspektrumú β -laktamázok (ESBL): klebsiella, E. coli
 - plasmidon található (könnyen terjednek)
 - rezisztenciát adnak a penicillin és cephalosporin származékokkal szemben
- metallo- β -laktamázok (MBL): klebsiella, pseudomonas
 - plasmidon vagy kromoszomán található
 - rezisztenciát adnak valamennyi β -laktamáz szerrel szemben (a karbapenem típusú szerekkel szemben is)

Az enterális megbetegedések jelentősége

- Évente 1.6 – 2.1 millió halálesetet okoznak (az 1980-as évek elején, a glukóz-elektrolit oldattal végzett „rehidrálás” bevezetése előtt a halálesetek számát ennek duplájára becsülték)
- A halálesetek döntő többsége 5 év alatti gyermek
- Esetek földrajzi megoszlása: „fekete Afrika”, India, Dél-Kelet Ázsia területére esik a halálozások nagy része

Az enterális infekciók kialakulását elősegítő tényezők

- **Biztonságos ivóvíz hiánya (emberiség 30-35%-ánál hiányzik)**
- **Megfelelő szanitáció hiánya (emberiség több, mint felénél nincs meg)**
- **Megfelelő ételkészítés higiéné hiánya**
- **Megfelelő tisztálkodási feltételek hiánya**
- **Nagy népsűrűség, zsúfolt lakások**

Az enterális megbetegedések hazai előfordulása 2011-ben

- **Összes bejelentett/regisztrált enterális megbetegedés: 52.850**
- **Salmonellozis: 6.446**
- **Campylobacteriozis: 7.201**
- **Shigellozis: 44**
- **Enteritist okozó E. coli: 43**
- **Yersiniozis: 93**
- **Egyéb baktérium**
- **Virális 13.154**
- **Paraziták 104**

A gyermekkori visszatérő enterális infekciók következményei

- Károsodott felszívódás következtében elmaradás a növekedésben (7 éves korig átlagosan 8.2 cm, később valamennyit „behozhat”)
- 10 IQ pont csökkenés és iskolában való lemaradás. (Az agy és a szinapszisok igen sokat fejlődnek az első két évben.)
- Immunrendszer gyengébb. („Fitness” csökkenés; infekcióra való hajlam növekedése.)
- Egyes kórokozókkal történő chronikus fertőzés enteritises tünetek nélkül is károsan hathat a fejlődésre (enteroaggregatív E. coli, cryptosporidium)

Genetikai fogékonyság enteropathogén bakteriális fertőzésekkel szemben

- **Salmonella: egyes IL, HLA, IFNGR gének, TNFA**
- **Helicobacter pylori: egyes IL gének, IFNGR1, TNFA**
- **Vibrio cholerae O1: 0-s vércsoport**
- **Clostridium difficile: IL-8**
- **Enteroaggregatív E. coli: IL-8**

Enteritist okozó E. coli

- Egyes E. coli törzsek plasmid, vagy fágok által hordozott patogenitási faktorokat akviráltak, enteropathogénné váltak.
- Enteritist okozó E.coli csoportok:
 - Enteropathogen E. coli (EPEC)
 - Enterotoxint termelő E. coli (ETEC)
 - Enteroinvazív E. coli (EIEC)
 - Enterohaemorrhagias E. coli (EHEC)
 - Enteroaggregatív E. coli (EAEC)
- A határok a mobilis genetikai elemek miatt az egyes csoportok között elmosódnak.
- A virulencia faktorok mindegyik csoportban részben bizonyos O antigénekhez kapcsolódnak

Enteropathogen (dyspepsia) E. coli (EPEC)

- Jellemző a korszpecifitás: döntően egy éves kor alatt okoznak megbetegedést
- A vékonybél hámsejtjeihez képes tapadni az „intimin” fehérje segítségével.
- Tünetek: változóan súlyosak
- A patogenitás bizonyos serotipusokhoz kötődik.
- Régebben bölcsődékben nagy járványokat okozott
- Therápia: folyadékpótlás
súlyos tünetek esetén antibiotikum

Enterotoxint termelő E. coli (ETEC)

- Fejlődő országokban gyakori (travellers' diarrhea")
- Tünetek: súlyos „vizes hasmenés”; vékonybélre lokalizálódik
- Pathogenitási faktorok: általában plasmidon kódoltak; serotípus igen sokféle lehet, kimutatásuk: PCR-rel
 - adhéziós molekulák (kolonizációs faktorok) – általában fimbriához, fibrillumhoz kötődnek; léteznek egyes állatfajokra specifikus típusok
 - toxinok: LT (hőlabil), ST (hőstabil)
- Therápia: antibiotikum, folyadék pótlás

Enteroinvazív E. coli (EIEC)

- A shigellozissal megegyező tüneteket okoznak (dysenteria – vérhas).
- A virulencia gének is megegyeznek (azonos virulencia plasmid)
- Gyakran laktoz negatívak, nem mozognak
- O antigénjeik is rokonságban állnak a shigella antigénekkkel
- Terjedés: kontakt (a shigelláknál nehezebb), élelmiszer
- Leggyakoribb serocsoport: O124

Enterohaemorrhagias E. coli (EHEC)

- **Tünetek:** súlyos véres enteritis, HUS; döntően a colont érinti
- **Terjedés:** élelmiszer (marhahús, tej) kontakt
- **Pathogenezis:**
 - **adhéziós faktorok**
 - **toxinok:** „Shiga-szerű” (SLT) – kapillárisokat károsítják, fágón terjednek; kimutatás: PCR
- **Legfontosabb serotípus:** O157 – általában szorbit negatívok
- **Therápia:** antibiotikum, folyadék pótlás

Enteroaggregatív E. coli (EAEC)

- A hámsejthez való kapcsolódás a baktérium aggregációjával jár
- Tünetek: súlyos vizes diarrhea
chronikus hasmenés
- Pathogenezis: pilusok, fimbriák fontos patogenitási faktorok. A fimbriák aggregálják a human collagént, fibronectint, laminint

Yersinia enterocolitica

- Csillós, laktoz negatív coccobacillusok
- Európában főleg az O3 és O9-es törzsek okoznak megbetegedést.
- Tünetek: hasmenés, nyirokcsomó megnagyobbodás, ileitis terminalis
- Fertőző forrás: állat, ember
- Terjedés: kontakt, élelmiszer
- Pathogenitás: adheziós fehérjék
- Másodlagos autoimmun kórképek: arthritis, spondylosis
- Diagnózis: tenyésztés szelektív táptalajon,
- Therápia: antibiotikum

Vibrionaceae család

- Legfontosabb tagja a *Vibrio* genus
- Hajlott „vessző” alakú Gram-negatív pálcák, csillósak, oxidáz pozitívak
- Természetes környezet: sós-, édes vizek
- Sóigényük alapján osztályozhatók:
 halofil, nem halofil törzsek
- Általában jellemző rájuk a savérzékenység, ill. a lugokkal szembeni ellenállóképesség (izolálásnál fontos tulajdonság)

Vibrio cholerae

- Legfontosabb faj: V. cholerae
- O antigénje alapján kb 100 serocsoportja ismert, amelyek mind azonos csilló antigént hordoznak
- A nagy járványokat az O1 és O139 serocsoportoz tartozó törzsek okozták.
- Az O1 törzseknek két fontos serotípusa létezik: Ogawa, Inaba
- Az O1 törzseknek két biotípusa van: klasszikus, El Tor
- Természetes környezet: tenger (Banglades), puhatestű állatok
- Terjedés: víz, élelmiszer (nagyszámú baktérium szükséges)
- Járványok: gyakran pandémiák (India, Afrika, Dél-Amerika)

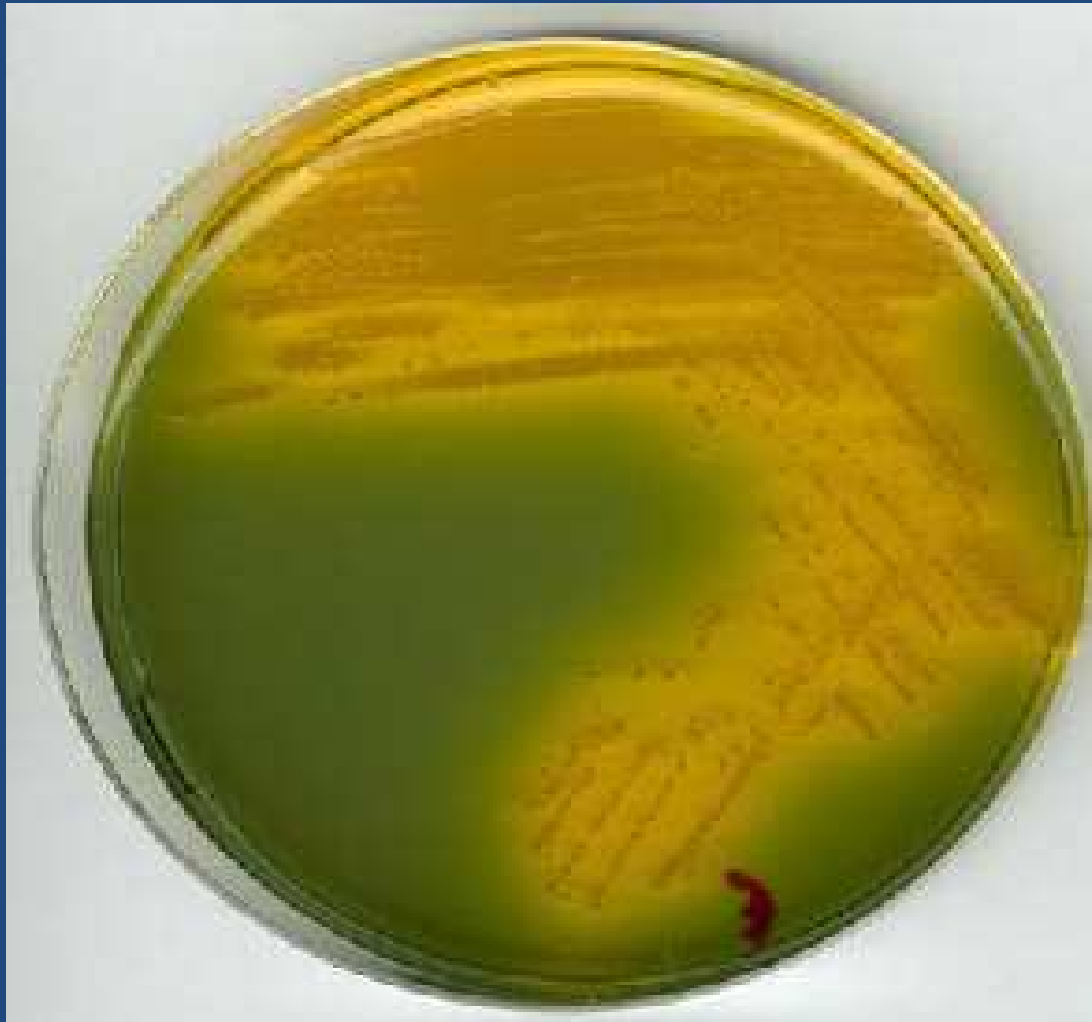
Cholera (1)

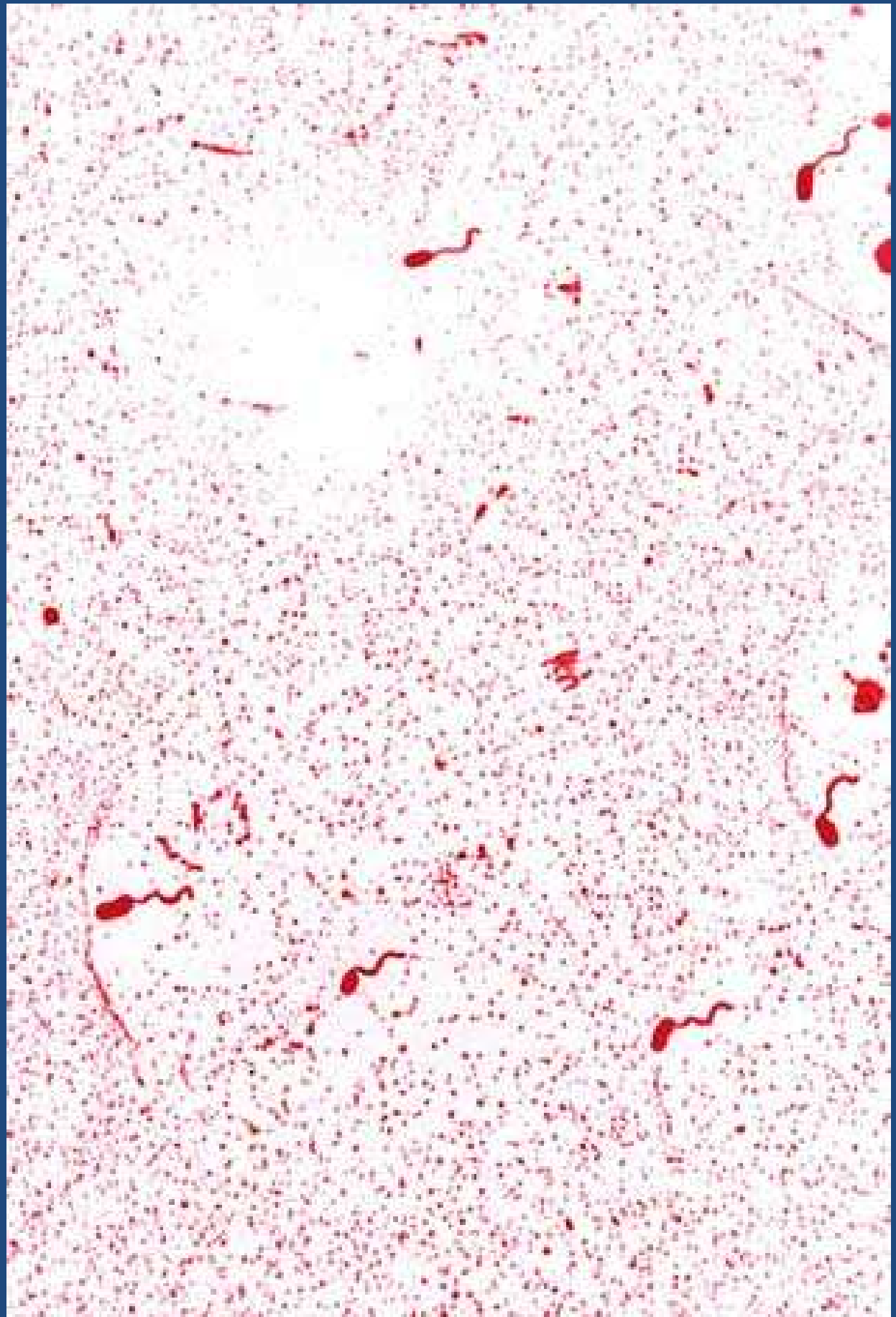
- Inkubáció: néhány órától pár napig terjed
- Tünetek: súlyos vizes hasmenés („rizslé” széklet), órák alatt bekövetkező kiszáradás, hypovolaemiás shock
enyhébb lefolyás is előfordul
- Pathogenezis: a kórokozó adhezinjeivel a vékonybél hámsejtjeihez tapad.
Cholera toxint termel (kromoszómába ágyazott fág kódolja) – ETEC törzsek LT-jához hasonló. Hatásmechanizmusa: adenilát cikláz aktiváció, sejten belül a cAMP felszaporodik → ion, vízkiáramlás

Cholera (2)

- **Diagnózis: a kórokozó kitenyésztése**
táptalaj: TCBS – tioszulfát-citrát-epeszaharóz
lúgos peptonvizes dúsító
- **Therápia: gyors folyadék és sópótlás**
antibiotikum kezelés (tetraciklin)
- **Vakcinák: korlátozott védelmet nyújtanak**

Vibrio telepek TCBS agaron





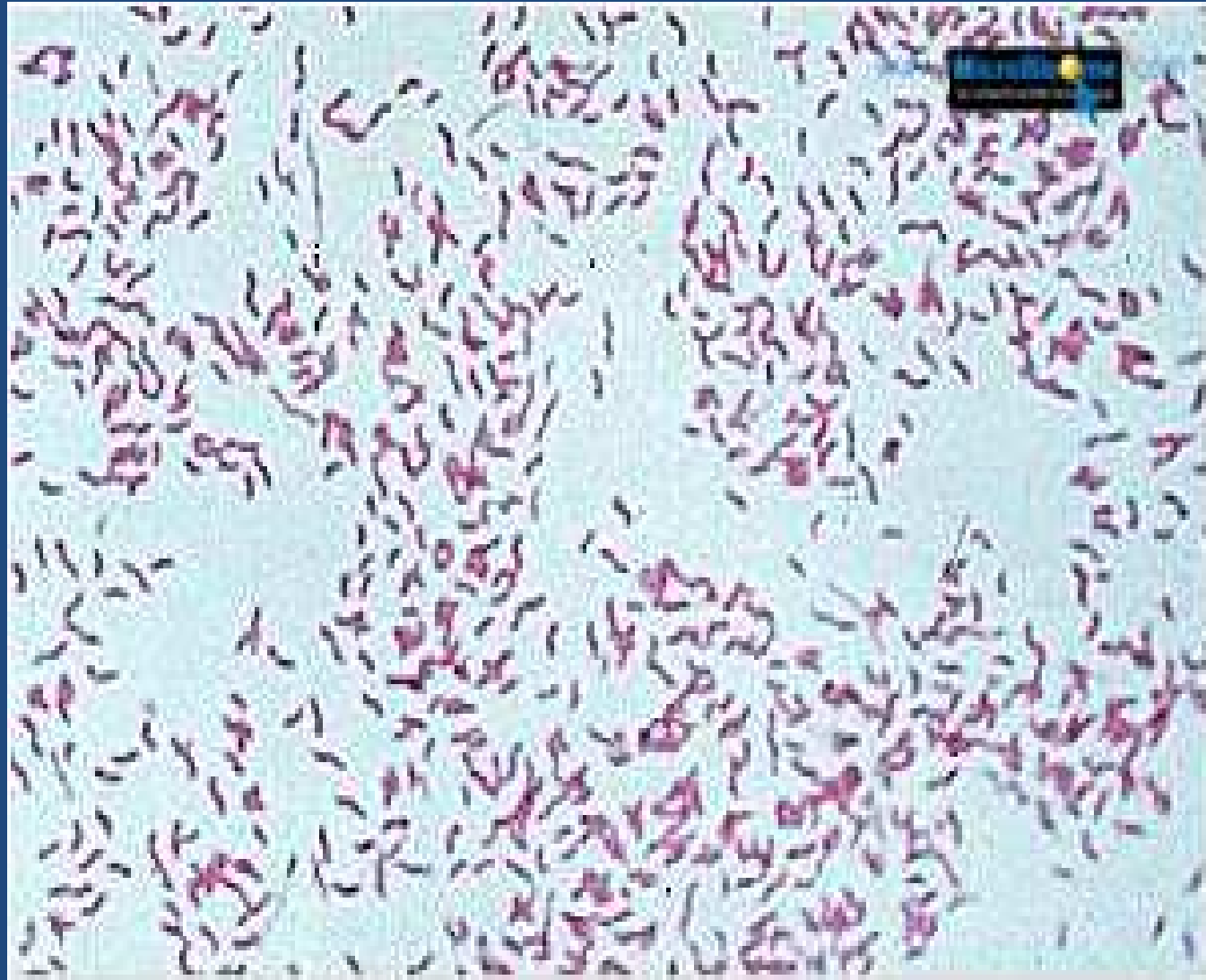
Egyéb vibriók

- Halofil – sótol igénylő vibriók
- Legfontosabb fajok:
 - V. parahaemolyticus
 - V. vulnificus
- Terjedés: nem kellően kezelt tengerből származó élelmiszer
fürdés fertőzött tengervízben
- Tünetek: általában nem túl súlyosak
- Sebfertőzés is előfordulhat

Campylobacter genus

- Gram negatív hajlott, mozgó pálcák;
- Microaerophilok
- Oxidáz pozitívak
- Legfontosabb fajok: *C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus*, *C. lari*
- Előfordulás: állatvilág
- Fertőződés: kontakt, étel-miszer
- Tünetek: változóan súlyos enteritis
- Tenyésztés: szelektív táptalajon, mikroaerophil atmoszférában, 42 C-on
- Therápia: makrolid, fluorokinolon antibiotikum
- Másodlagos autoimmun betegség: Guillon-Barre szindróma

Campylobacter - Gram festés

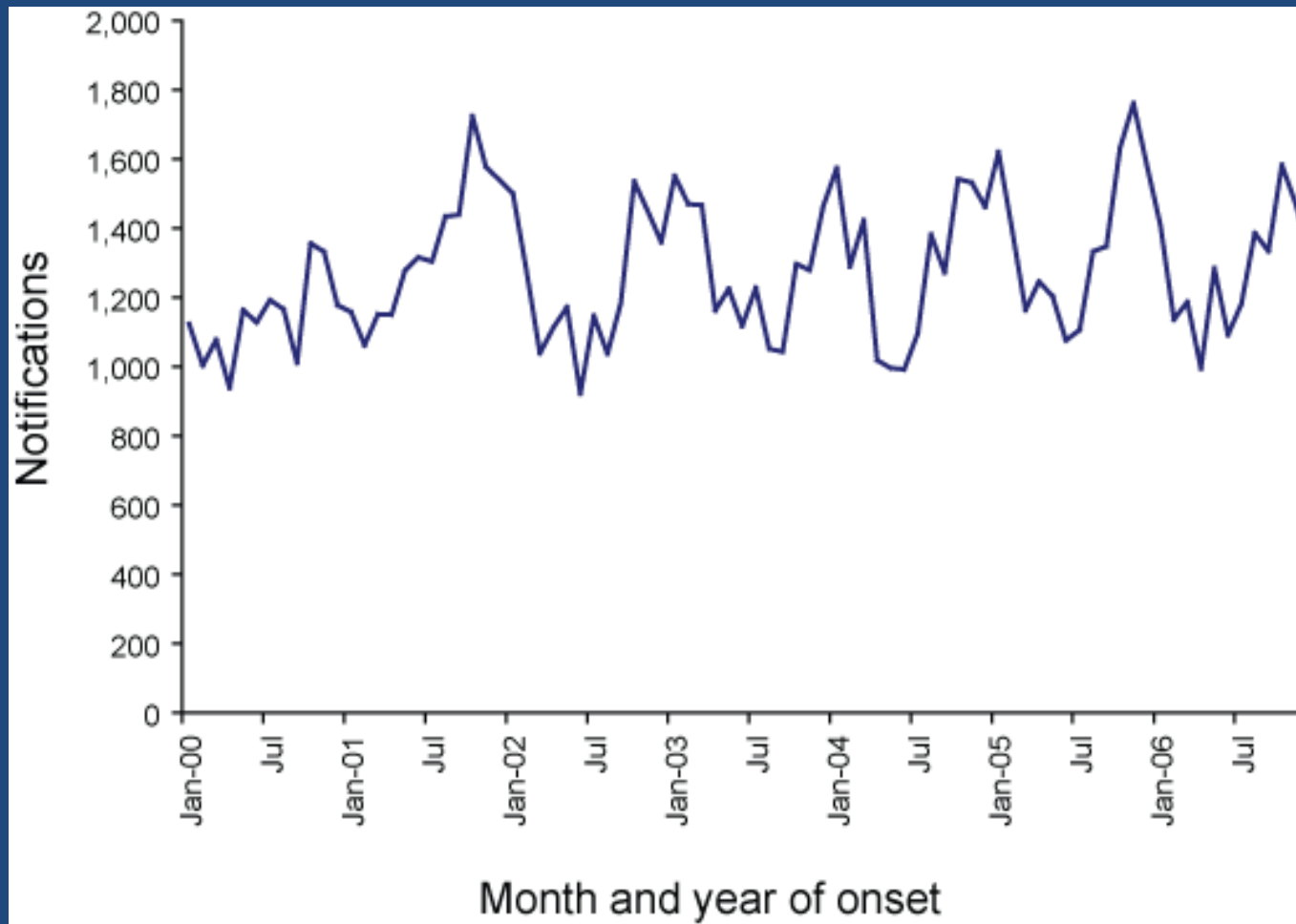


Campylobacter telepek szelektív táptalajon



Regisztrált campylobacter fertőzések száma az Egyesült Királyságban

Hazai éves esetszám kb 6-7000



Helicobacter pylori

- Gram-negatív hajlott pálcák, időnként coccus alakúak, ilyenkor nem tenyésztethető
- Microaerophil
- Csillós
- Oxidáz, kataláz pozitív
- Erősen urease pozitív
- „Cag patogenitási sziget”-et tartalmazó törzsek veszélyesebbek (IV-es secretios rendszer; CagA fehérje)

Helicobacter pylori

- Az emberiség kb. 50%-a hordozza
- A hordozás az esetek kb.80%-ában tünetmentes
- Betegségek
 - gastritis
 - fekély
 - gyomorrák
 - MALT (mucosa-associated lymphoid tissue)
lymphoma

Helicobacter pylori

- **Tenyésztés: mintavétel transport táptalajba**
Izolálás: campylobacter szelektív agarhoz hasonló táptalajon, 37 C-on, microaerophil atmoszférában, enyhén savas pH-n – fontos, amikor meg akarjuk határozni az antibiotikum érzékenységet
- **Diagnózis: kilégzései ureáz test /jelölt urea fogyasztása;**
kilégzett CO₂ izotóp tartalmának mérése
antigén kimutatás székletből (ELISA,
latex)
ellenanyag vizsgálat (ELISA)
tenyésztés gyomor biopsziás anyagból
PCR vizsgálat gyomor biopsziás anyagból,
székletből

Helicobacter pylori

Therápia:

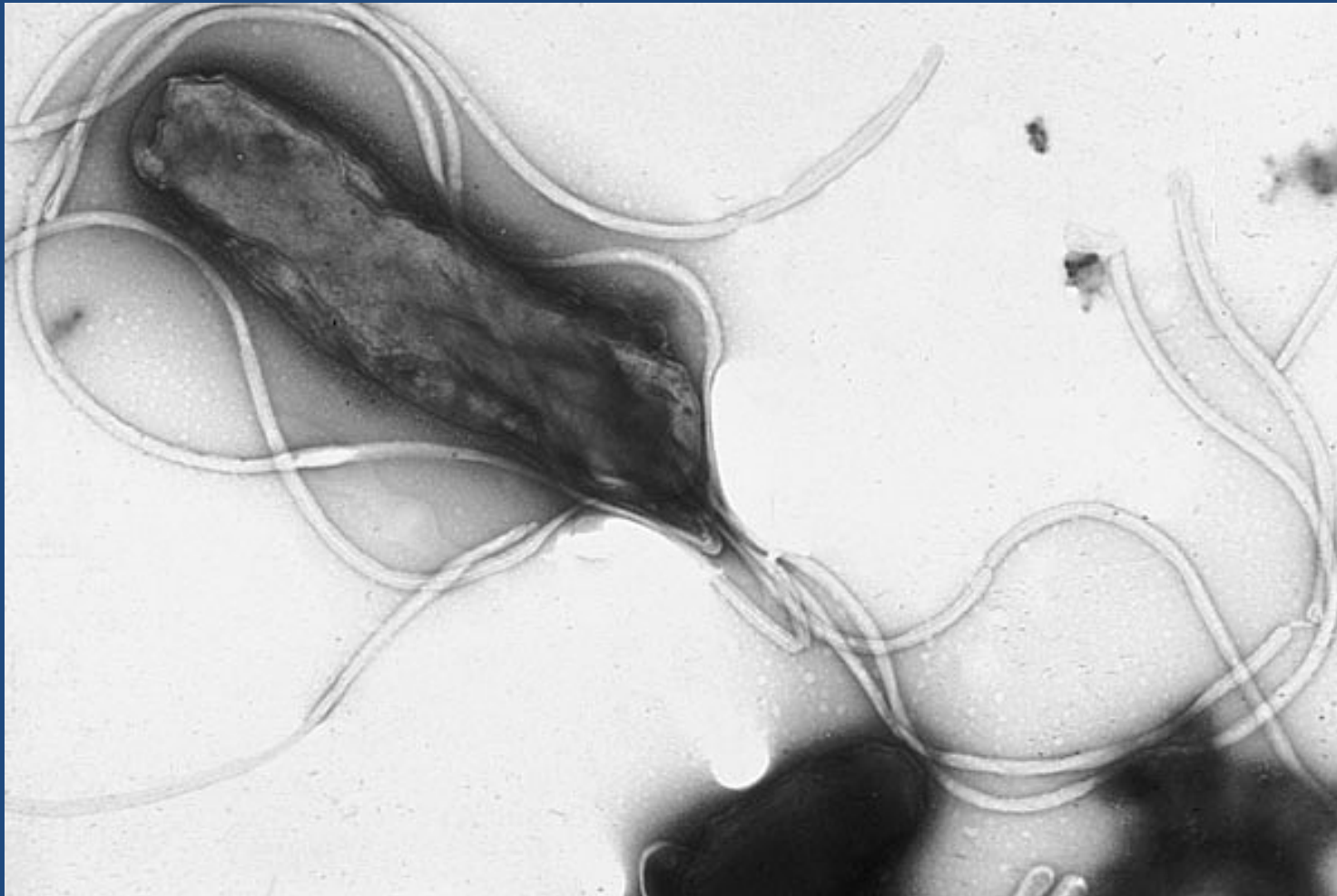
- cephalosporin származékok,
- makrolidek

Rezisztencia nem ritka!

Proton pumpa gátlók

Hosszantartó, ismételt kezelés szükséges

Helicobacter pylori



Helicobacter pylori gyomor epithel sejteken

