

# Bacteriologie voor laboratorium en kliniek 2

J.A.E.M. Mutsaers  
*Hoofdanalist medische microbiologie*  
*Medisch Centrum Haaglanden*

Drs. C.L. Jansen  
*Arts-microbioloog*  
*Medisch Centrum Haaglanden*

N.M. Knecht †

L. Doornbos  
*Medisch microbioloog*

Vierde druk

Oplage 2010

Syntax Media - Utrecht

© 2006, Uitgeverij Syntax Media, Utrecht

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

Voor zover het maken van kopieën uit deze uitgave is toegestaan op grond van artikel 16b Auteurswet 1912 j° het Besluit van 20 juni 1974, Stb. 351, zoals gewijzigd bij Besluit van 23 augustus 1985, Stb. 471 en artikel 17 Auteurswet 1912, dient men de daarvoor wettelijk verschuldigde vergoedingen te voldoen aan de Stichting Reprorecht (Postbus 882, 1180 AW Amstelveen). Voor het overnemen van (een) gedeelte(n) uit deze uitgave in bloemlezingen, readers en andere compilatiewerken (artikel 16 Auteurswet 1912) dient men zich tot de uitgever te wenden.

ISBN 978 90 77423 43 1

NUR 922

*www.syntaxmedia.nl*

Ontwerp omslag: AlphaZet prepress

# Woord vooraf

Nadat mevrouw M.N. Knecht en dr. L. Doornbos in 1983 de basis hebben gelegd voor het leerboek *Bacteriologie voor laboratorium en kliniek* was het tweede deel van het boek, na de derde druk, aan een herziening toe. Naar aanleiding van de vraag naar een Nederlandstalig leerboek en naslagwerk in het laboratorium voor het vakgebied bacteriologie, en op verzoek van de beide oorspronkelijke auteurs, hebben wij de taak op ons genomen dit werk voort te zetten. De vierde, herziene druk van *Bacteriologie voor laboratorium en kliniek 2* is thans gereed. De oorspronkelijke opzet van het werk is in deze vierde druk van deel 2 grotendeels dezelfde gebleven.

Dit leerboek bevat specifieke informatie voor de studenten HLO, MLO, en de analisten en arts-assistenten werkzaam op een medisch-microbiologisch laboratorium en geeft inzicht in de samenhang tussen kliniek en laboratorium en de daaruit voortvloeiende laboratoriumwerkzaamheden. De verschillende delen van dit boek zijn in meer of mindere mate geactualiseerd op basis van de nieuwe inzichten in het microbiologisch onderzoek.

Deel iv bevat de beschrijving van de belangrijkste orgaanstelsels en de daarin voorkomende infecties. De belangrijkste aanpassingen zijn aangebracht in de verwekkers van deze ziektebeelden.

Deel v geeft een uitvoerige beschrijving van de gebruikelijke onderzoeken betreffende identificatie, determinatie en gevoeligheidsbepaling, die in een medisch-microbiologisch laboratorium moeten worden uitgevoerd door de daartoe opgeleide of op te leiden medisch-microbiologische laboratoriummedewerkers. De moleculair-biologische technieken hebben begin jaren negentig van de vorige eeuw hun intrede gedaan in het microbiologisch-diagnostisch arsenaal en zijn thans niet meer weg te denken. De diagnostiek van *Legionella* neemt een steeds belangrijker plaats in het laboratorium in en is mede daarom in dit deel opgenomen.

Deel vi beschrijft de voornaamste soorten bacteriën die van medisch belang zijn. De naamgeving is waar nodig volgens de huidige nomenclatuur aangepast. Binnen het geslacht *Pseudomonas* onderscheiden we thans *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Ralstonia*, *Brevundimonas* en *Comamonas*.

Het rijk van de micro-organismen lijkt aan een tragere evolutie onderhevig dan de ontwikkeling van de microbiologisch-diagnostische onderzoeken, hetgeen resulteert in een toename van de complexiteit van de diagnostiek.

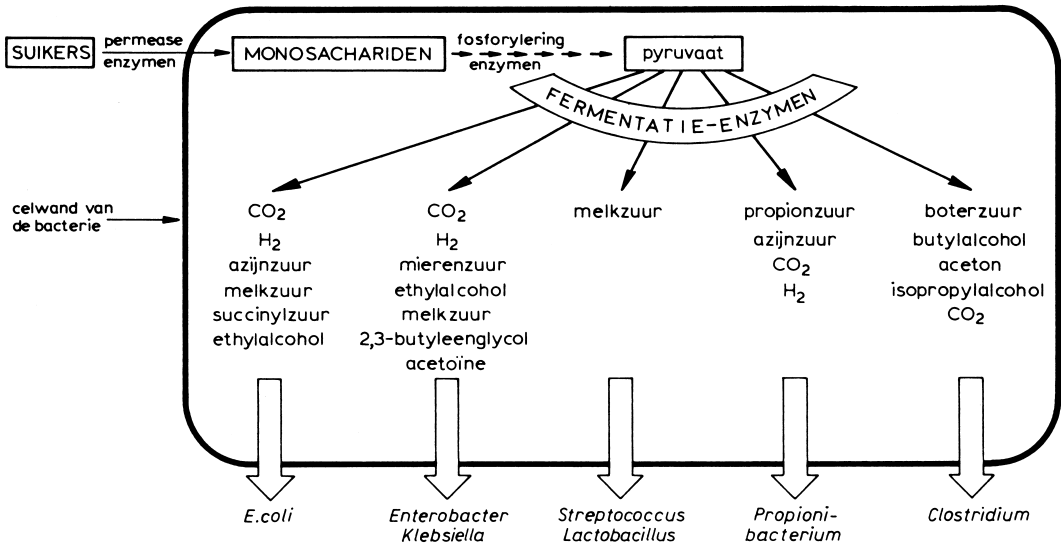
Zowel de klassieke, basale onderzoekstechnieken als de geavanceerde moleculair-biologische onderzoeken worden in een modern medisch-microbiologisch laboratorium naast elkaar uitgevoerd.

's-Gravenhage, april 2001

J.A.E.M. Mutsaers  
C.L. Jansen

# Inhoud

<b>Deel IV Beschrijving van de belangrijkste orgaanstelsels en daarin voorkomende infecties</b>	
Hoofdstuk 13 Infecties van de luchtwegen	3
Hoofdstuk 14 Infecties van het spijsverteringskanaal	20
Hoofdstuk 15 Infecties van de urinewegen	35
Hoofdstuk 16 Infecties van de geslachtsorganen	50
Hoofdstuk 17 Infecties van het bloed en het bloedvatstelsel	63
Hoofdstuk 18 Infecties van het centrale zenuwstelsel	76
Hoofdstuk 19 Infecties van het beenderstelsel en de gewrichten	87
Hoofdstuk 20 Infecties van de huid en van huidwonden	90
<b>Deel V Beschrijving en verklaring van methoden, gebruikt bij het onderzoek en de naamgeving van bacteriën</b>	
Hoofdstuk 21 Biochemische eigenschappen, onderzoeksmethoden en identificatie	101
<b>Deel VI Beschrijving van de meest voorkomende ziekteverwekkende bacteriesoorten</b>	
Hoofdstuk 22 De Enterobacteriaceae	161
Hoofdstuk 23 Non-fermentatieve Gram-negatieve staven	221
Hoofdstuk 24 Gram-negatieve staven met specifieke voedingseisen en <i>Aeromonas</i> , <i>Plesiomonas</i> en <i>Chromobacterium</i>	236
Hoofdstuk 25 Neisseriaceae en <i>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</i>	289
Hoofdstuk 26 Aërobe Gram-positieve staven	300
Hoofdstuk 27 Zuurvaste staven, <i>Mycobacterium</i>	317
Hoofdstuk 28 Gram-positieve kokken	332
Hoofdstuk 29 De spirocheten	365
Hoofdstuk 30 <i>Mycoplasma</i> 's en <i>Chlamydiae</i>	374
Hoofdstuk 31 Anaërobe bacteriën	387
<b>Deel VII Kwaliteitscontrole</b>	
Hoofdstuk 32 Kwaliteitscontrole in het laboratorium	447
<b>Register</b>	451



Afb. 21-11 Koolhydraatmetabolisme in de cel tot eindproducten, kenmerkend voor groepen bacteriën.

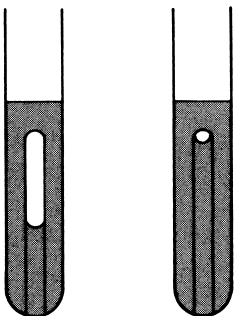
Anaëroben zetten de 'suikers' altijd slechts fermentatief om en vormen als eindproducten vaak azijnzuur, mierenzuur, boterzuur, butylalcohol, ethylalcohol, isopropylalcohol, aceton, CO<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>. Melkzuur wordt niet gevormd. De combinaties en hoeveelheden ervan zijn ook hier karakteristiek voor genus en species. Voor de identificatie met gaschromatografie wordt hiervan gebruikgemaakt.

### Uitvoeren, aflezen en interpreteren van de test

Om te onderzoeken of een bacteriesoort een bepaalde koolhydraat fermenteert, ent men deze dik in een medium dat het koolhydraat bevat, waarvan men wil weten of het omgezet wordt door de onderzochte stam. Het koolhydraatgehalte bedraagt 1%. Soms voegt men pepton aan het medium toe. De pH, afhankelijk van het gebruikte medium, is 7,2-7,5. Als pH-indicator, die door kleuromslag aantoont dat uit een koolhydraat zuren zijn gevormd, wordt fenolrood het meest gebruikt. Deze is geel bij pH 6,8 en rood bij pH 8,4. Soms wordt andrade als indicator gebruikt. De pH-indicator en het bufferend vermogen van het medium zijn zeer belangrijke factoren. Het pepton dat in het medium aanwezig is wordt door de bacterie afgebroken, waarbij producten worden gevormd die een alkalische pH tot gevolg hebben. Daarom wordt de zuurvorming bij de koolhydraatfermentatie alleen opgemerkt door een pH-verandering wanneer de hoeveelheid zuur bij de koolhydraatsplitsing groter is dan de alkalische stoffen van de peptonafbraak.

De glucosebuis bevat ook een omgekeerd buisje, het Durham-buisje, waarin men de gasvorming kan nagaan. Meestal is het medium vloeibaar, maar men voegt ook wel agar (0,4-0,6%) toe, zodat de voedingsbodem halfvast is. Na 18-24 uur incubatie kan men de resultaten aflezen.

Voor het bestuderen van non-fermenters mag het peptongehalte



Afb. 21-12 Twee cultuurbuizen met grote (links) en kleine (rechts) hoeveelheid gevormd gas in omgekeerde Durhambuisjes.

slechts 0,2% bedragen; voor Enterobacteriaceae bedraagt het meestal 1%. Om de fermentatiereacties van *Neisseria* spp. te bestuderen wordt aanbevolen ascitesvocht toe te voegen om de groei van deze soort te bevorderen.

### Praktische wenken

- Het toevoegen van een Durham-buisje in een vloeibaar medium om gasvorming te constateren is alleen noodzakelijk in het glucosebuisje. Als een bacteriesoort gas vormt uit glucose, vormt zij het ook uit alle andere suikers. Zelfs een klein gasbelletje wordt als positief afgelezen.  
Alleen wanneer een micro-organisme glucose niet fermenteert kan het nuttig zijn een Durham-buisje aan andere koolhydraatmedia toe te voegen.
- In een halfvast medium leest men gasvorming af door de aanwezigheid van gasbelletjes of scheurtjes in het medium.

## 21-16 METHYLRLOODREACTIE

De methylroodreactie is een kwalitatieve methode waarmee men kan nagaan of een micro-organisme na de fermentatie van glucose zoveel zure eindproducten heeft gevormd, dat de fosfaatbuffer van het medium niet in staat is de pH constant te houden.

Tabel 21-15

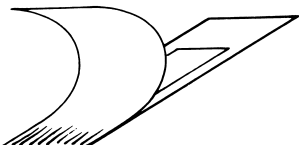
<i>praktisch nut voor</i>	<i>methylrood-positief</i>	<i>methylrood-negatief</i>
onderscheid tussen geslachten	<i>E. coli</i> <i>Shigella</i> <i>Salmonella</i> <i>Arizona</i> <i>Citrobacter</i> <i>Providencia</i> <i>Proteus</i> <i>Edwardsiella</i> <i>Morganella</i>	<i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter</i> <i>Serratia</i>

### Biochemisch principe

Methylrood is eigenlijk de naam van een pH-indicator die een gele kleur heeft bij pH 6,0 en rood wordt bij pH 4,4. Het kan de aanwezigheid van H<sup>+</sup>-ionen bepalen nadat een micro-organisme glucose anaëroob heeft afgebroken. De H<sup>+</sup>-ionenconcentratie is afhankelijk van de verhouding van het ontstane CO<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>.

Alle Enterobacteriaceae fermenteren glucose (anaëroob) wanneer ze in de methylroodbouillon groeien. Deze bouillon die ook voor de Voges-Proskauer-test gebruikt kan worden, bevat pepton, glucose en fosfaatbuffer. Na 18-24 uur incuberen produceren Enterobac-

glucose



Afb. 31-6

lysatoren geïnactiveerd. De korrels kunnen gereactiveerd worden door ze twee uur in een drogehitte-oven bij 160-170°C te plaatsen. Ze kunnen dan, tot ze gebruikt worden, bij kamertemperatuur op een droge plaats bewaard blijven. De katalysator kan ook geïnactiveerd worden door vocht. Om de activiteit van de katalysator te controleren kan men er een stroom waterstof overheen laten lopen. Als de katalysator nog actief is worden de korrels binnen 60 seconden warm. Het is aan te raden de katalysatoren regelmatig door nieuwe te vervangen.

- Een defecte pakkingring in de deksel, waardoor het gas uit de pot kan ontsnappen, is wel eens oorzaak van een niet-anaëroob milieu.
- Gebruik van te weinig water in het zakje heeft tot gevolg dat te weinig  $H_2$  gevormd wordt.
- Gebruik van een te droge methyleenblauwindicatorstrip, die de zuurstofspanning niet betrouwbaar kan aanwijzen.

#### geautomatiseerde systemen

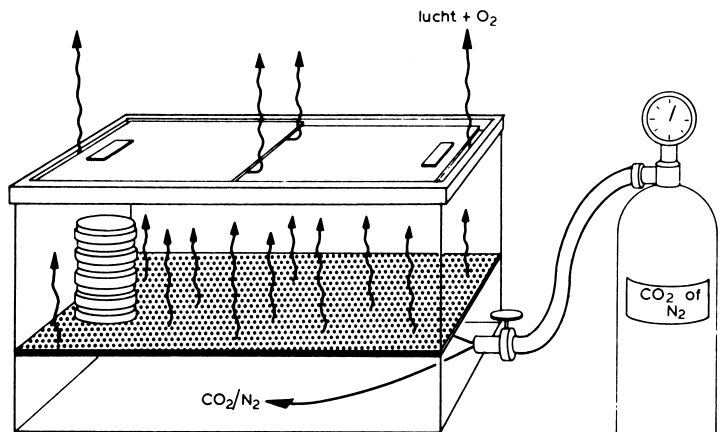
Om een anaëroob milieu tot stand te brengen wordt ook gebruikgemaakt van apparatuur waarbij de lucht met behulp van een vacuümpomp eerst uit de pot wordt verwijderd. Daarna wordt de juiste hoeveelheid gasmengsel toegevoegd (10%  $H_2$ , 5%  $CO_2$ , 85%  $N_2$ )

#### disposable anaëroob systeem

Bij spoedgevallen of bij een zeer klein aantal anaërobe kweken in kleine laboratoria kan men in plaats van de anaërobe pot gebruikmaken van een ander systeem dat op hetzelfde principe berust. Het biedt het voordeel dat men de kweek na één dag incubatie kan beoordelen zonder het systeem te moeten openen. Het bestaat uit een doorschijnend plastic zakje dat drie voedingsbodems kan bevatten. Onmiddellijk na het beënten kan men ze incuberen. Het zakje is voorzien van stoffen om het noodzakelijke gas te doen ontstaan en van een katalysator en een indicator. Het zakje wordt na het beënten 'geseald'.

#### anaëroob werkkastje

Tijdens het bewerken van anaërobe culturen dienen de voedingsbodems in principe in een zuurstofvrij milieu te worden geplaatst. Hiervoor kan men gebruikmaken van een anaëroob werkkastje, waarin ze vanuit de anaërobe potten gedurende de tijd van het bewerken worden overgeplaatst. Het werkkastje heeft een dubbele bodem waartussen, vanuit een cilinder, stikstof of  $CO_2$  wordt aangevoerd,



Afb. 31-7



dat door de geperforeerde bovenplaat naar boven in de opbergruimte stroomt. Omdat dit gas zwaarder is dan lucht, wordt de lucht binnen een aantal minuten verwijderd en is de ruimte geheel gevuld met gas waardoor de zuurstofspanning tot ca. 3% is gedaald. De opbergruimte wordt door een schuifdeksel afgesloten. Het openen en sluiten veroorzaakt slechts weinig werveling, zodat tijdens het gebruik de zuurstofspanning binnen redelijke tijd laag blijft. Men kan het gas op een lage snelheid laten doorstromen.

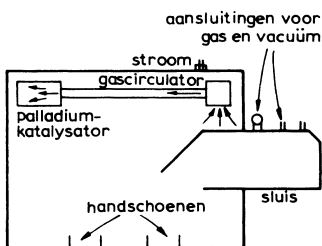
## glove box

Een 'glove box' zou men kunnen beschrijven als een werkkast die uit verschillende onderdelen kan worden opgebouwd. In ieder geval bestaat een groot deel ervan uit een doorzichtige stof, bijvoorbeeld perspex, zodat men naar binnen kan kijken. Via twee lange handschoenen die aan twee openingen van de voorwand zijn vastgemaakt kan men van buitenuit binnen in de kast werken. Aan de zijkant grenst een sluis die van de grote werkruimte en van de buitenwereld afgesloten kan worden. Het te enten materiaal wordt hierin gezet, de kleine ruimte wordt aan beide kanten afgesloten en zuurstofvrij gemaakt. Het materiaal wordt daarna door de opening naar de glove box overgebracht.

De methoden om het milieu anaëroob te houden zijn afhankelijk van de soort glove box. De lucht kan bij modellen die opgebouwd zijn uit flexibel vinyl, via een vacuümpomp verwijderd worden en daarna vervangen door een gasmengsel van bijvoorbeeld 10% H<sub>2</sub> en 5% CO<sub>2</sub> dat over een palladium-katalysator loopt of door een mengsel waaraan ook 85% stikstof is toegevoegd. Bij een andere methode wordt lucht verplaatst door een voortdurende stroom zuurstofvrije kooldioxide en zijn geen andere voorzieningen als katalysator of vacuümpomp nodig.

In de glove box worden ook indicatoren gebruikt om het zuurstofgehalte voortdurend te controleren.

Het incuberen van het materiaal kan ook in de glove box gebeuren, wanneer voorzieningen zijn aangebracht om de temperatuur op 37°C te houden. Is dit niet zo, dan worden de voedingsbodems waarop het materiaal geënt is, in anaërobe potten geïncubeerd en wordt de

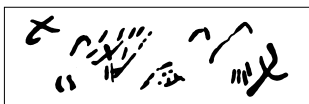


Afb. 31-8 Glove box en schets ervan (links).



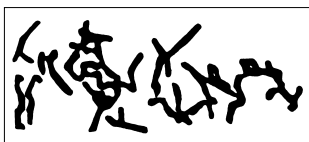
### 31-5-4 Andere Propionibacterium-soorten

**Propionibacterium = propion-  
zuurvormend staafje**



Afb. 31-42 *Propionibacterium acnes*.

eskuline	-
glucose	+ <sup>zw</sup>
lactose	-
maltose	-
mannitol	v
mannose	+ <sup>-</sup>
galactose	+ <sup>-</sup>
glycerol	v
gelatinase	+
indol	+ <sup>-</sup>
nitraatreductie	+ <sup>-</sup>
katalase	+ <sup>-</sup>



Afb. 31-43 *Bifidobacterium* = gespleten staafje (findo = splijten).

eskuline	+ <sup>-</sup>
maltose	+
sacharose	+ <sup>-</sup>
gelatinase	-
indol	-
nitraatreductie	-
katalase	-

**Eubacterium = goedaardig  
staafje (eu = goed)**

*Propionibacterium* behoort tot de normale flora van de huid, maar wordt ook in het maag-darmkanaal, bovenste luchtwegen en urinewegen gevonden. Zij wordt in het laboratorium niet zelden als verontreiniger gevonden. *P.acnes* en *P.granulosum* worden het meest geïsoleerd, bijvoorbeeld uit het bloed. Dit kan een verontreiniging zijn indien de huid niet goed werd ontsmet. Ze zijn soms ook bij infecties betrokken. *P.acnes* zou een rol spelen bij acne. Ook bij infecties die voorkomen op hartkleprothesen en op kunststofmateriaal, aangebracht in patiënten met een hydrocefalus (Spitz-Holter-drain) of kunstgewrichten wordt *P.acnes* soms geïsoleerd. Dit kan aanleiding geven tot osteomyelitis, sepsis, endocarditis en meningitis.

De bacterie is anaëroob tot facultatief anaëroob. Morfologisch vindt men polymorfe Gram-positieve staven die op *Actinomyces* en de *Bifidobacteria* lijken: zij zijn difteroid, knotsvormig of draadvormig. Op bloedagar ziet men kleine, bolronde, ondoorschijnende kolonies met gladde rand, soms  $\beta$ -hemolytisch.

*Propionibacteria* zijn meestal katalase-positief, nadat de kolonies eerst 30 minuten aan de lucht zijn blootgesteld. *P.acnes* vormt indol, hydrolyseert gelatine, reduceert nitraat en gebruikt glucose, fructose, galactose, mannose en meestal glycerol.

### 31-5-5 Bifidobacterium

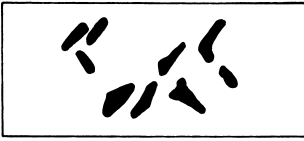
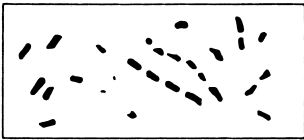
*Bifidobacteria* behoren tot de normale flora van de darm, de mond en de vagina. Ze worden zelden als enig micro-organisme uit klinisch materiaal geïsoleerd, maar meestal samen met andere. Hun eventueel ziekteverwekkend vermogen is niet bevestigd. Men denkt dat zij een beschermende functie hebben en voorkómen dat pathogene bacteriën zich kunnen nestelen. Het zijn polymorfe Gram-positieve staven, die vaak knotsvormige of vertakte uiteinden in de vorm van een Y vertonen. Alleen van *B.dentium* (voorheen *A.eriksonii*) is bekend dat zij voor de mens van pathogene betekenis kan zijn.

De kolonies zijn klein, rond, ondoorschijnend met bolronde oppervlak, soms met een platte, doorzichtige rand. Hoewel bijna alle stammen obliagaat anaëroob zijn, groeien sommige op voedingsbodems die bij CO<sub>2</sub> worden geïncubeerd.

De biochemische kenmerken van de *Bifidobacteria* zijn: ze zetten zeer veel suikers om, hydrolyseren bijna altijd eskuline, produceren geen indol of katalase, hydrolyseren gelatine niet en reduceren nitraat niet.

### 31-5-6 Eubacterium

*Eubacteria* behoren tot de normale darmflora van de mens, maar worden in het laboratorium relatief zelden geïsoleerd. *E.lentum* wordt het meest geïsoleerd, tevens vindt men *E.limosum* en *E.alactolyticum*, meestal in bloedkweken of abscessen. Omdat ze zelden als reinkweek groeien is hun pathogene rol onzeker.



Afb. 31-44 *E. lentum*, *E. limosum* en *E. alactolyticum*.

eskuline	+ <sup>-</sup>
glucose	+
maltose	+ <sup>-</sup>
mannose	+ <sup>-</sup>
sacharose	+ <sup>-</sup>
gelatinase	-
indol	-
nitraat	- <sup>+</sup>
katalase	-

*E. lentum* is een klein, kort, Gram-positief staafje, dat vaak aanwezig is in paren en op diplokokken lijkt, omdat kokkoïde vormen voorkomen en ketens worden gevormd. Op bloedagar groeien na 38 uur niet-hemolytische, ronde halfdoorschijnende kolonies met gladde rand. *E. lentum* zet geen suikers om, vormt geen indol, beschikt niet over gelatinase of katalase, maar reduceert meestal wel nitraat.

*E. limosum* is een korte, vrij 'stevige', Gram-positieve staaf, polymorf, soms met verdikkingen en vertakte uiteinden. Kolonies zijn op een bloedagar niet van die van *E. lentum* te onderscheiden.

*E. limosum* gebruikt enkele suikers, hydrolyseert eskuline, maar vormt geen indol en reduceert nitraat niet.

Kolonies van *E. alactolyticum* lijken morfologisch, microscopisch en macroscopisch op *Propionibacteria*. Deze soort gebruikt glucose, fructose en mannitol, maar is verder biochemisch inactief.

Tabel 31-12  
Biochemische eigenschappen van *Eubacterium* spp.

test/substraat	<i>E. lentum</i>	<i>E. limosum</i>	<i>E. alactolyticum</i>
eskuline	-	+	-
glucose	-	+ <sup>zw</sup>	+ <sup>zw</sup>
lactose	-	- <sup>zw</sup>	-
mannitol	-	+ <sup>zw</sup>	+ <sup>-</sup>
gelatinase	- <sup>zw</sup>	- <sup>+</sup>	-
indol	-	-	-
nitraatreductie	+ <sup>-</sup>	-	-
katalase	-	-	-

Zie voor verklaring van de tekens p. VIII voor in dit boek.

### Lactobacillus = melkstaafje



Afb. 31-45

### 31-5-7 Lactobacillus

Tot het geslacht *Lactobacillus* behoren anaërobe en facultatieve micro-organismen. Deze Gram-positieve staafjes vormen uit glucose hoofdzakelijk melkzuur. Ze worden zo nu en dan in klinisch materiaal gevonden, maar meestal als niet-pathogeen beschouwd. Ze behoren tot de normale flora van de darm, het urogenitale stelsel en de mond. In de mond kunnen ze onder bepaalde omstandigheden een bijdrage in het cariës-ziekteproces leveren.

Microscopisch zijn lactobacillen bijna altijd regelmatige, soms polymorfe Gram-positieve staven, die gewoonlijk in ketens liggen. Soms zijn ze kokkobacillair, zodat ze gemakkelijk met streptokokken verward kunnen worden.

Lactobacillen groeien op bloed- en chocolade-agar in een CO<sub>2</sub>-rijk milieu. Ze groeien het best op een medium met een lage pH zoals het Rogosa-medium. Ze vormen kleine, soms vergroenende kolonies.

Lactobacillen zetten meestal glucose, fructose, lactose, maltose en sacharose om. Gelatine wordt niet vervloeid, indol of katalase wordt niet gevormd, nitraat wordt in de regel niet gereduceerd.