

Lékařská mikrobiologie pro ZDRL

Týden 24:

Základy klinické mikrobiologie I (ekologie, biofilm, (mikroflóra jednotlivých částí těla)

Ondřej Zahradníček

zahradnicek@fnusa.cz

S využitím materiálů prof. Miroslava Votavy CSc., doc. Vladany Woznicové, PhD., ing. Veroniky Holé, PhD. a dr. Lenky Černohorské, PhD.

Co nás dnes čeká

- Povídání o **vztazích mezi organismy**
- Rozvedení povídání **o biofilmu (o kterém už byly zmínky dříve)**
- Povídání o **normální mikroflóře jednotlivých částí těla**

Mikro- ekologie

Vztahy mezi organismy

Ekologie je věda o vztazích mezi organismy navzájem a mezi organismy a prostředím.

Při popisování těchto vztahů hraje roli, zda popisujeme vztah organismů **srovnatelné velikosti** (bakterie – kvasinka, člověk – tygr) nebo **velikosti různé** (bakterie – člověk). *Například pokud člověka jednorázově sežere šelma, jde o predaci; pokud ho dlouhodobě „ujídá“ mikrob, jde o parazitismus*

Při popisování vztahů mezi organismy se používají různé pojmy, přičemž

- některé se týkají vztahů mezi organismy navzájem **v obecné rovině**
- některé se týkají **potravních vztahů**

Vztahy v obecné rovině

Symbióza v širším slova smyslu znamená jakékoli těsné soužití dvou rozdílných organismů

Symbióza v užším smyslu znamená pouze vzájemně prospěšné soužití obou organismů (také **mutualismus**, oba partneři mají ze soužití užitek a často nemohou mimo ně přežít, např. houba + řasa = lišejník)

Případ, kdy jeden organismus druhému škodí, se pak nazývá **antibióza** (a případná látka za ni zodpovědná je antibiotikum)

Vztah může být také **indiferentní**

Potravní vztahy dvou organismů

Komenzalizmus – „sdílení jídelního stolu“ (mensa).
Například potraviny, které sníme, využívají i mikroby našeho střeva

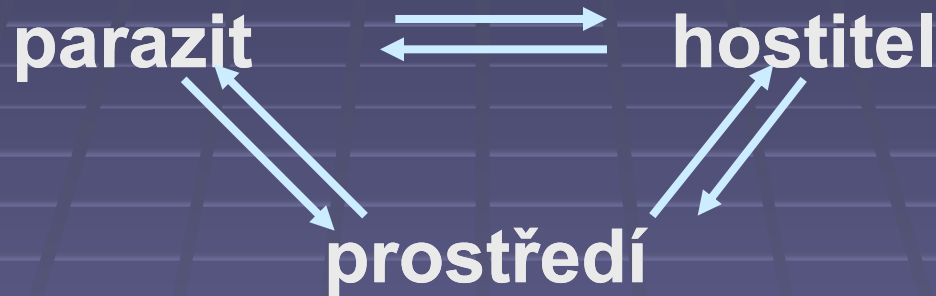
Saprophytismus – využívání odumřelých částí organismů či celých odumřelých organismů (odloupaných epitelíí či celých mrtvých těl)

Predace – organismus se živí jiným živým organismem (lev – antilopa)

Parazitismus – případ, kdy jeden organismus žije na úkor druhého a napadá jeho živé buňky, ne však s cílem rychlého usmrcení (jako u predace), ale s cílem dlouhodobého přežití tímto způsobem (jmelí – stromy). **Sem patří i mnohé medicínsky významné mikroby.**

Vztah parazit × hostitel

Je dynamický a je ovlivňován prostředím



Pro parazita je zpravidla nejvýhodnější situace, kdy hostitel přežije, ale nesnaží se parazita zbavit

Pro hostitele je ale živení parazita nevýhodné, snaží se ho tedy zbavit – zničit, odstranit, nebo aspoň lokalizovat (pak někdy rezignuje na snahu o ničení parazita, například v případě tzv. „nesterilní imunity“ u toxoplasmózy, kdy panuje „trvalé příměří“)



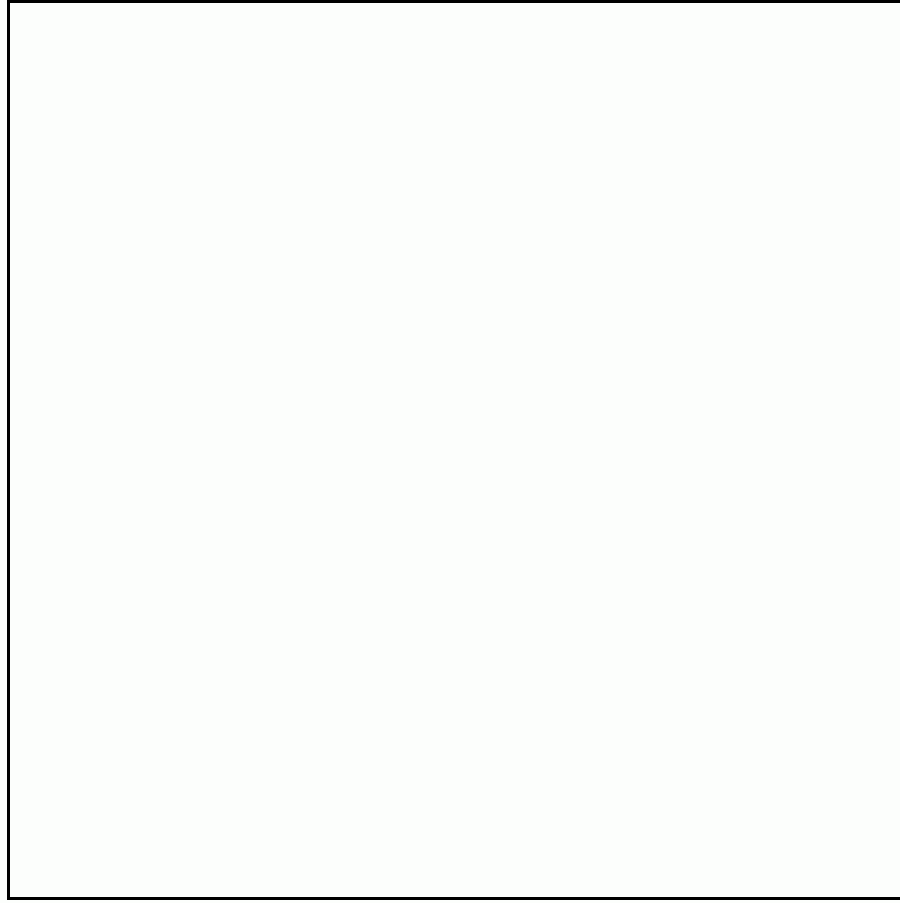
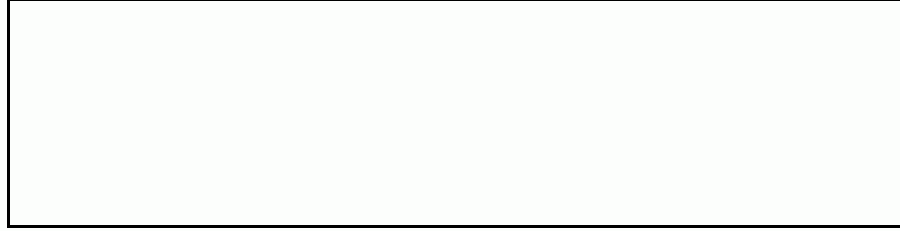
Saprofyt: *Proteus* se podílí na likvidaci
ne strávených bílkovinných zbytků potravy

Biofilm

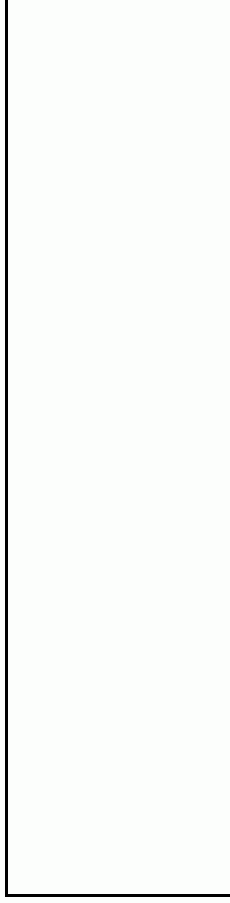
Co je to biofilm

- Biofilm je **jeden ze způsobů života bakterií**. Je to způsob, kdy bakterie tvoří souvislou vrstvičku na určitém povrchu
- Opakem biofilmu je **planktonická forma života bakterie**
- Biofilm se v přírodě **vyskytuje velice často**. Biofilm je to, na čem v létě uklouzneme v rybníce, když šlápneme na kámen
- Biofilm může být **jednodruhový**, častěji však bývá **vícedruhový**
- Mohou se na něm podílet **bakterie, kvasinky, řasy a různé jiné mikroorganismy**

Vznik biofilmu v časovém sledu



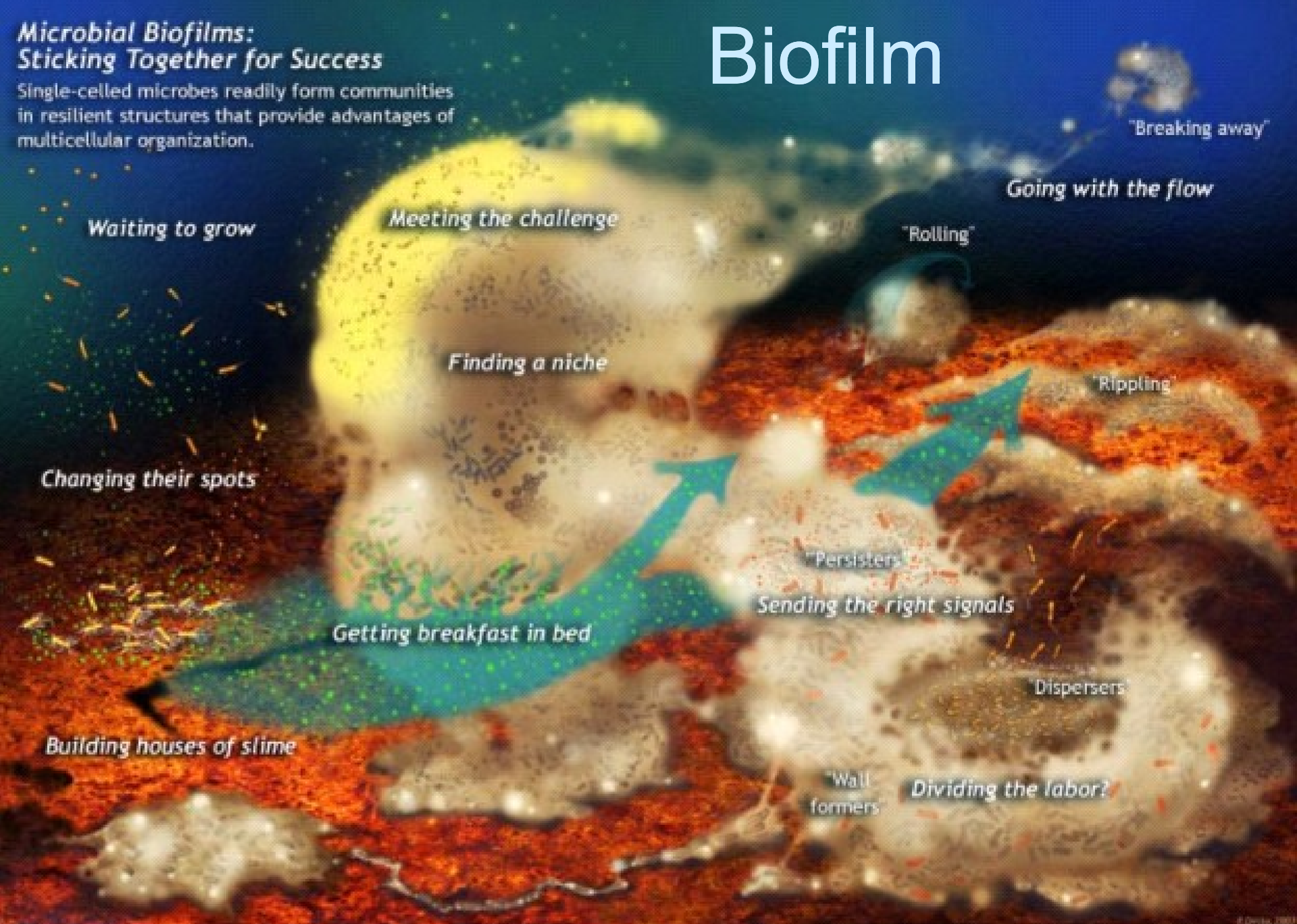
0 h



Biofilm

Microbial Biofilms: Sticking Together for Success

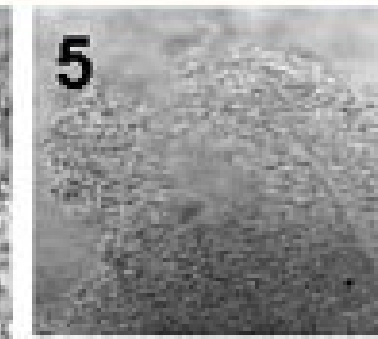
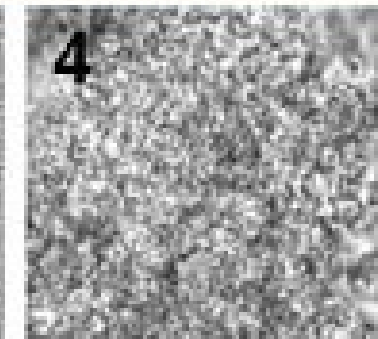
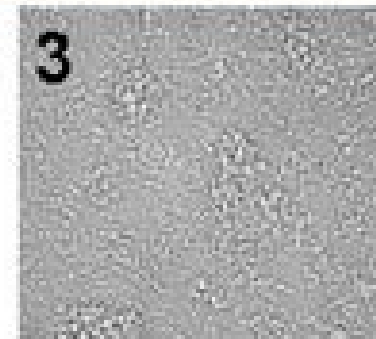
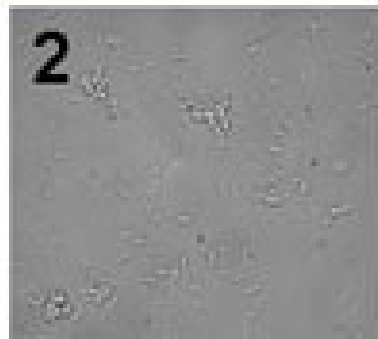
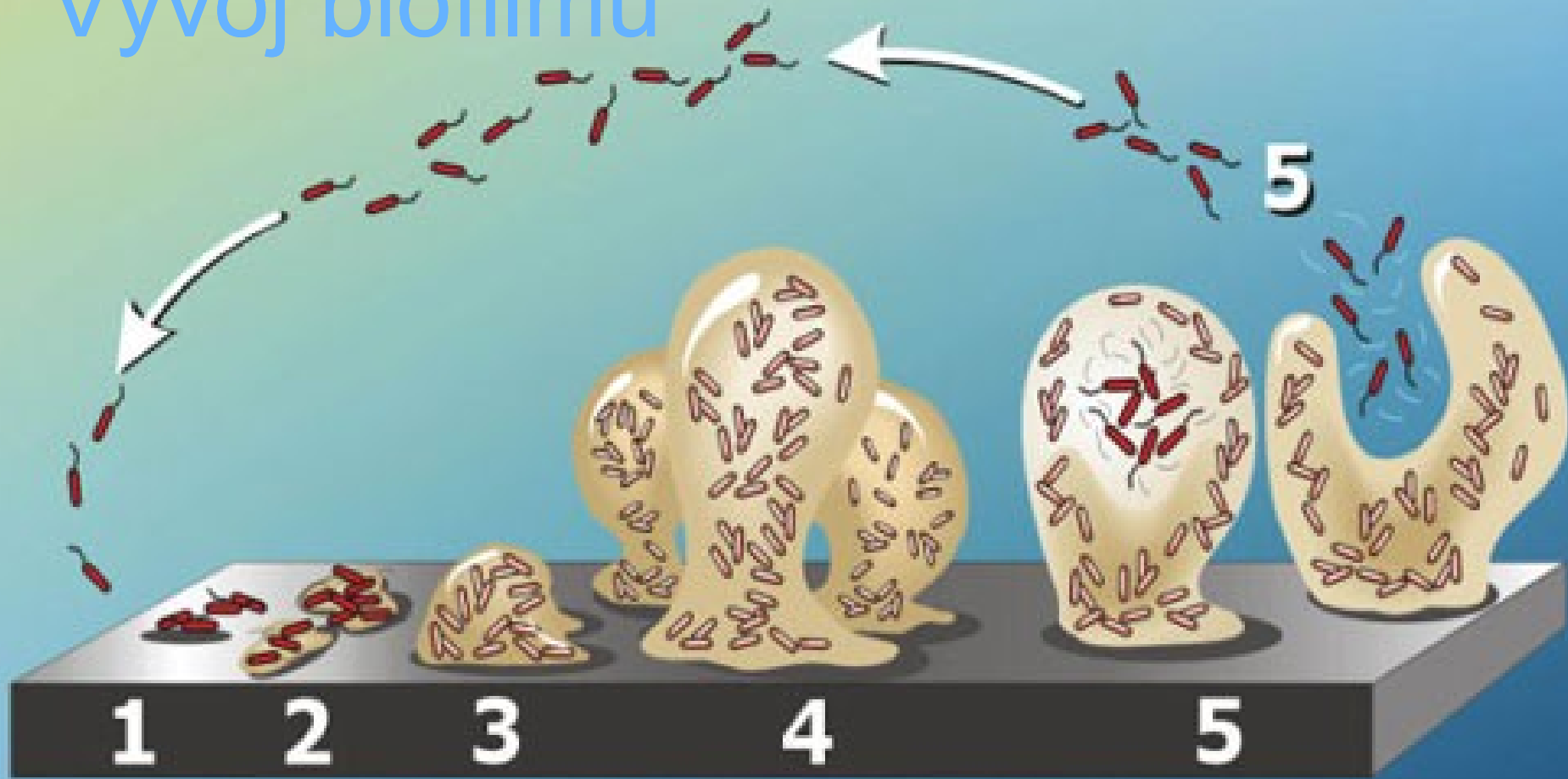
Single-celled microbes readily form communities in resilient structures that provide advantages of multicellular organization.



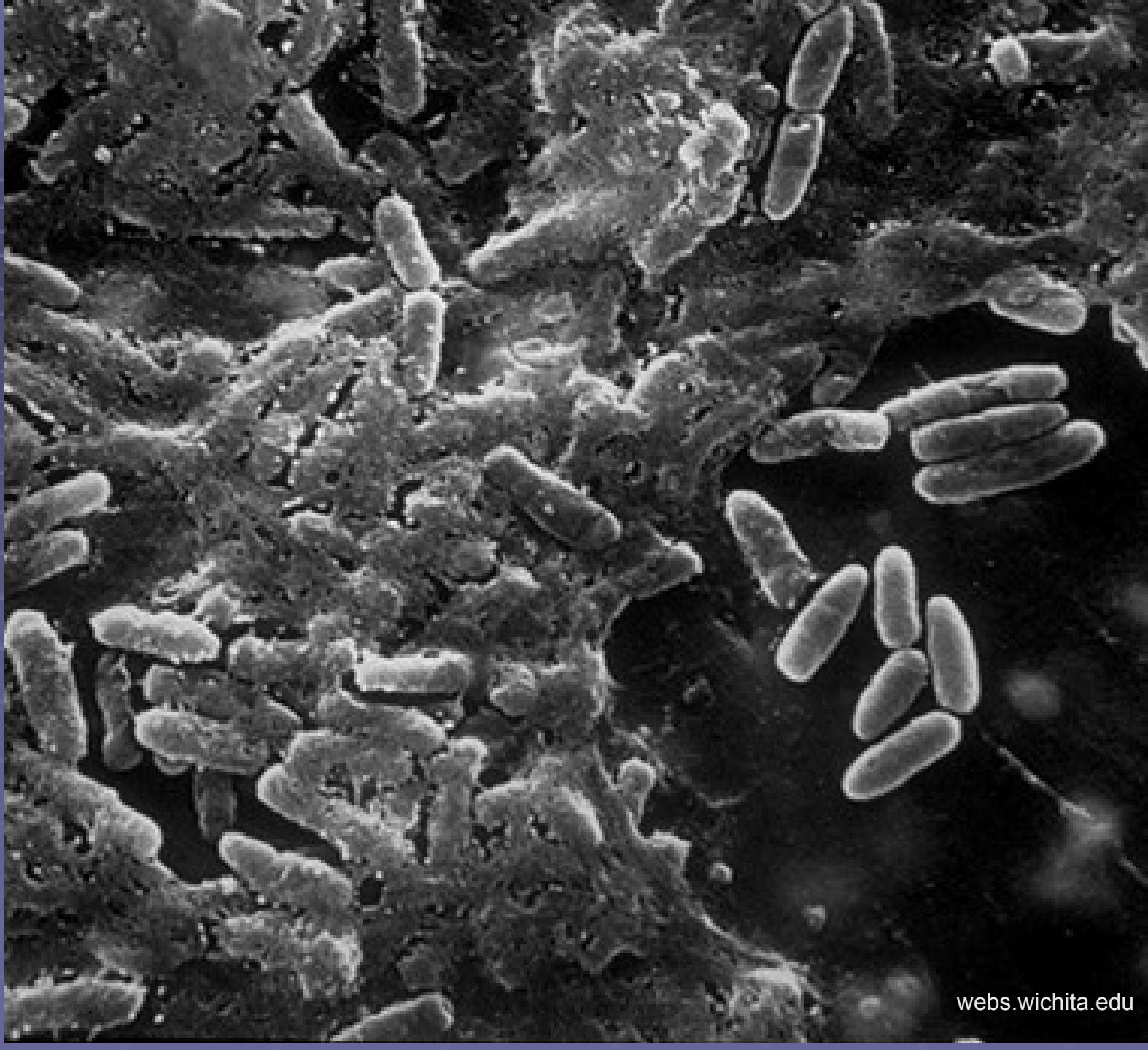
Biofilm jako zdroj dalšího šíření

- Poté, co se biofilm vytvoří, **uvolňují se** z něj **mikroorganismy**, které pak **mohou kolonizovat zase další povrchy**, takže biofilm vzniká na dalších místech
- Neodstraněný biofilm tedy představuje **potenciální riziko** pro vznik biofilmu na jiných místech

Vývoj biofilmu



Biofilm v elektronovém mikroskopu



Kde působí biofilm problémy

- **biofilm vzniklý na umělých površích v organismu** člověka i zvířete (katetry, implantáty a podobně)
- méně často **biofilm na přirozených površích** (zde si s tím organismus spíše poradí), ale i zde mohou být komplikace (zubní plak člověka, biofilm v žlázovém epitelu vemene u krávy)
- a samozřejmě také **biofilm na různých površích či v potrubních systémech mimo organismy**, zejména ve vodárenství a potravinářství

Materiály a místa

Na čem se tvoří:

- **nerez**
- **hliník**
- **sklo**
- **teflonu**
- **guma**
- **plasty**

Nejčastější výskyt:

mrtvá místa
výrobního zařízení

- **ventily**
- **klouby**
- **těsnění**
- **apod.**

Biofilm v těle: dobrý, nebo zlý?

- **Běžná mikroflóra se vyskytuje zpravidla více či méně ve formě biofilmu.** Takový biofilm je pro hostitele pozitivní a poskytuje mu ochranu před patogeny.
- Problém však je, pokud se ve formě biofilmu vyskytnou **patogenní mikroorganismy** a pokud dojde k narušení rovnováhy mezi mikroby a hostitelem.
- Závažný a nebezpečný bývá zejména **biofilm vzniklý na umělých površích** v organismu (katetry, implantáty a podobně)

Vznik biofilmu

- Na začátku je **pevný povrch a plovoucí bakterie**



- Bakterie **adheruje** na povrch



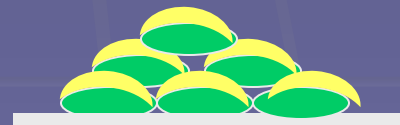
- Následuje **agregace** dalších bakterií



- Bakterie začnou produkovat **polysacharidovou matrix**



- Až vznikne **třídímenzionální struktura zvaná biofilm**



Význam tvorby biofilmu u bakterií

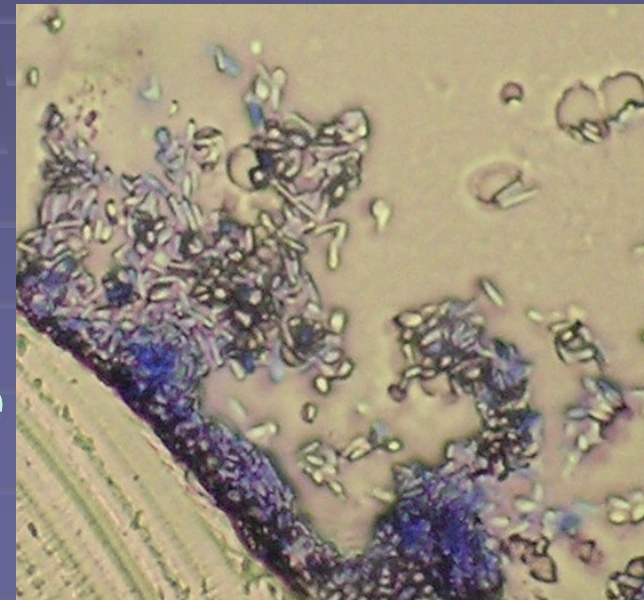
Bakterie mohou **lépe regulovat početnost populace**

– v rámci biofilmu se totiž informují produkcí určitých látek (tzv. quorum sensing)

Bakterie se stávají **odolnější vůči vnějším vlivům:**

- **desinfekčním prostředkům**
- **antibiotikům**
- **imunitní reakci hostitele**

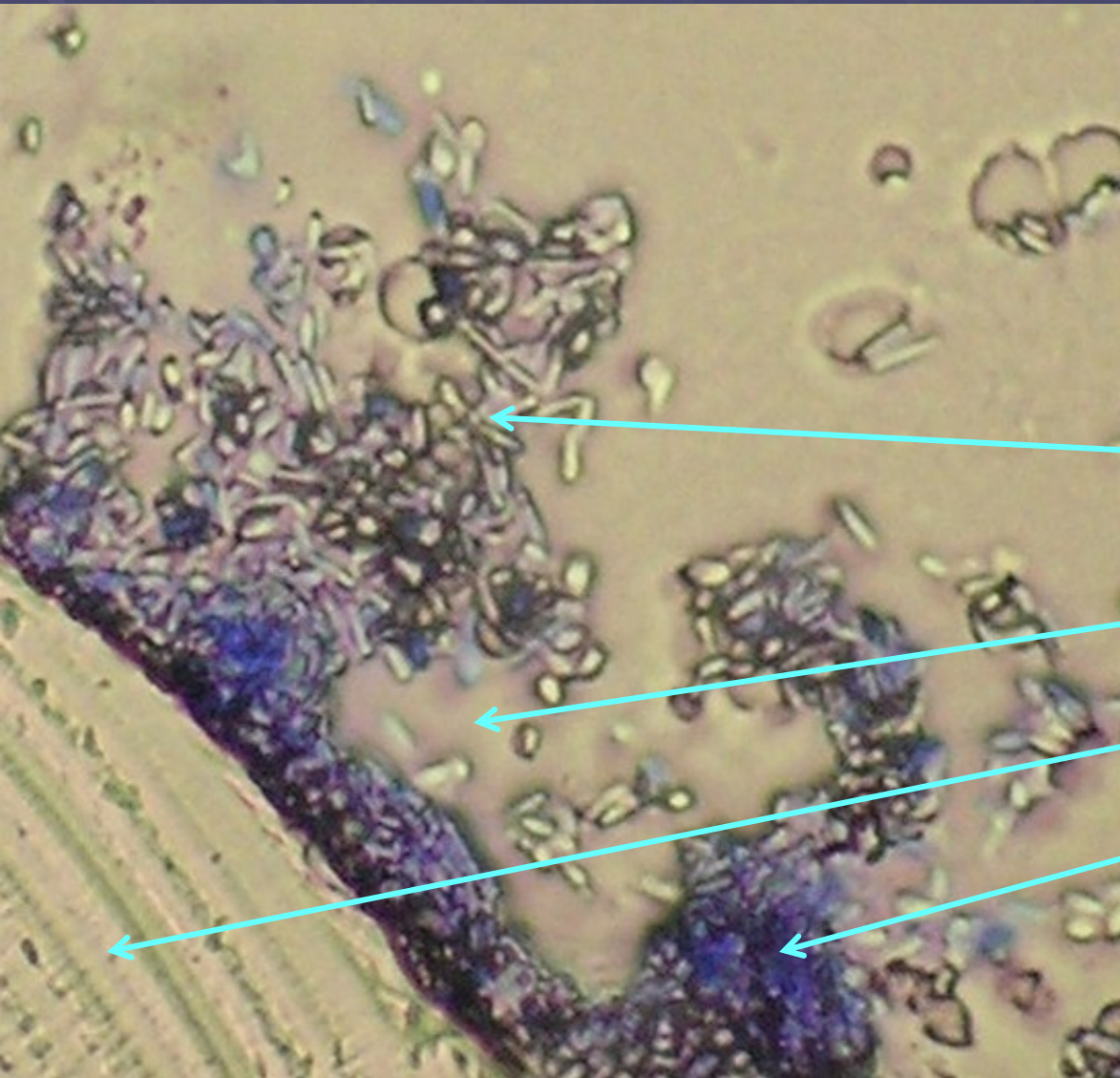
Biofilm tvoří jak bakterie běžné flóry (z hlediska organismu spíše pozitivní), tak i patogeny.



Z čeho se biofilm skládá

- **Z mikroorganismů**, což mohou být bakterie, řasy, sinice a další organismy. U vícedruhových biofilmů je možné, že různé organismy se v rámci biofilmu vyskytují v různých vrstvách
- **Z polysacharidové matrix**, která je mikroorganismy vytvořena
- **Z kanálků**, které slouží nejen k výživě mikrobů, ale také k transferu různých mediátorů (vzájemná „informovanost“ mikrobů – quorum sensing, regulace počtu)

Řez biofilmem na plastovém materiálu



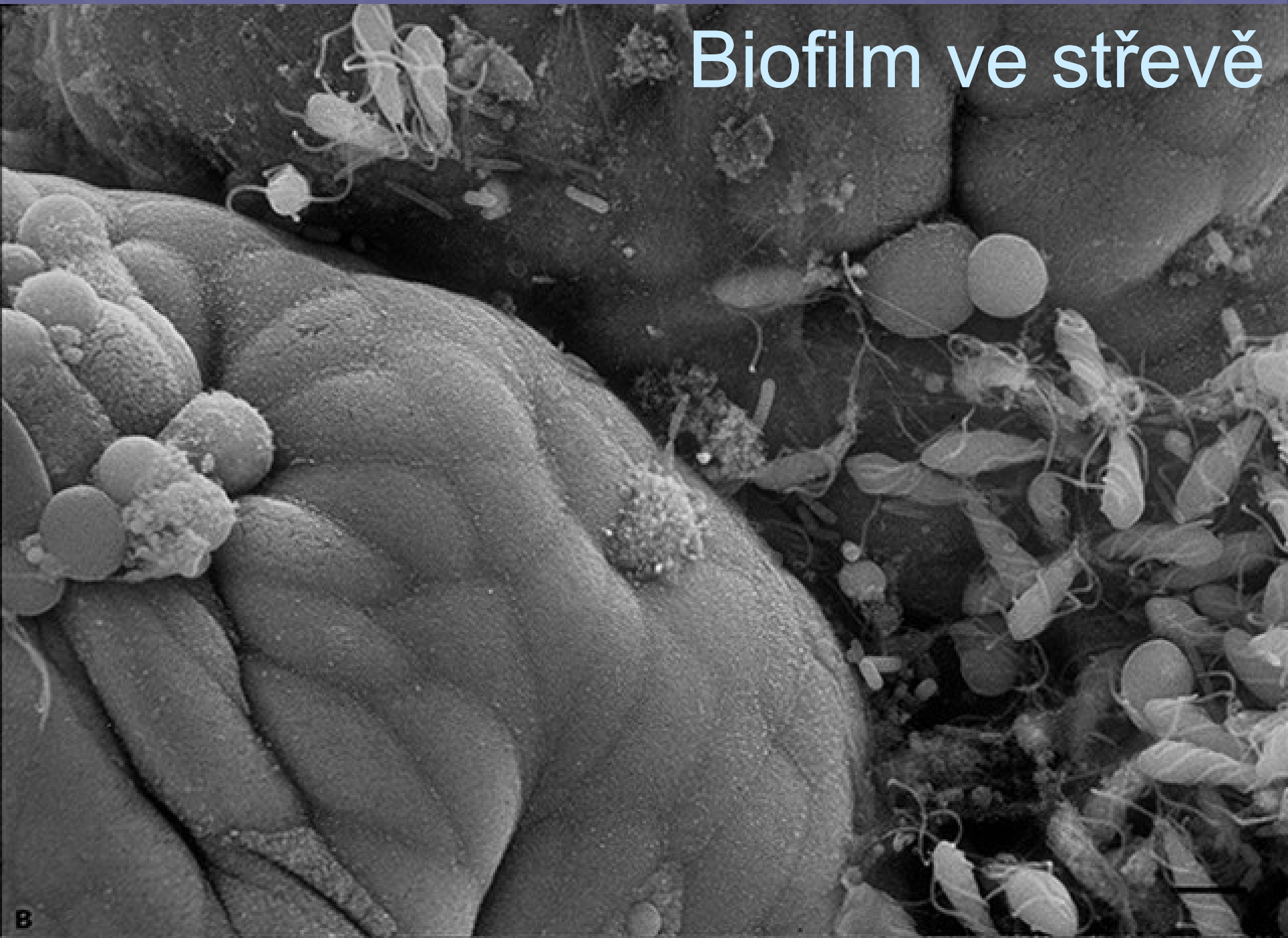
Bakterie

Kanálek

Plast

Polysacharidy

Biofilm ve střevě



Patologický biofilm – příběh

- Muž, 58 let, v roce 2001 zaveden kardiostimulátor, v roce 2002 opakovaně hospitalizován na interním oddělení s **teplotami nejasné etiologie**, vzestup zánětlivých markerů
- V **hemokulturách** prokázán *S. epidermidis* s velmi dobrou citlivostí
- Několikrát dlouhodobě přeléčován **vysokými dávkami antibiotik v kombinacích** (oxacilin, gentamicin, rifampicin, cefazolin, cefalotin, klindamycin)

Příběh – pokračování

- Zpočátku vždy dobrá odezva, poté se objevují **ataky teplot i v průběhu terapie.**
- Při vyšetření přes jícen **nález vegetace na komorové elektrodě** o velikosti $1,5 \times 1,5$ cm.
- Kardiologové opakovaně **odmítají odstranění kardiostimulátoru.** Nasazena kombinace antibiotik **oxacilin + gentamicin + rifampicin**, pacient v dobrém klinickém stavu.
- Znovu však dochází k **vzestupu teplot a zvýšení CRP.** Nasazena terapie **vankomycin + rifampicin**, po zlepšení stavu je pacientovi **odstraněn trombus a vyměněna elektroda** (pod clonou ATB), to vede k celkovému zlepšení stavu pacienta.

Viníkem byl biofilm

- Neúspěch zvolené ATB terapie byl zapříčiněn tím, že **nebyla brána v úvahu vysoká rezistence mikroba rostoucího ve formě biofilmu** vůči těmto antibiotikům.
- Léčba nebyla od samého začátku dostatečně razantní a **nedošlo k eradikaci ložiska biofilmu**.
- Teprve **odstranění elektrody** (pod clonou ATB) došlo ke **zlepšení stavu pacienta**.

Biofilm a antibiotika

- Pokud jsou bakterie ve formě biofilmu, **nemusí antibiotika „zabrat“**, i když klasické metody in vitro citlivosti dávají léčbě šanci. Účinnost antibiotika na biofilm je totiž jiná než účinnost na jednotlivé bakterie.
- Bylo by potřeba **zvýšit koncentraci antibiotika** (ale někdy by ani to nepomohlo), **použít jiné antibiotikum** s lepším průnikem do biofilmu, případně **rozbít biofilm** a až pak působit antibiotikem
- Rozhodně ale v takovýchto případech **není vypovídající hodnota MIC či MBC**.

Účinky antibiotik u biofilmové infekce

- **Antibiotická léčba** často není schopna zasáhnout buňky uložené v matrix biofilmu.
- **Potlačí ovšem příznaky** infekce způsobené buňkami uvolněnými z matrix biofilmu a jejich interakcí s imunitním systémem
- V první fázi se tedy zdá, že léčba zapůsobila, avšak **po čase se infekce zase vrací**
- **V případě akutních stavů je ovšem i takováto „první pomoc“ žádoucí** – pacient přežije a vznikne čas na definitivní řešení problému

Předpokládané mechanismy ovlivňující rezistenci k antibiotikům (stále se zkoumá)

- Vliv **povrchového náboje** (odpuzování)
- Snížení **růstové rychlosti** (antibiotika působící na rostoucí bakterie hůře působí)
- **Horší prostupnost antibiotika**
- **Nehomogenní matrix**
- **Fenotypové odlišnosti biofilmových bakterií**
- **Intercelulární signalizace**
- **Imunitní mechanismy**

MBEC (a MBIC)

- Experimentálně se zkouší vyhodnocovat hodnoty **MBEC** (minimální biofilm eradikující koncentrace)
- *Někdy se také testují hodnoty MBIC (minimální biofilm inhibující koncentrace); ukazuje se ale, že zejména měření MBIC je obtížně standardizovatelné a pravděpodobně se od něho upustí.*
- Zkouší se také testování citlivosti biofilmu na **kombinace antibiotik**, zejména tam, kde jednotlivá antibiotika nestačí

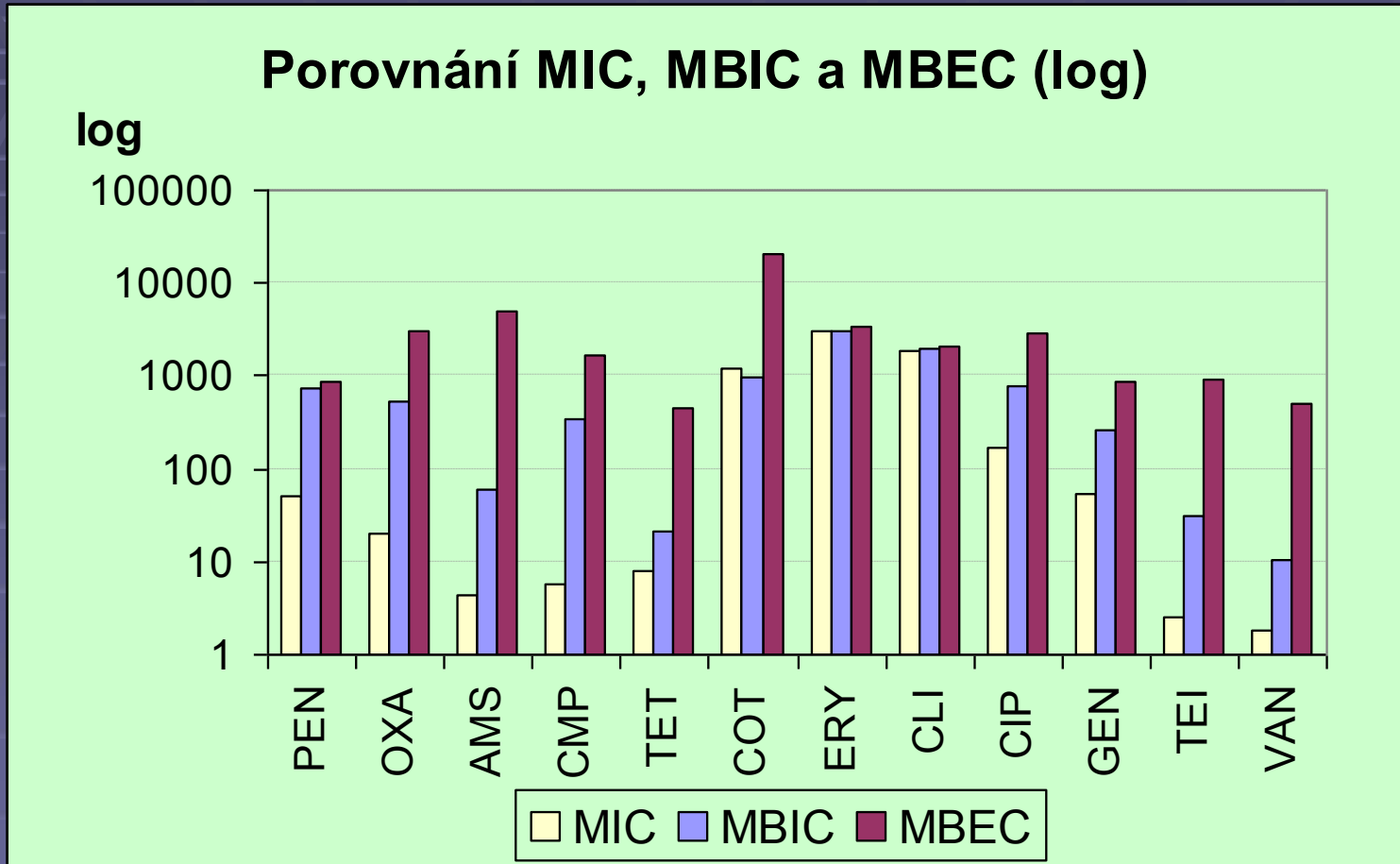
Biofilm a antibiotika – řešení

- Hodnoty MBEC leží často **nad break pointem** pro daná antibiotika (bakterie jsou k nim tedy rezistentní), a někdy jsou **několikanásobně vyšší** než MIC (takže určení MIC je málo vypovídající)
- Je to logické – antibiotika mají své cílové struktury na buňkách bakterií, nikoli na strukturách biofilmu
- Možná **řešení**:
 - mechanické **odstranění biofilmu**
 - **vyjmutí předmětu**, na kterém se biofilm vytvořil (katétru, kloubních náhrad, zubních implantátů apod.)
 - snaha **rozložit biofilm** chemicky, enzymaticky apod.
- Ve všech případech **zároveň s antibiotickou léčbou**

Účinnost na biofilm ≠ účinnost na bakterie

- Účinnost chemických látek na biofilm jako celek je dána **zcela jinými mechanismy** a vlivy než účinek na bakterie samotné. Často se právě uplatňuje **povrchový náboj**
- Proto **postupy méně účinné na jednotlivé bakterie mohou být účinnější na biofilm**
- U biofilmů **v chirurgických ranách je například důležitější lokální ošetření rány** (např. koloidní stříbro – povrchový náboj) než celkově podaná antibiotika

Rozdíly v MIC, MBIC a MBEC – porovnání



Zkratky antibiotik: pen – penicilin, oxa – oxacilin, ams – ampicilin/sulbactam, cmp - chloramfenikol, te t – tetracyklin, cot – kotrimoxazol, ery – erytromycin, cli – clindamycin, cip – ciprofloxacin, gen – gentamicin, tei – teikoplanin, van – vankomycin

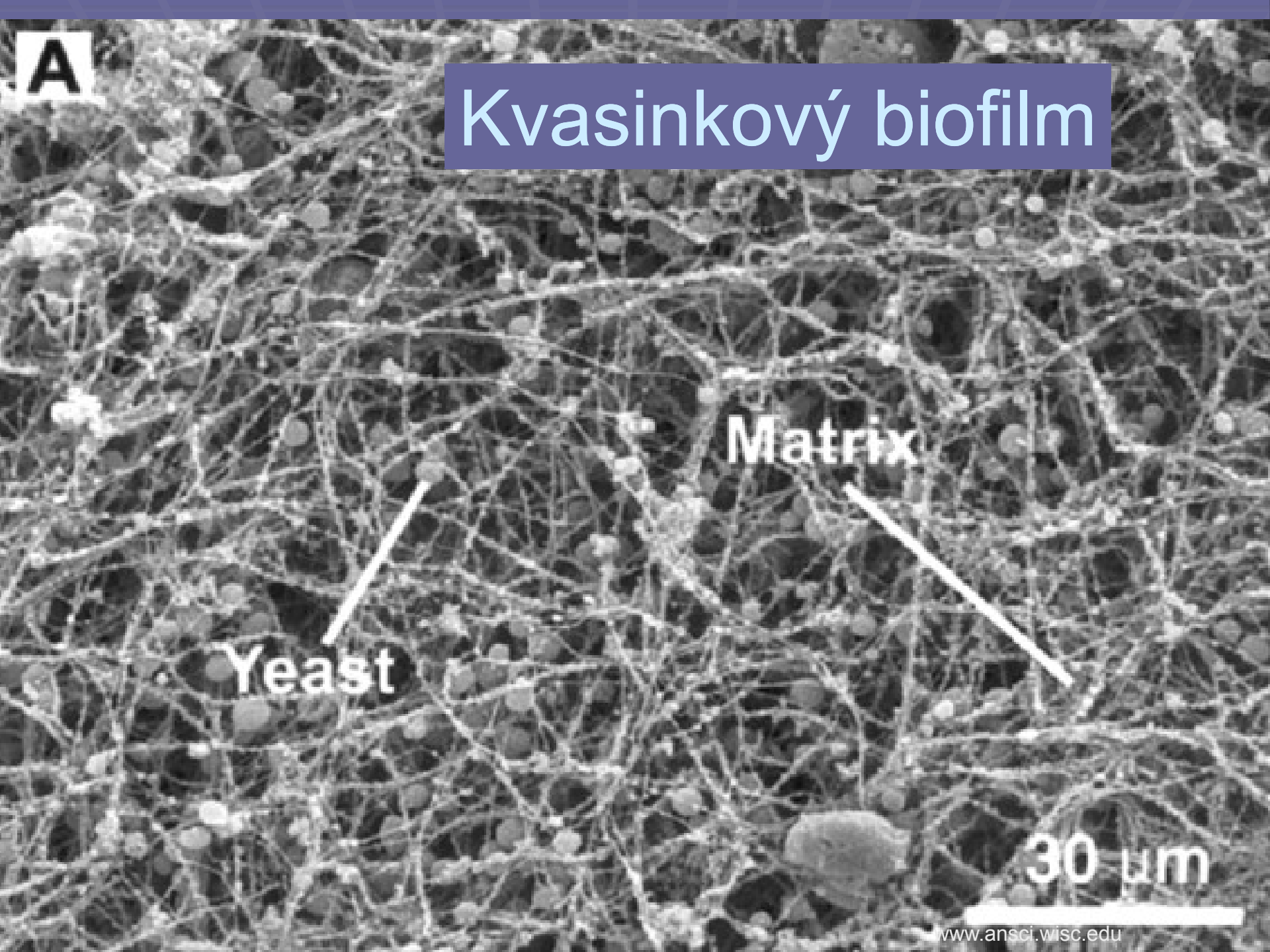
A

Kvasinkový biofilm

Yeast

Matrix

30 μ m



Biofilm a mikrobiologická diagnostika

- Protože dnes víme, že biofilm existuje a je důležitý, nemůžeme se tvářit, že tomu tak není.

Biofilm ovlivňuje mikrobiologickou diagnostiku v následujících bodech:

- Pokud předpokládáme tvorbu biofilmu, je třeba to zohlednit při **zpracování materiálu** (např. u katetrů)
- Je možné přímo **detekovat tvorbu biofilmu**, resp. sklon bakterií tvořit biofilm
- Je možné **určovat hodnoty MBEC.**

Kultivace bakterií tvořících biofilm

- **Pokud bakterie tvoří biofilm, je vhodné zohlednit tuto skutečnost při zpracování materiálu**
- V poslední době se vedou velké diskuse např. o tom, jak zpracovávat **žilní katetry** před jejich kultivací v mikrobiologické laboratoři.
- Jsou vyvíjeny metody, jejichž cílem je dobrý záchyt patogenů, jejich kvantifikace a zároveň odclonění kontaminace

Klasické zpracování katetrů

- **Klasická kultivace v bujonu:** katetr se vloží do tekuté půdy a kultivuje 24 h. Je-li po této době bujon zakalený, je vyočkován na pevnou půdu a případné bakterie identifikovány.
- **Co se stane:** Uvolní se bakterie v planktonické formě. Bakterie ve formě biofilmu se uvolní málo nebo vůbec.
- Vzhledem k použití bujónu jako pomnožovací půdy **nevíme nic o kvantitě** (kontaminace × infekce).

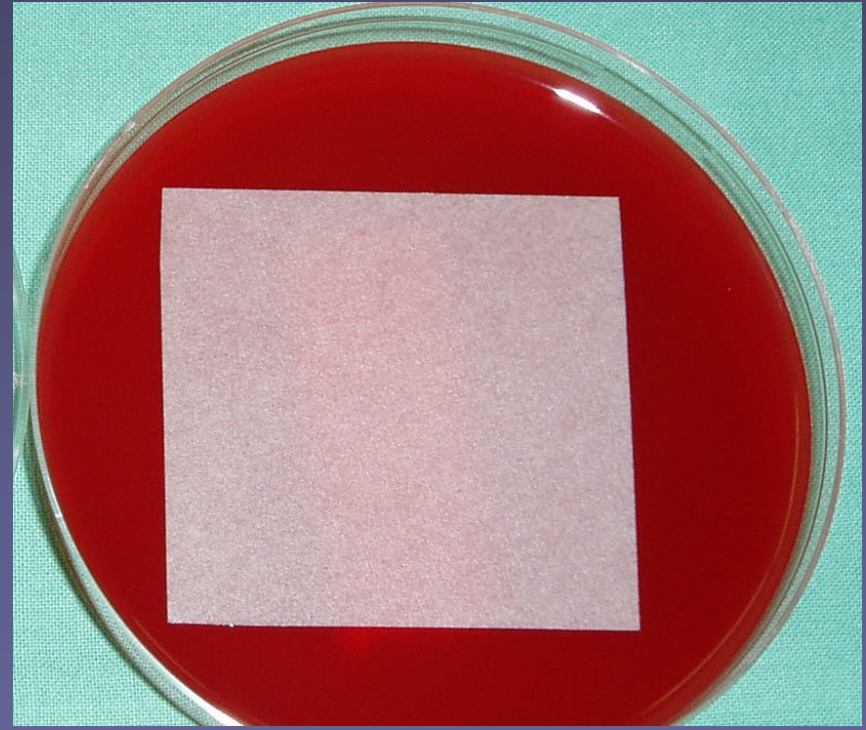
Nové možnosti zpracování katetrů

- **Semikvantitativní metoda:** Bujon se oválí po povrchu pevné půdy. **Co se stane:** zmapujeme povrch katétru a semikvantitativně posoudit nález, nevypovídá však o bakteriích uvnitř a bakterie se nemusí uvolnit z biofilmu.
- **Sonifikace:** biofilm rozbijeme ultrazvukem. **Co se stane:** rozrušíme biofilm na povrchu i uvnitř katétru. Vyočkování určitého objemu vzorku je kvantitativní metoda, takže dává možnost posoudit množství mikrobů.

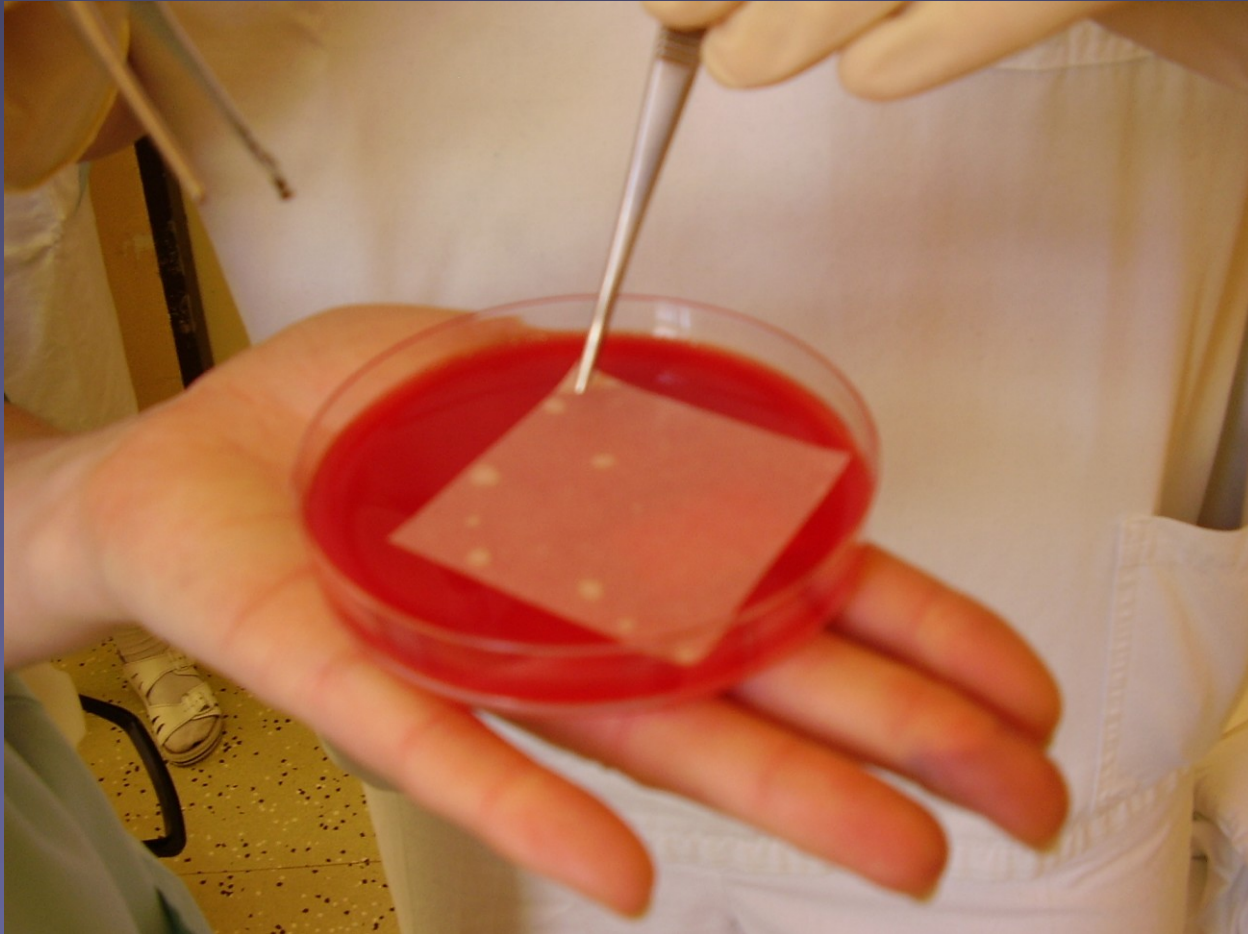
Rány: stěr nebo otisk?

- Při stěru z rány používáme sterilní tampon na tyčince, který se transportuje ve zkumavce s transportní půdou dle Amiese, výsledek je **kvalitativní**.
- U otisku přenášíme čtverec sterilního filtračního papíru (v našem případě s rozměry 5 × 5 cm) z krevního agarů na vyšetřovanou plochu a zpět. Výsledek je **semikvantitativní a dává lepší informace o biofilmu v ráně**

stěr x otisk



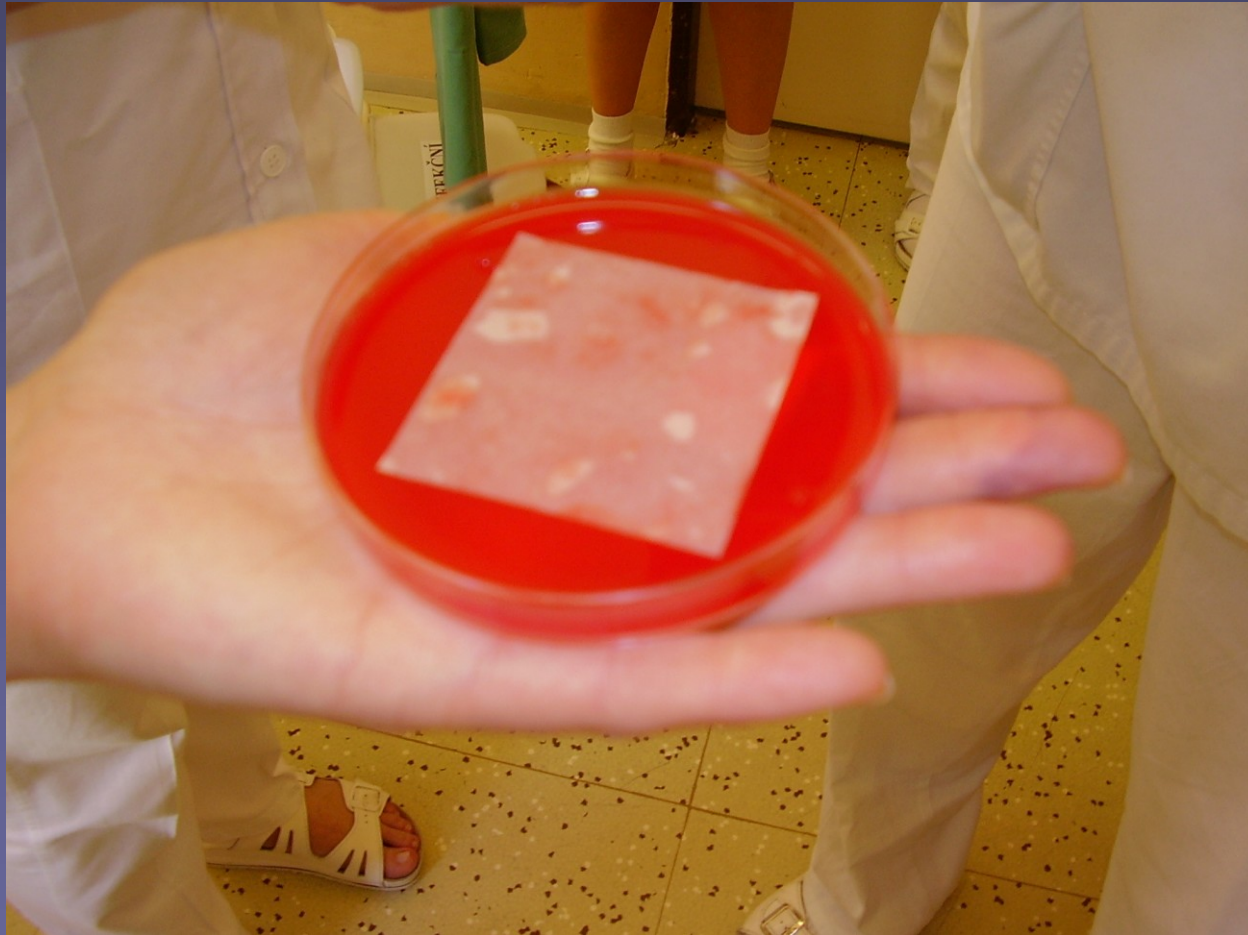
Technika otisku I



Technika otisku II



Technika otisku III



Možnosti detekce produkce biofilmu u bakterií a kvasinek

- Průkaz biofilmu **fenotypovými metodami** (kultivace na agaru s kongo červení, Christensenova metoda)

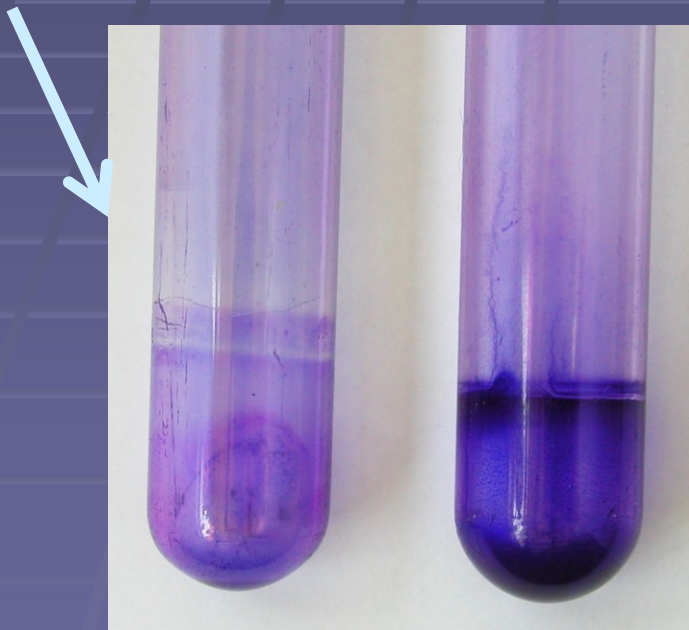
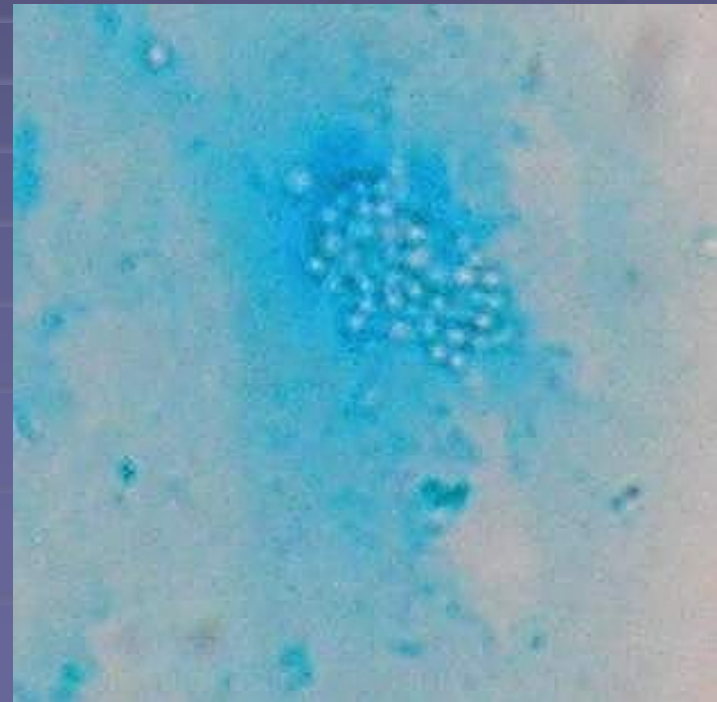


Foto:
Archiv Veroniky Holé

- Průkaz biofilmu **genotypovými metodami**

Spíše pro výzkumné a výukové účely: Mikroskopie orálního biofilmu

- **V preparátech barvených Gramem** lze pozorovat shluky bakterií (G+ i G-) a případně buňky makroorganismu (epitelie apod.)
- **Jiná barvení, např. barvení alciánovou modří** umožňují i znázornění polysacharidového materiálu, tj. nebuněčné části biofilmu, buňky jsou zde znázorněny negativním barvením



Průkaz zubního plaku v pokusu

Pokus: Dobrovolník má připravenou tabletku s barvivem barvícím zubní plak. Odečítá se za 2 min.

Výsledek: Často i u lidí s takzvaně „vyčištěnými zuby“ lze prokázat přítomnost zubního plaku!



Foto: Archiv MÚ

Orální biofilm je prospěšný, dokud není příliš intenzivní.

Plak je tím intenzivnější, čím více sacharidů konzumujeme, a čím delší je prodleva mezi čištěním zubů



Stanovení MBIC a MBEC

- Používá se podobných destiček jako při určování MIC, avšak speciální metodika umožní určení hodnoty MBEC (popř. MBIC)



Prevence

- Prevence nadměrného **biofilmu v ústní dutině**
 - Pravidelné čištění zubů a omezení sladkých jídel a nápojů
- Prevence **katetrových biofilmů**
 - Katétry a kostní cementy z materiálů nepodporujících tvorbu biofilmu, případně s **antimikrobiálními substancemi**, např. minocyklin či rifampicin
 - **Proplachy katétrů**
 - **Dodržování pravidel asepse**, správné dekontaminační postupy apod.

Odstranění biofilmu

- **Odstranění povrchu** (výměna zařízení, části potrubí apod.) je samozřejmě radikální krok. Otázkou je, zda se biofilm nevytvoří znovu, bude-li nová část stejné konstrukce
- K **mechanickému odstranění biofilmu** lze přistoupit, pokud to umožňuje situace
- Z **fyzikálních** metod lze použít např. ultrazvuk
- **Chemická cesta** je možná, je však nutné mít ověřeno, že příslušný postup (látka a koncentrace) na biofilm působí. Často se používají chlorové preparáty
- **Kombinace** různých postupů je též možná

Likvidace biofilmů ve vodárenství a potravinářství

Účinná může být kombinace

- **působení detergentu**, který rozpustí a rozruší organickou hmotu na povrchu biofilmu, následně
- **opláchnutí** rozrušený biofilm odplaví, a tím obnaží mikroorganismy, a poté
- **desinfekční látka** pronikne dovnitř biofilmu a inaktivuje přítomné mikroorganismy

Nebo lze využít prostředků, které mají účinek detergentu i desinfekčního prostředku; problém je v tom, že vlastní desinfekční účinek detergentů je spíše slabý.

Běžná

flóra

Normální mikroflóra a její význam

- Na různých místech lidského těla je přítomna tzv. **normální (běžná) flóra či mikroflóra.**
- Je tvořena **komenzálními či saprofytickými mikroby**, které jsou hostiteli více či méně prospěšné:
 - kolonizací příslušné sliznice **brání tomu, aby byla osídlena patogeny**
 - podílejí se na **stavu mikroprostředí**, např. pH
 - ve střevě **likvidují nestravitelné zbytky**
 - mohou mít i **další pozitivní efekty** pro hostitele (např. tvorba vitamínů střevními bakteriemi)

Kde mikroflóra je a kde není

- **Mikroflóra není** ve tkáních, v parenchymu orgánů, v krvi, v mozku ani mozkomíšním moku. Zde je každý nalezený mikrob velmi pravděpodobně patogenem
- **Mikroflóra není** ani v některých dutých orgánech, např. v jícnu, v plicích, v močovém měchýři (kromě starých osob) či v děloze
- **Mikroflóra je** zejména v dutině ústní a hltanu, v tlustém (a zčásti i tenkém) střevě, v pochvě a v menším množství také na kůži

Mikroflóra v průběhu života člověka

- **Plod nemá žádnou běžnou flóru**, po narození zvolna začíná osidlování
- Během prvních měsíců a let života se **běžná mikroflóra vyvíjí** (zejména střevní v souvislosti se změnami potravy)
- **U žen** se mění vaginální mikroflóra v důsledku hormonů při **menarche**, dále při **začátku pohlavního života** a pak v **menopauze**
- **U starších osob** dochází k dalším změnám (např. se často ustanoví „běžná flóra“ v močovém měchýři, dříve sterilním)

Mikroflóra jako ekosystém

- Kdysi lidé mysleli, že všechny škůdce úrody jednoduše zahubí například DDT. Ukázalo se ale, že takový **brutální zásah často nadělá víc škody než užitku**, zvláště když se použije nevhodným způsobem
- Podobně **složitý ekosystém je i třeba střevní mikroflóra**. I proto dnes na střevní infekce většinou nedoporučujeme antibiotika, protože systém „rozhodí“ často ještě víc.

Přehled běžné mikroflóry

Kůže, nos, boltec, zevní zvukovod, kožní adnexa	Stafylokoky (i zlaté), korynebakteria, kvasinky
Hltan a ústní dutina	Ústní streptokoky a neisserie Hemofily, malá množství pneumokoků, meningokoků, anaeroby, nepat. treponem.
Tlusté (i tenké) střevo	Anaeroby, enterobakterie, enterokoky, <i>Entamoeba coli</i>
Vagina	Laktobacily, malá množství nejrůznějších mikrobů
Přechody (rty apod.)	Směs zástupců obou míst

Normální osídlení dýchacích cest

- **Nosní dutina** nemá specifickou flóru, přechází tam však mikroflóra z kůže (přední část) a hltanu (zadní část)
- **V hltanu** (stejně jako v ústní dutině) nacházíme ústní streptokoky, neisserie, nevirulentní kmeny hemofilů aj. Mnohé další tam jsou, ale většinou je nevykultivujeme
- **Plíce a dolní dýchací cesty** jsou normálně bez většího množství mikrobů
- **Na ostatních místech** (hrtan) jsou různé přechody (hrtan – jako v hltanu, ale méně)

Normální osídlení trávicích cest

- **Rty** znamenají přechod kožní a ústní flóry
- **V ústní dutině** (stejně jako v hltanu) nacházíme ústní streptokoky, neisserie, nevirulentní kmeny hemofilů aj. Mnohé další tam jsou, ale většinou je nevykultivujeme
- **Jícen a žaludek** jsou za normálních okolností bez většího množství mikrobů
- **V tenkém a zejména tlustém střevě** nacházíme zpravidla asi 1 kg anaerobů, dále enterobakterie, enterokoky, kvasinky, někdy i nepatogenní améby
- **Řiť** je opět místem přechodu střeva a kůže

Normální situace v ústní dutině

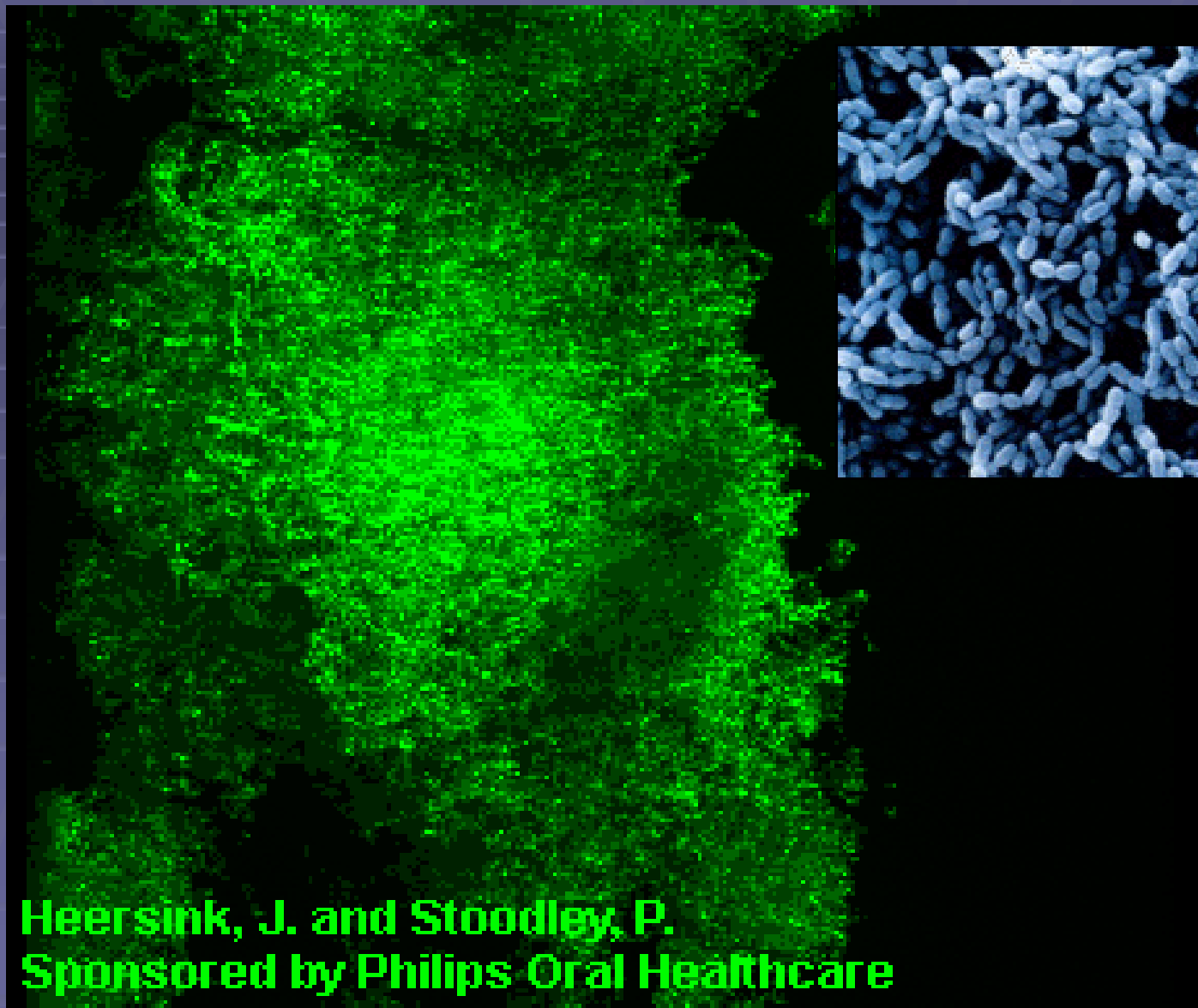
- Ústní dutina je i za normální situace velice **složitý ekosystém**, složený z různých druhů bakterií, usazených materiálů, lidských buněk a dalších složek
- Bakterie se v dutině ústní ve **vícedruhovém strukturovaném biofilmu**, ve kterém např. anaeroby jsou přítomny ve větší hloubce než aerobní bakterie

Bakterie, které se podílejí na zubním biofilmu, se ovšem vesměs mohou podílet také na onemocněních ústní dutiny. Dodnes není přesně známo, za jakých okolností se to děje. Zřejmě jde o porušení rovnováhy.

Zubní plak – biofilm

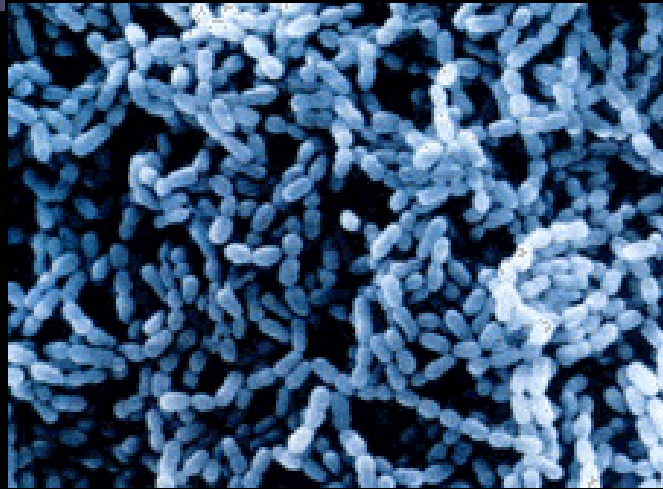
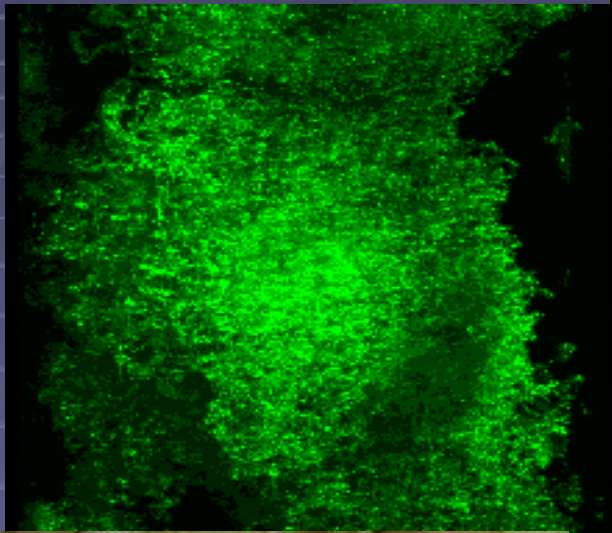


- Přilnavá mikrobiální vrstva na povrchu zubu = **živé i mrtvé bakterie + jejich produkty + složky hostitelské (ze slin)**
- Nedá se opláchnout, **odstranit lze pouze mechanicky**
- Nejčastěji zastoupeným rodem ***Actinomyces sp.***
- Lokalizace:
 - **Supragingivální plak** (významně vyšší množství některých aktinomycet, neisserií, streptokoků)
 - **Subgingivální plak** (významně vyšší množství prevotel, *Tannerella forsythia* a *P. gingivalis*)



**Heersink, J. and Stoodley, P.
Sponsored by Philips Oral Healthcare**

Zubní plak



Intermezzo: píseň běžné flóry

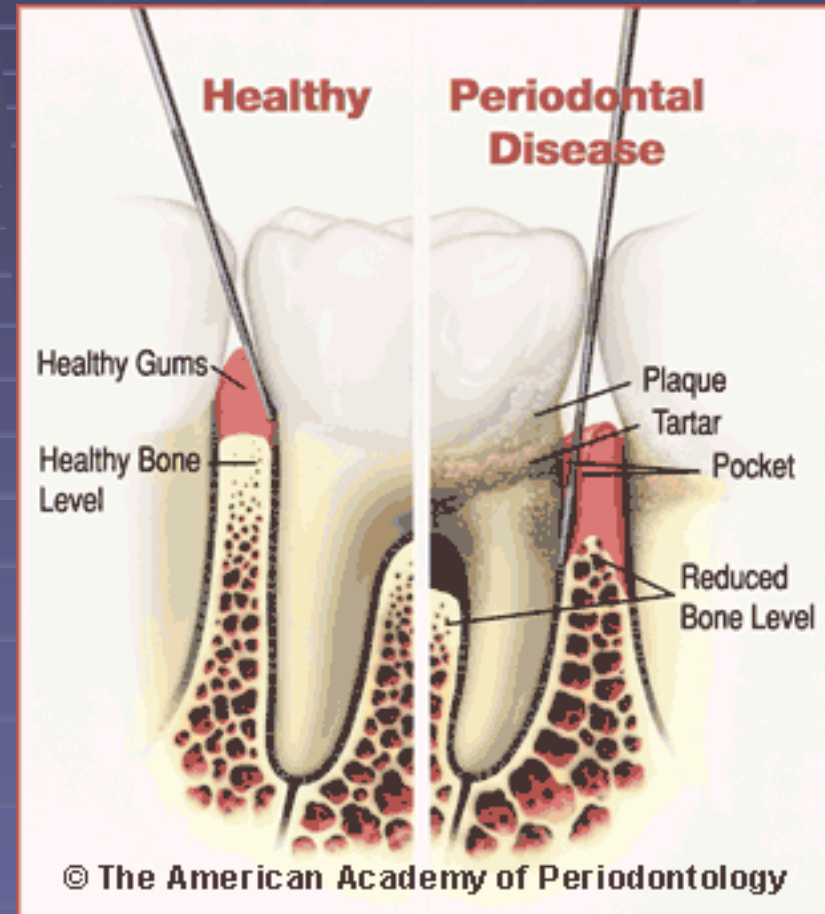
My jsme skvělá flóra běžná
k našemu člověku něžná
osídlíme povrchy
čiháme tu na mrchy

Scházíme se každý pátek
za účelem tvorby látek
z kterých vzniká biofilm
pevnější než dub i jilm!

(Píseň běžné flóry, in: O. Zahradníček – Advent v dutině ústní. Zkráceno)

Dásňový žlábek – sulcus gingivalis

- Je to **žlábek** v místě, kde zub začíná být pokrýván dásní.
- **Kolonizující bakterie** mají klíčovou roli při vzniku a vývoji onemocnění parodontu



Plak na zubních náhradách

- **Odlišné a kolísavé složení** oproti plaku na zubech
- V oblastech dotýkajících se sliznice převládají **streptokoky**, častým nálezem jsou **kvasinky** rodu *Candida*.
- Z anaerobů grampozitivní tyčinky včetně *Actinomyces israelii* a veillonely (to jsou gramnegativní anaerobní koky)
- často stafylokoky, hlavně *Staphylococcus aureus*



Močové cesty zdravého člověka

Ledviny – normálně bez mikrobů

Pánvičky ledvinné – normálně bez mikrobů

Močovody (uretery) – normálně bez mikrobů

Močový měchýř mladých a středně starých osob – normálně bez mikrobů

Močový měchýř seniorů – i za normálních okolností může být osídlen mikroflórou, která nečiní problémy a stává se „běžnou flórou“

Močová trubice – normálně bez mikrobů, část přilehlá k ústí však může být osídlena zvenčí

Normální stav pohlavních orgánů

- Za normálních poměrů nejsou mikroby
 - **U ženy** v děloze, vejcovodech, vaječnicích
 - **U muže** v prostatě, chámovodech, varlatech
- Specifickou normální flóru má **vagina** (laktobacily, příměs různých aerobních i anaerobních mikrobů)
- **Vulva** tvoří přechod vaginální a kožní flóry
- U muže je specifický **předkožkový vak**, vedle kožní flóry jsou tu i např. nepatogenní mykobakteria apod.

Normální osídlení kůže

- Přestože kůže je pro mikroby nejdostupnější, je její **osídlení mnohem chudší** než v případě např. úst, pochvy či tlustého střeva
- Mikrob, který chce žít na kůži, musí snášet **vyschnutí a vysoké koncentrace solí**
- **Na kůži se tedy normálně vyskytují**
 - koaguláza negativní druhy stafylokoků
 - **zlatý stafylokok** – malé množství je normální
 - **korynebakteria** a příbuzné G+ tyčinky
 - malá množství **kvasinek**

Péče o střevní mikroflóru

- V **rekonvalescenci průjmů**, ale i např. **po celkové antimikrobiální terapii** (kde mohlo dojít k vybití části mikroflóry) je vhodné snažit se o **obnovu normálního stavu**
- Používají se **jogurty** (nesladké, netučné), **kyselé zelí**, různé preparáty (Hylac)
 - Některé obsahují substráty pro „dobré“ bakterie, to jsou **prebiotika**.
 - Některé obsahují přímo ty dobré bakterie, to jsou **probiotika**
 - Některé obsahují oboje, to jsou **symbiotika**

Péče o vaginální mikroflóru

- Také **vaginální ekosystém může být narušen** antimikrobiální léčbou či nějakým onemocněním
- Také zde doporučují „lidové receptury“ např. aplikaci jogurtu do pochvy
- Jinak lze doporučit **prebiotické či probiotické vaginální čípky**
- Důležitá je také **výživa a úprava hormonálních hladin** (antikoncepce)

Tohle ještě není konec



Červený jazyk jedné studentky v praktiku věnovaném průkazu ústního biofilmu

Lékařská mikrobiologie pro ZDRL

Týden 29:

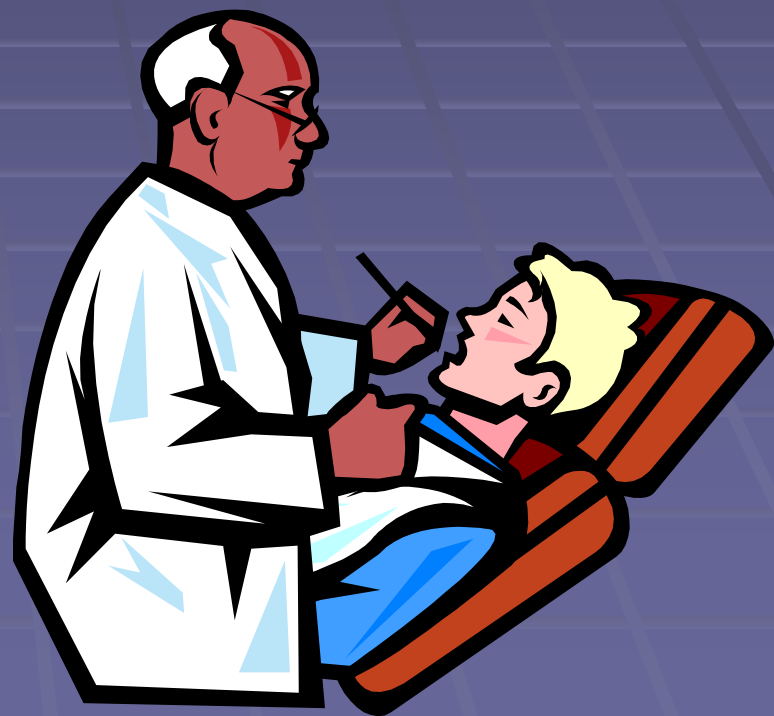
Mikrobiologie a klinické oddělení jako partneři

Ondřej Zahradníček

zahradnicek@fnusa.cz

Co nás dnes čeká

- Povídání o **vztahu mezi laboratoří a odesílajícím pracovištěm**



Lékař (klinik) a
mikrobiolog:
partneři

Lékař klinického pracoviště – partner a klient mikrobiologa

- Mikrobiolog (a celé mikrobiologické pracoviště) by se měl chovat k zasilatelům vzorků jako ke svým **klientům**, tj. k někomu, kdo si **objednal** dané vyšetření a má právo na kvalitní, úplný a správný výsledek tohoto vyšetření
- To však neznamená, že by byl mikrobiolog vůči klinikovi v podřízeném postavení. Je jeho **právem a přímo povinností odmítnout** takové požadavky, **které by odporovaly zásadám správné vyšetřovací praxe**

Proces mikrobiologického vyšetřování – pro zopakování

PACIENT/LÉKAŘ

LABORATOŘ

Indikace vyšetření – zda, jaké

Vlastní provedení odběru

Transport materiálu

Rozhodnutí, jak zpracovat

Vlastní zpracování materiálu

Zaslání výsledku

Interpretace v kontextu ostat. výsledků a stavu pacienta (léčit vždy pacienta, ne nález)

Indikace – role mikrobiologa

- V případě běžných vzorků zpravidla není nutná konzultace v laboratoři
- V případě vzácnějších, **komplikovaných vyšetření** se však běžně lékař **dotazuje**, jaké vzorky lze odebrat, jak je odebrat, a také kdy je odeslat tak, aby byly včas zpracovány (s ohledem např. na provozní dobu laboratoře)
- Někdy dojde ke konzultaci až **dodatečně**: klinik něco odebere nesprávně, mikrobiolog mu volá, a teď se dohodou na novém (správném) odběru

Příklad takové spolupráce

- Byl zaslán **výtěr ze spojivkového vaku** „na bakteriologické vyšetření **a akantaméby**“
 - Voláno na oční kliniku, že **akantaméby nelze vyšetřit z výtěru**
 - Dohodnuto, že **bud'to se najdou pacientovy stávající kontaktní čočky** (a pošlou se ty), **anebo mikrobiolog navštíví kliniku** s příslušnou kultivační půdou a **bude proveden seškrab z rohovky** přímo do kultivační půdy
- Nakonec se našly a byly zaslány kontaktní čočky, což bylo příznivé z hlediska pacienta*

Interpretace – role laboratoře

- U běžných vzorků mikrobiolog expeduje **výsledek bez komentáře či s krátkým komentářem**: „jedná se pravděpodobně o kontaminaci“ či „*H. parainfluenzae* má jen minimální patogenitu, citlivost netestována“.
- Lékař (klinik) si pak **z výsledku něco vybere**
- **Není však problém (a ani chyba), pokud lékař zatelefonuje a požaduje upřesněnou interpretaci nálezu.** Může to mít smysl zejména u komplikovaných nálezů, serologických vyšetření a podobných případů.

Dlouhodobá spolupráce

- Užitečné je, pokud je lékař s laboratoří (mikrobiologem) v kontaktu a občas se **setkají a proberou možnosti zlepšení spolupráce**
- **Mikrobiolog** může nabídnout diagnostické novinky, technická zlepšení, zpřehlednění nálezu apod.
- **Klinik** může uvést své požadavky, případně naopak nabídnout mikrobiologovi přesnější formulaci svých požadavků pro zlepšení celého procesu

Formy komunikace

- Komunikace může být **telefonická** (nejčastěji), nebo může mít podobu **osobní návštěvy** mikrobiologa na klinice (vzácněji naopak)
- Na některých (zejména infektologických) klinikách je zavedena přímo **účast klinického mikrobiologa při velké vizitě**
- V každém případě by **komunikace měla být vedena pokud možno klidným způsobem**, argumentace „ad rem“ (k věci) a nikoli „ad hominem“ (k osobě), snažit se poradit, nikoli vyplísnit – už pro možnost další spolupráce

Zvláštní případy komunikace

- V rámci vyšetřovacího procesu jsou některé případy, kdy komunikace probíhá vždy, a probíhá standardizovaným způsobem. Jde zejména o tyto případy:
 - **hlášení pozitivních hemokultur** – mikrobiolog někdy hlásí i sestře, která předá lékaři, lepší je však přímé předání lékaři
 - **antibiotické konzultace** (v tom případě telefonuje lékař-klinik a žádá poradu, jak a čím léčit)
 - **hlášení významných kmenů a faktorů virulence** (např. MRSA, pozitivní toxin *Clostridium difficile* apod.)

Setra a
laborant:
partneři

Laborant (laborantka) a zdravotní sestra (bratr)

- Tak jako je mikrobiolog partnerem lékaře-klinika, je také **laborant partnerem zdravotní sestry**, i když samozřejmě v řadě případů probíhá i komunikace mezi klinikem a laborantem, či mezi mikrobiologem a sestrou
- Komunikace probíhá zejména v oblasti **technického zajištění mikrobiologického vyšetření** – jaká odběrová souprava, kdo ji dodá, kdo převezme, opravy chyb ve jméně, rodném čísle, poslání výsledku na jiné odd. atd.

Zásady komunikace laboranta a personálu klinického pracoviště

- I zde je nutné, aby se komunikace obešla **bez zbytečných emocí**, vyřizování osobních záležitostí apod.
- Laborant ale nesmí „ve snaze vyhovět“ překročit své pravomoci. Je-li po něm žádán komentář či vyjádření, přesahující jeho kompetence, **měl by trvat na tom, že takový komentář nemůže (nesmí) poskytnout.**
- Na druhou stranu by laborant měl hlídat, aby **komunikaci nezajišťovali např. sanitáři**

Hlášení výsledků

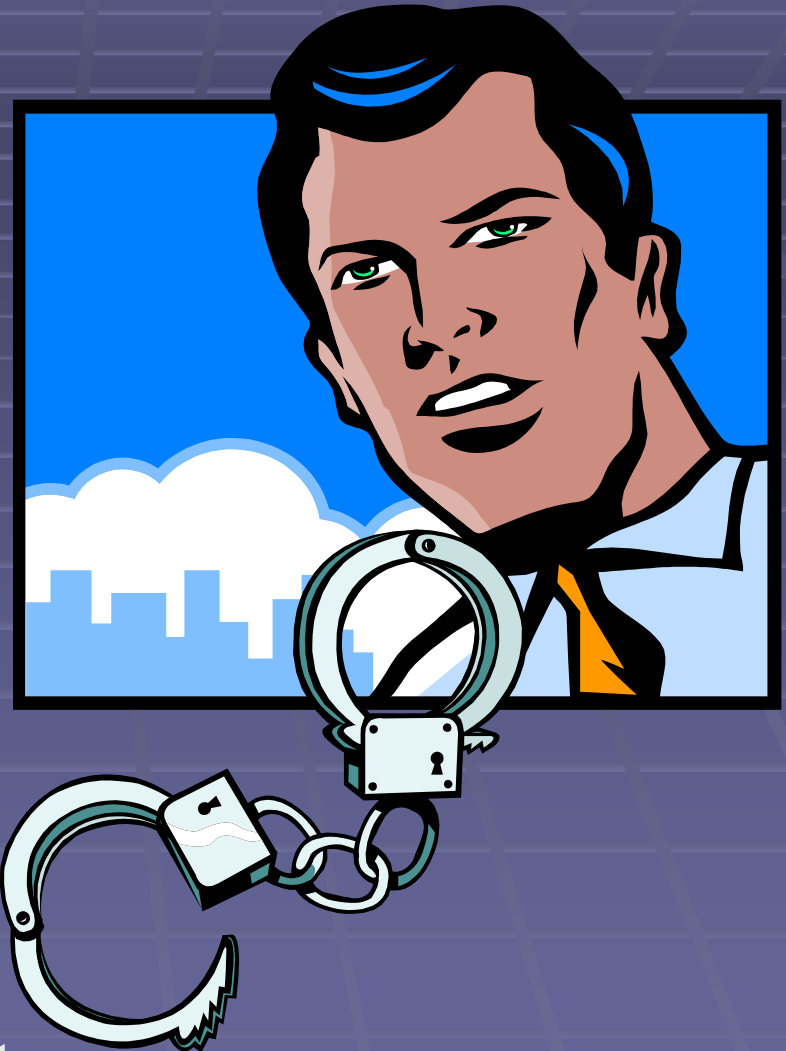
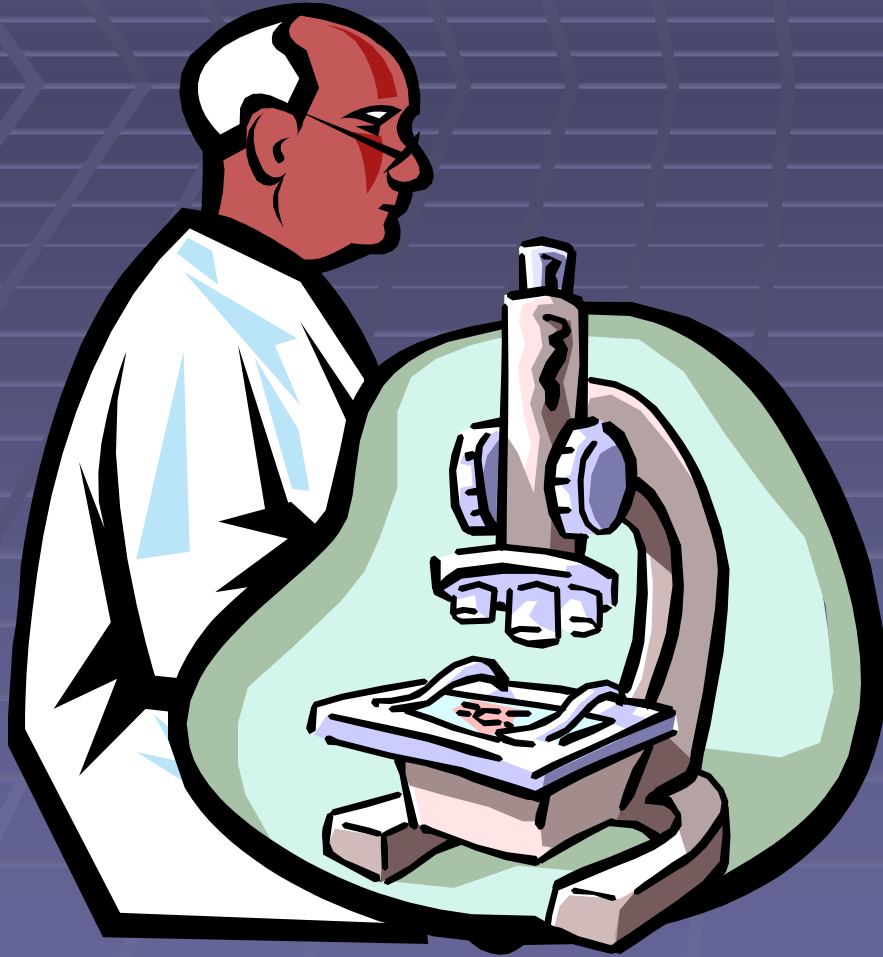
- Dle platných předpisů **by laborant neměl hlásit výsledky**, a měl by požadujícího lékaře odkázat na mikrobiologa (i ten by měl raději zavolat zpět, neboť si nemůže být jist, volá opravdu daná osoba)
- V praxi **často není dodržováno**
- Řešením (aspoň částečným) je **používání automatického převodu LIS → NIS**, takže klinici mají včas výsledky a nemusí si o ně tedy telefonovat. Problém ovšem je, pokud se výsledky dostanou do NIS dříve, než jsou validovány a podepsány mikrobiologem.
- Až na výjimky **by výsledky neměly být sdělovány přímo pacientům.**

Další partneři
mikrobiologické
laboratoře

S kým se ještě komunikuje

- Mikrobiologové, ale dle situace i laboranti, bývají v kontaktu s **nemocničními epidemiology**, se kterými řeší zejména výskyt kmenů MRSA, producentů ESBL a podobně
- Mimo to jsou v kontaktu také s **pracovníky regionální hygienické stanice** – povinné hlášení např. salmonelóz, kampylobakterióz a dalších hlášení podléhajících infekcí
- Výjimečně připadá v úvahu též **komunikace s policií** (jež má zákonné právo na informace)
- Zato **komunikace s médii** se musí dít se souhlasem vedení nemocnice (tiskového odd.)

Příklad komunikace s policií



Tak kolik toho anthraxu jste
tomu Bašárovi prodali?



Tohle už je pro
dnešek
opravdu konec

