

Úvod do klinické mikrobiologie – studijní materiál k předmětu (4)

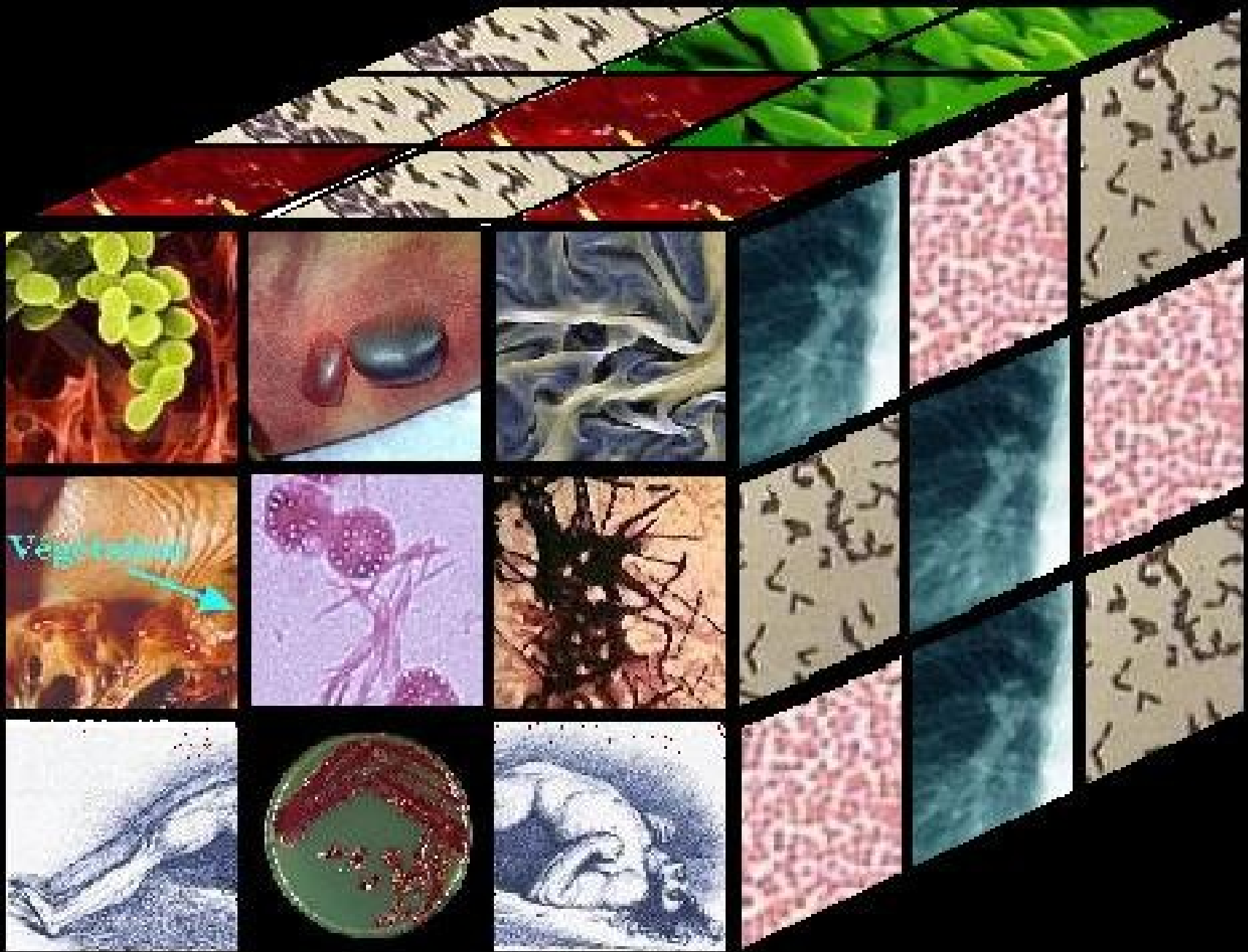
MUDr. Ondřej Zahradníček

**Mikrobiologický ústav lékařské fakulty
Masarykovy univerzity v Brně
a Fakultní nemocnice u svaté Anny
v Brně**



Přehled témat

- 1. Mikroby obecně a mikroby lidského těla, vlastnosti mikrobů
- 2. Přehled některých významných bakterií lidského těla
- 3. Přehled některých významných virů lidského těla
- **4. Práce mikrobiologické laboratoře**
- 5. Stručný přehled metod diagnostiky mikrobů



The background features several large, stylized, overlapping swirls in shades of green, purple, and light blue. Interspersed among these swirls are numerous small, yellow, starburst-like shapes, some pointing towards the center and others pointing outwards, creating a dynamic and celebratory feel.

4. Práce mikrobiologické laboratoře

Choroby způsobené mikroby a jejich dnešní význam

- **Choroby způsobené mikroby** jsou i dnes poměrně časté, i když už nejsou nejčastější příčinou úmrtí, jako třeba byly ve středověku
- Zpravidla se hovoří o **infekcích** (nemoc postihla celé tělo, orgánovou soustavu nebo orgán), případně **zánětech a zánětlivých komplikacích** (hlavně v chirurgii – zánětlivé komplikace chirurgických výkonů, tj. operací)

Co je potřeba rozlišovat

- **Nemoc** obecně samozřejmě nemusí být jenom infekční
- **Nákaza (infekce)** obecně nemusí zahrnovat nemoc (může být bezpříznaková, například deset lidí se nakazí salmonelou, ale jen tři z nich onemocní – mají průjem)
- **Infekční nemoc (nakažlivá nemoc)** je tedy průnik obou skupin: člověk se nakazil a je nemocný

Co potřebuje člověk, který onemocněl infekční nemocí?

- Samozřejmě, potřebuje se uzdravit. Je možná trochu překvapivé, že většina infekcí je tzv. **samoúzdavných**, to znamená, že i bez léčby se nemocný člověk uzdraví (za pomoci mechanismů svého těla, hlavně imunitního systému). Přesto se snažíme uzdravení urychlit pomocí léčby. Ta se skládá z **léčby příčiny** (snaha zlikvidovat mikrobiálního původce nemocí, například antibiotikem) a **léčby následků** (například je-li zánět doprovázen bolestí, tlumíme bolest)
- Léčba příčiny může být cílená (víme, který mikrob nemoc způsobil) nebo léčba „naslepo“

K čemu se může hodit mikrobiologická laboratoř

- Většina běžných infekčních nemocí se **nevyšetřuje** v mikrobiologické laboratoři, například protože například:
 - Jsou to **běžné samouzdravné infekce**, odezní samy (rýma, běžné chřipky, virové průjmy apod.)
 - **Projevy jsou natolik typické**, že vyšetřovat není nutno (nemoci s vyrážkou, některé nemoci s typickými příznaky)
 - V daném případě se osvědčilo zkusit **léčit „naslepo“**, a až v případě neúspěchu vyšetřovat (*tohle je ale někdy docela zrádné*)

Přesto je i dost případů, kdy je vyšetřování užitečné nebo dokonce nezbytné, a proto je dobré si laboratoř trochu představit

Laboratoře klinické mikrobiologie

- **Laboratoře klinické mikrobiologie** bývají ve velkých nemocnicích, při hygienických stanicích nebo samostatně jako soukromé podnikatelské subjekty
- Obracejí se na ně **lékaři a zdravotnická zařízení**, do budoucna možná i **samostatně pracující sestry a porodní asistentky**
- Ideální je, když existuje **dobrá spolupráce** klinického pracoviště a laboratoře

K čemu slouží laboratoř klinické mikrobiologie

Představme si pacienta, který má chorobu, pravděpodobně způsobenou nějakým mikrobenem. Tady laboratoř může:

1. Určit **původce nemoci** (mikroba, který nemoc vyvolal). *(Nikdy ovšem není stoprocentně jisté, že mikrob nalezený v klinickém vzorku – viz dále – je opravdu ten, který nemoc způsobil; dá se to ale s jistou pravděpodobností odhadnout.)*
2. Někdy také: určit **vybavenost mikroba** tzv. **faktorem virulence** *(třeba nález mikroba Clostridium difficile ve stolici sám o sobě není špatná zpráva, ale jde-li o kmen produkující toxiny, je to zlé)*
3. Někdy také: určit **citlivost příslušného mikroba na antimikrobiální látky** (antibiotika, u kvasinek antimykotika a podobně)

Jak to tedy probíhá v praxi

- Takže: **lékař, ošetřující pacienta** (případně sestra či někdo jiný, lékař může být obvodní praktik, ambulantní specialista či lékař z kteréhokoli oddělení nemocnice) **pošle do laboratoře klinický vzorek, odebraný pacientovi** (například moč, stolicí nebo výtěr z krku)
- **Úkolem klinickomikrobiologické laboratoře je prokázat** v takovém vzorku případnou **přítomnost mikrobů** a pokud tam jsou, tak je také **určit**. Pokusí se také odhadnout, jestli ten mikrob/mikroby mohou být původcem nemoci.
- Určení nemusí být přesné, ale musí poskytnout **dostatek informací pro léčbu**

*V případě, že přímo ve vzorku hledáme původce, jde o takzvaný **přímý průkaz**. Existuje ještě **průkaz nepřímý**, o tom bude řeč za chvíli*

Ne každý mikrob, který laboratoř najde, je původce

Kmen nalezený v klinickém vzorku při přímém průkazu ve skutečnosti může být

- Skutečný **původce nemoci**
- Součást **běžné mikroflóry**, která na to místo „patří“ (třeba *Escherichia coli* ve střevě nebo ústní streptokoky v ústech)
- **Náhodný nález** (ve výtěru z krku bakterie, která se tam dostala s jídlem)
- **Kontaminace vzorku** (vzorek se „znečistil“ při odběru, transportu nebo zpracování)

Kdy přímý průkaz nestačí

V některých situacích je potřeba zjistit, který mikrob nemoc způsobil, jenomže z nějakých důvodů **nelze vyšetřit vhodný vzorek a mikroba v něm najít**. Říkáme, že nelze (nebo je obtížné) provést přímý průkaz. Příčiny můžou být především dvě (uplatní se první, druhá, nebo i obě zároveň):

- **Běžné metody přímého průkazu** (bude o nich řeč v poslední části) u tohoto mikroba **selhávají**
- **Nevíme, kde přesně v těle se mikrob nalézá**, případně tušíme, že se nalézá někde, odkud nelze (nebo: je obtížné) získat vzorek

V takovýchto případech volíme místo přímého průkazu **průkaz nepřímý**

Nepřímý průkaz

Nepřímý průkaz znamená zhruba toto:

- **Nehledáme mikroba, ale odezvu těla na jeho přítomnost** (přesněji řečeno odezvu imunitního systému)
- Ve většině případů je pro nás vhodným důkazem, že se tělo s mikroblem setkalo, přítomnost **protilátek**
- Vzorek v tomto případě neodebíráme z místa, kde se mikrob (asi) nachází, místo toho odebíráme vzorek, který by mohl obsahovat protilátky. Takovým vzorkem je zpravidla **sérum**

Malá odbočka: co je to sérum

- Jak jistě znáte ze základní a střední školy, krev obsahuje **tekutou složku**, ve které jsou rozpuštěny různé chemické látky, a dále **krvinky** (červené krvinky, bílé krvinky a krevní destičky)
- Pokud nás nezajímají krvinky, máme dvě možnosti, jak získat tu tekutou část:
 - Do krve přidat protisrážlivou složku, a pak krev rozdělit (například filtrem) na krvinky a takzvanou **plasmu**
 - Do krve nic nepřidávat a nechat ji sražit. Sraženina obsahuje krvinky. Zbytek po sražení se nazývá **sérum**. Obsahuje všechno to, co obsahuje plasma, jen složky tzv. koagulační kaskády (molekuly zodpovědné za srážení krve) chybějí
- Při nepřímém průkazu mikrobů je většinou úplně jedno, jestli pracujeme s plasmou nebo se sérem. Protože ale získat sérum je mnohem jednodušší než získat plasmu, **většinou získáváme sérum a pracujeme s ním**. I proto se často metodám nepřímého průkazu říká metody serologické

Rozdíl mezi přímým a nepřímým průkazem na příkladu

František má průjmové onemocnění.

Chceme vědět, co je příčinou

- Odebereme **vzorek stolice**, a v ní najdeme **bakterii** *Yersinia enterocolitica* (**přímý průkaz**)
- Odebereme **vzorek krve**, tu necháme srazit, získáme z ní tak **sérum**, a v něm hledáme Františkovým tělem vytvořené **protilátky** proti bakterii *Yersinia enterocolitica*. Pozor, *Yersinia* samotná v séru není, ta je jenom ve střevě!

Co přesně vlastně „vybudí“ naše tělo k tvorbě protilátek?

Řekli jsme sice, že František má protilátky proti yersiniím, ale není to úplně přesné. Ve skutečnosti má František protilátky proti yersiniovým **antigenům**. Co to je?

- Antigen je **struktura na povrchu mikroba** (ale i třeba pylového zrnka či zvířecího chlupu), které tělo provokuje k tvorbě protilátek
- Proti konkrétnímu antigenu si tělo vytvoří **konkrétní protilátku**, podobně jako konkrétní klíč se hodí do konkrétního zámku

A co to vlastně je ta protilátka?

Protilátka je **bílkovina, imunoglobulin, produkt imunitního systému člověka (nebo zvířete)**.

Přesněji řečeno je součástí takzvané specifické humorální imunity (humorální proto, že ji zprostředkovává protilátka a ne buňky, a specifické proto, že je namířena proti konkrétnímu mikrobovi).

Čerstvě narozené **dítě nemá žádné vlastní protilátky** (jen nějaké od maminky, které ale časem vymizí). Jak se během života setkává s mikroby (a jinými podněty), začíná si protilátky tvořit. Dalo by se říci, že jeho tělo se „učí poznávat nepřátele“

Pojmy vzorek a kmen

Vzorek je to, co je odebráno pacientovi a přichází na vyšetření do laboratoře:

- **kusový či tekutý materiál ve zkumavce** či jiné nádobce (krev, hnis, moč...) – sem patří i krev, ze které se získá sérum na nepřímý průkaz
- **stěr či výtěr na vatovém tamponu**, obvykle zanořeném do transportního média
- Občas i **něco jiného** (sklíčko, otisk ložiska)

Kmen je čistá kultura („výpěstek“) jednoho druhu mikroba. **Kmen lze získat ze vzorku**, samozřejmě jen v případě vzorků zaslaných na přímý průkaz a skutečně obsahujících mikroby. Kmen získáme ze vzorku jedině **kultivací** (pěstováním) mikroba na **pevné půdě**.

Proto je pro mikrobiologickou laboratoř důležité umět bakterie pěstovat, dokonce více, než umět je mikroskopovat. Objev německého mikrobiologa Roberta Kocha, že bakterie lze pěstovat, měl zásadní význam v dějinách mikrobiologie.

Práce laboratoře v praxi

- Do laboratoře **přijde vzorek**
- **K nepřímému průkazu** jsou přijímány **vzorky séra** (kde hledáme protilátky)
- **K přímému průkazu** jsou přijímány **vzorky z těch míst na těle, kde předpokládáme infekci**: nejčastější jsou výtěry z krku a nosu, vzorky moče a stolice, ale někdy přijde i třeba kousek srdeční chlopně odebraný při operaci, obsah cysty někde ve tkáni, kousek nehtu (na průkaz plísňových organismů) a podobně

Mikrobiologické vyšetření je proces, který má svoje části:

LÉKAŘ (KLINIK)

LABORATOŘ

Rozhodnutí o vyšetření

Vlastní provedení odběru

Zaslání materiálu

Rozhodnutí, jak zpracovat

Vlastní zpracování materiálu

Zaslání výsledku

Vyhodnocení nálezu (co pro pacienta výsledek vlastně znamená a „jak teď dál“)

Důležitá role sester a porodních asistentek při vyšetření

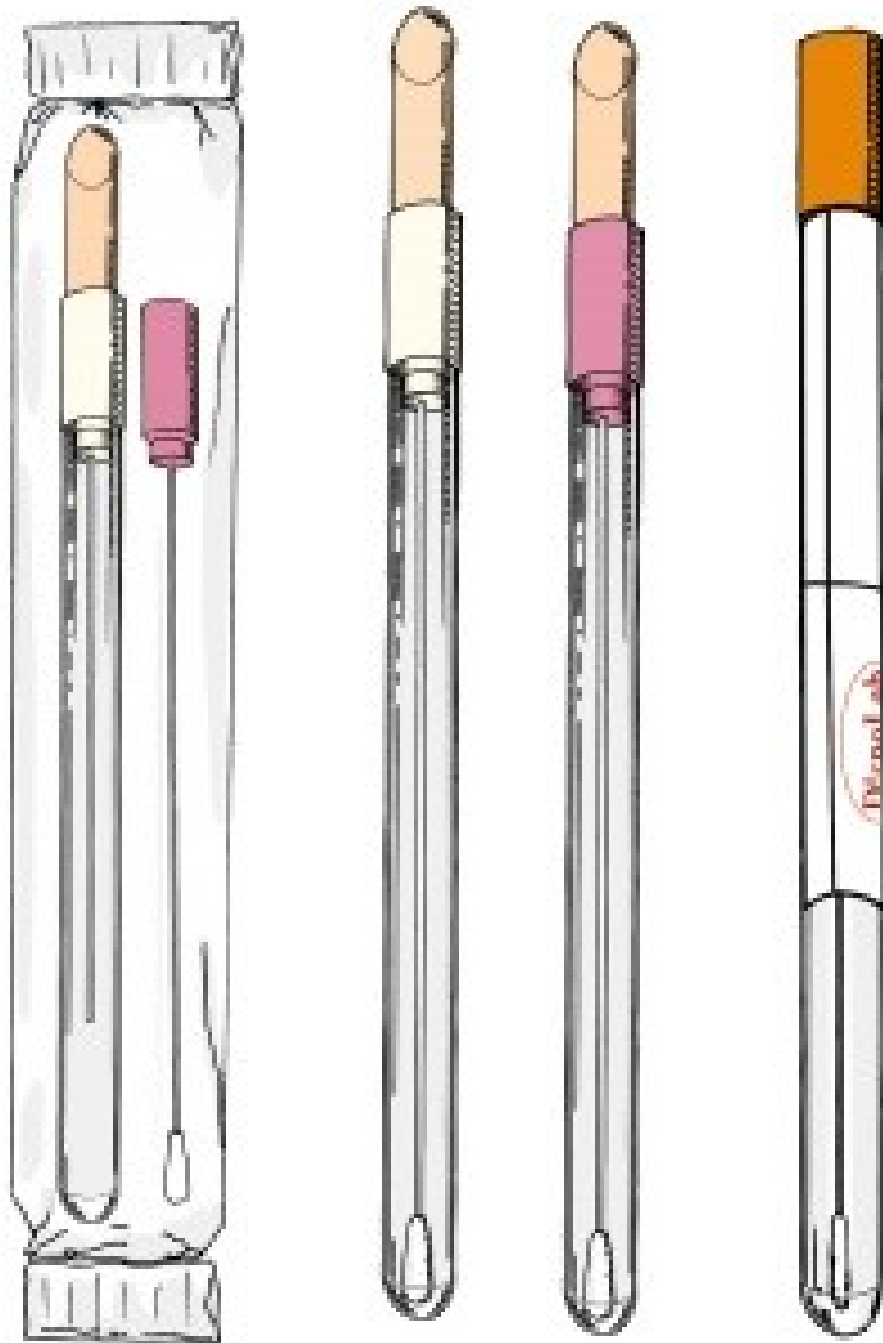
- Jeden častý omyl je, že mikrobiologické vyšetření si „nějak“ dělá laboratoř, a těch, kteří se starají o pacientku či pacienta, se to vlastně netýká. Ale to je omyl: ten, kdo **rozhoduje o provedení odběru**, odběr **provádí**, rozhoduje o tom, jak bude vzorek do laboratoře poslán a **co se napíše na žádanku**, často rozhodne o tom, jestli vyšetření bude mít smysl a pacientovi k něčemu bude. Důležité je také posouzení výsledku (to ale provádí většinou lékař).

Odběrové soupravy

- Velice důležité pro praxi zdravotníka je také orientovat se v tom, „do čeho se má vzorek odebrat“, tedy znát jednotlivé odběrové soupravy. Podrobněji se vše dozvíte v „Mikrobiologii a imunologii“. Nyní jen obecně a krátce:
 - Používají se různé **nádobky**, které zpravidla musí být sterilní (bylo by asi špatné, kdyby mikrob z nesterilní zkumavky byl omylem považován za původce infekční nemoci)
 - Používají se také různé „**výtěrovky**“ (**odběrové soupravy**), v podstatě tyčinky s vatičkou na konci. Pro transport do laboratoře se často zanořují do takzvané transportní půdy, aby mikroby transport lépe přežily
 - Někdy se do laboratoře pošle například podložní sklíčko s nátěrem nebo něco jiného

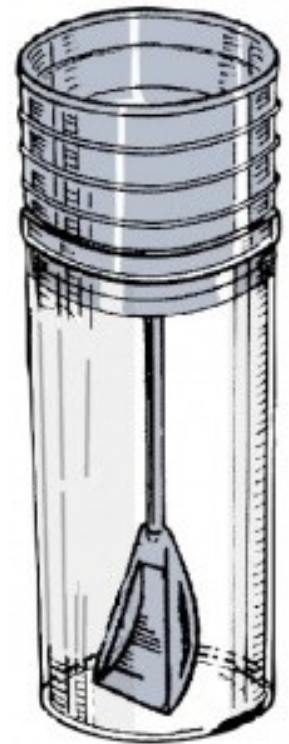
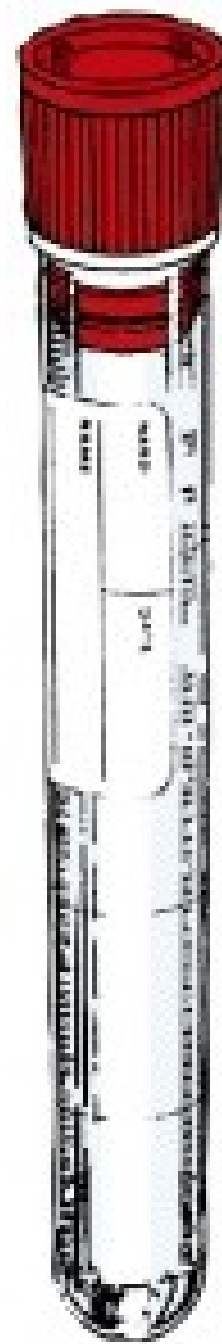
Některé odběrové soupravy

- zleva:
 - Odběrová souprava na určité gynekologické původce
 - Odběrová souprava na houby
 - souprava na chlamydie
 - suchý tampon s drátem bez transportní půdy (používá se zřídka)



Příklady nádobek

- Vlevo klasická zkumavka, např. na moč, hnis nebo i sérum, vpravo nádobka používaná nejčastěji při vyšetření stolice na střevní parazity



Takhle to vypadá, když přijdou
vzorky (a blíží se Vánoce 😊)



Průběh mikrobiologické analýzy vzorku na přímý průkaz v praxi

- **Je „den 0“**. Pacientovi byl odebrán vzorek a doručen do laboratoře. Naočkovali jsme ho na kultivační půdy, ale protože nějakou dobu trvá, než se na nich mikroby pomnoží, nebudeme z toho dnes mít ještě žádný výsledek. Můžeme ale případně provést mikroskopii (ale nedělá se ani zdaleka u všech vzorků), případně některé další metody, jejichž výsledek můžeme mít hned

Průběh mikrobiologické analýzy vzorku v praxi – pokračování

- **Je „den +1“.** Obvykle již je k dispozici výsledek základní kultivace (ale pozor, některé mikroby rostou déle než jeden den). Výsledek vyhodnotíme. Pokud zaznamenejeme podezřelý kmen, provedeme různými metodami (blíže o nich v páté části) jeho bližší určení a vyhodnotíme jeho citlivost na antibiotika
- **Je „den +2“ (případně +3, +4 atd.)**
Všechny testy už byly provedeny, laboratoř tedy sepíše závěr a pošle výsledek lékaři, který vyšetření požadoval.

Laboratoř klinické bakteriologie

Laborant 2 „dělá opáčka“: u pozitivních vzorků připravuje testy citlivosti a testy bližšího určení mikroba

Mikrobiolog (VŠ) „odečítá laboratoř“ – prohlíží výsledky kultivací

Laborant 1 zapisuje výsledky



Další úlohy mikrobiologické laboratoře

- Mikrobiologické laboratoře tedy slouží především k vyhodnocování vzorků pacientů, aby se zjistilo, který mikrob nemoc způsobil. Někdy se také vyhodnocují vzorky například z nemocničního prostředí apod.
- Velké laboratoře ve fakultních nemocnicích kromě tohoto **provozu** navíc zajišťují **výuku** studentů (středních škol, bakalářských oborů, budoucích lékařů a zubařů, ale i přírodovědců) a **výzkum**

Náš
ústav



Výuka

Provoz
(analýza
klinických
vzorků)

Výzkum

Medici v naší praktikárně



Procvičovací otázky

1. Jaký je rozdíl mezi infekcí a infekční nemocí?
2. Musí se všechny infekční nemoci léčit?
3. Musí se všechny infekční nemoci vyšetřovat v mikrobiologické laboratoři?
4. Jaký je souhrnný výraz pro to, co se odebralo pacientovi (moč, hnis, výtěr z krku, stolice...)?
5. Jak říkáme čisté kultuře bakterie nebo kvasinky, kterou jsme získali kultivací na pevné půdě?
6. Co je to bakteriální antigen?
7. Jak říkáme bílkovině (imunoglobulinu), který si tělo vytvoří při stimulaci antigenem?
8. Co je to transportní půda?

Odpoředi na procvičovaci otázky

1. Infekce (nákaza) znamená, že člověk se nakazil, ale nemusí být viditelně nemocný
2. Ne, mnohé jsou samoúzdravné (odezní samy)
3. Nemusí, některé jsou třeba jasně viditelné přímo na pacientovi
4. (Klinický) vzorek
5. Kmen
6. Povrchová struktura, stimulující tvorbu protilátek
7. Protilátka
8. Je to to, do čeho se zanořují „výtěrovky“, aby na nich lépe přežily mikroby

Konec tématu

- V případě problémů pište:
- e-mail:
zahradnicek@fnusa.cz
- nebo e-mail na IS I

