

# KLINICKÁ MIKROBIOLOGIE- SHRNUTÍ

---

# Klinická mikrobiologie

---

- Zajišťuje diagnostiku infekčních onemocnění vyvolaných baktériemi, viry, parazity a mykotickými agens
- Stanovuje citlivost/rezistenci mikrobiálních agens k antimikrobiálním látkám
- Ve spolupráci s klinickými lékaři poskytuje konzultace k mikrobiologického nálezu a konzultace k antimikrobiální terapii

# Preanalytická fáze

---

- Správný výsledek mikrobiologického vyšetření začíná
  - správným odběrem biologického materiálu
  - správným transportem do mikrobiologické laboratoře

# Obecné zásady

---

- Správná volba vzorku
- Správný odběr
  - ze správného místa
  - ve správnou dobu
  - správným způsobem
  - do správných souprav
- Správné označení odběrové nádoby a žádanky
- Správné zasílání do laboratoře

# Speciální požadavky

---

- Likvor
- Sputum
- BAL
- Výtěr z krku, nosu, nosohltanu, laryngeální výtěr
- Hnis, punktát
- Výtěry z ran a hnisavých lézí
- Výtěry z pochvy
- Stolice

# Speciální požadavky

---

- Krev na hemokulturu
  - Doba odběru
  - Čas odběru
  - Místo odběru
  - Množství odebrané krve
  - Počet lahvíček

# Speciální požadavky

---

- Vzorky na mykologické vyšetření
  - slizniční a orgánové mykózy
  - povrchové mykózy (kožní šupiny, seškraby z nehtů, vlasy, chlupy)
- Vzorky na parazitologické vyšetření
  - průkaz střevních, krevních parazitů
  - poševní, uretrální sekret

# Virologické vyšetření

---

- Nepřímý průkaz – průkaz protilátek
  - respirační infekce (chřipky, RS, Mycopl. pn.)
  - neuroinfekce (KE, HSV, varicella-zoster)
  - exantematické infekce (zarděnky spalničky, mononukleóza, HSV, varicella-zoster)
  - ostatní (hepatitidy A,B,C, CMV, EBV, parotitida, HIV)
- Přímý průkaz
  - antigenů
  - izolace viru
  - PCR



# Speciální požadavky

---

- Transport materiálu
  - ideálně do 2 hodin po odběru
  - při pokojové teplotě
  - na tajícím ledu
-

# Vyšetření biologického materiálu v laboratoři

---

- Kontrola a zavedení do systému
- Stanovení pravděpodobného původce infekce



# Vyšetření biologického materiálu

---

- Mikroskopie
- Kultivace
- Průkaz antigenů, toxinů
- Průkaz metabolitů *Helicobacter pylorii* (ureáza)
- Průkaz nukleových kyselin (PCR)
- Průkaz protilátek (nepřímý průkaz)

# Mikroskopie

---

- ❖ Nativní preparát
  - Trichomonas vaginalis
- ❖ Barvený preparát
  - Barvení dle Grama
  - Barvení dle Giemsy
  - Barvení dle Ziehl- Nielsena
  - Barvení spor
  - Barvení pouzder
  - Fluorescenční barvení

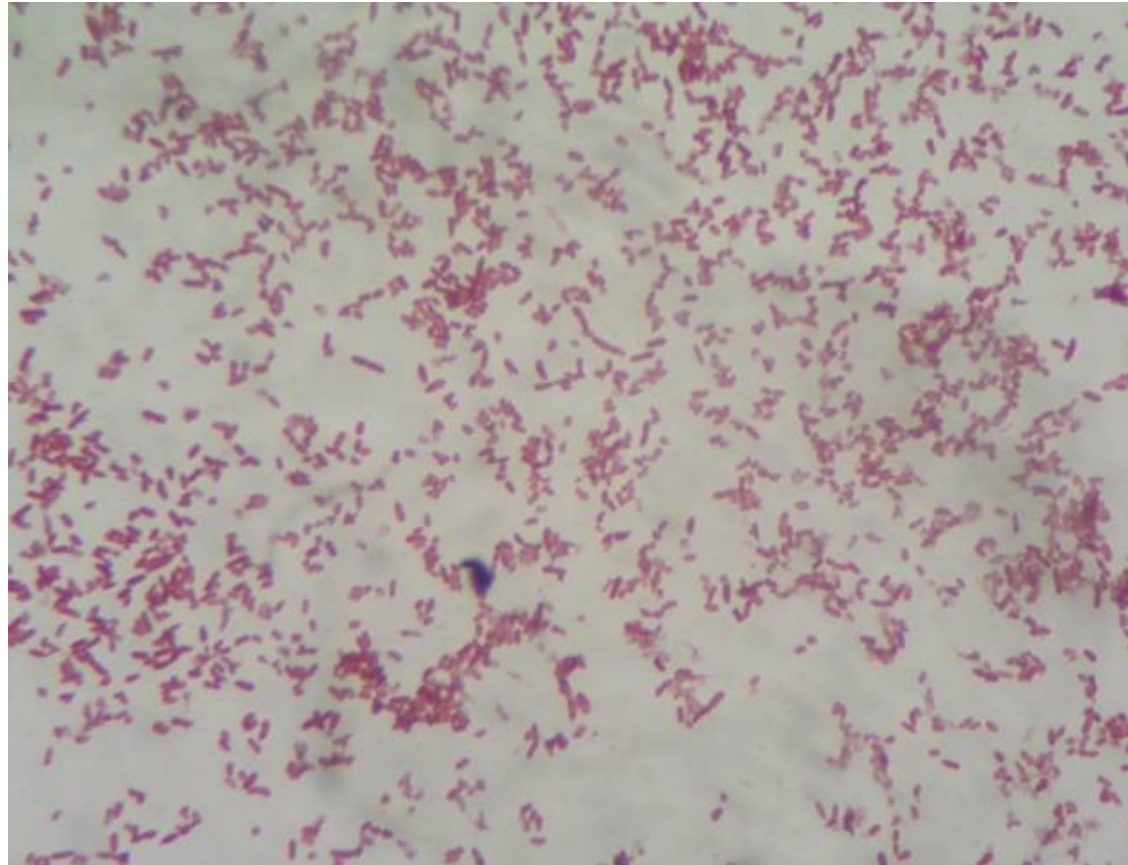
# Barvení podle Grama

---

- Hans Christian Joachim Gram, 1884
- Dělí bakterie do dvou základních skupin
  - Grampozitivní G +, modrofialové
  - Gramnegativní G -, růžovočervené

# Barvení podle Grama-Gramnegativní

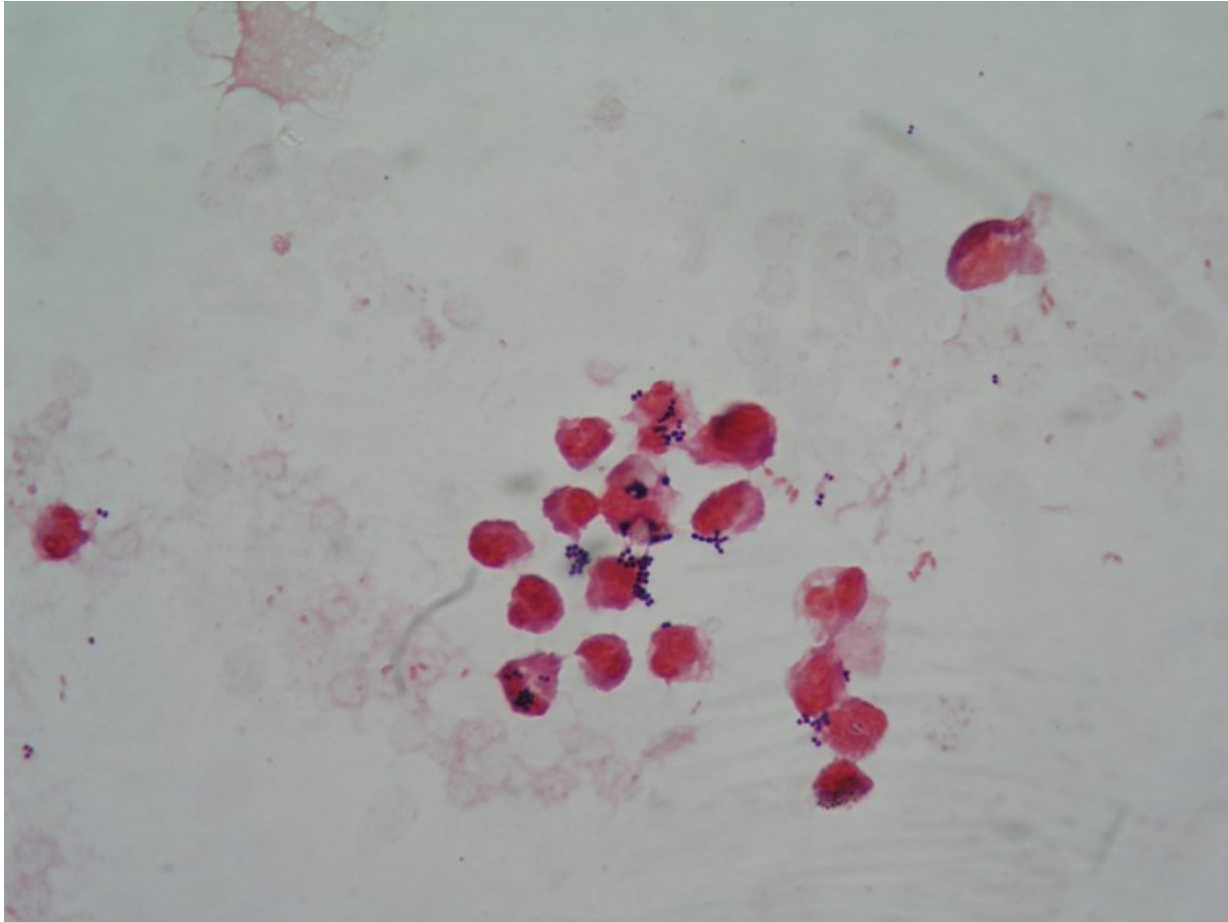
---



# Barvení podle Grama- význam

---

- Diagnostické barvení – základ klasifikace a taxonomie bakterií
- Možnost okamžité a racionální antibiotické terapie





# Fluorescenční barvení

---

Pomocí fluoreskujícího barviva

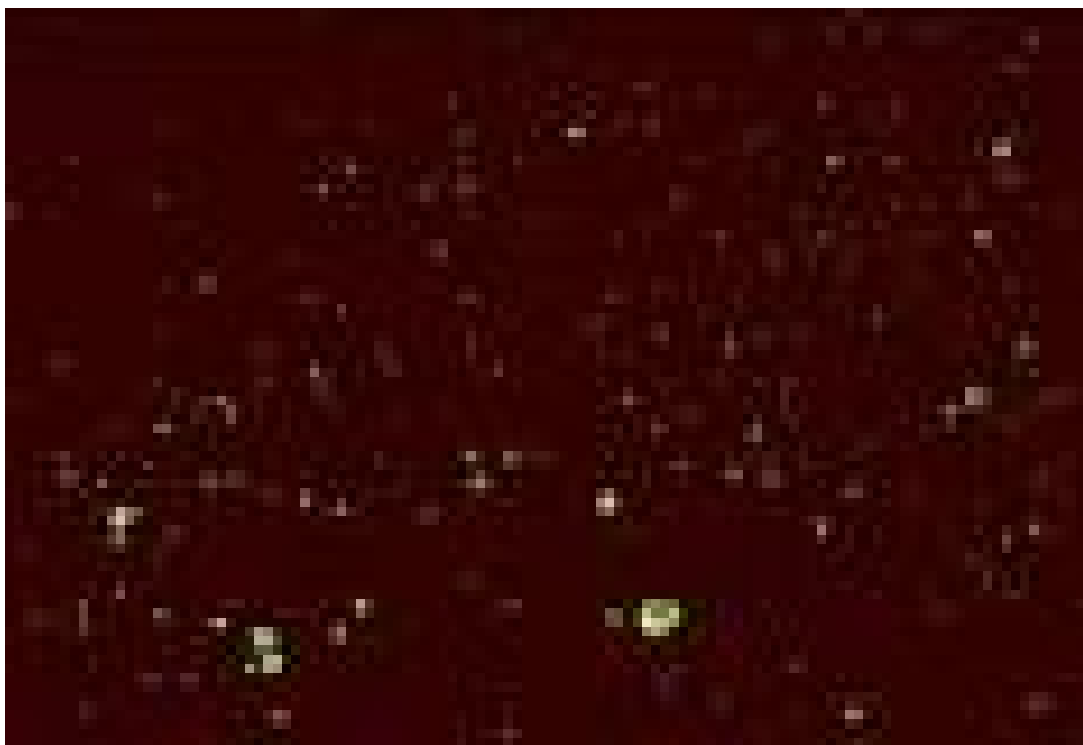
- Imunofluorescence

- Na hledaný antigen se naváže protilátka označená fluoreskujícím barvivem

- Pozorování pomocí fluorescenčního mikroskopu

# Fluorescenční barvení


---



# Kultivační průkaz

---

- Základní mikrobiologický postup
- Cílem je získat mikroba z klinického materiálu v čisté kultuře
- Identifikovat ho
- Určit citlivost k antibiotikům

- 
- 
- Kultivační půdy (tuhé, tekuté, diagnostické, selektivní, selektivně diagnostické...)
  - Očkování biologického materiálu
  - Diagnostická antibiotika
  - Kalibrované klíčky

# Kultivační půdy

---

- ❖ Tekuté: masopeptonový bujon
- ❖ Tuhé:
  - Krevní agar
  - Čokoládový agar
  - Levinthalův agar
  - Mc Conkey agar (Endova půda)
  - Sabouraudův agar
  - Desoxycholát – citrátový agar
  - Chromagary

# Podmínky kultivace

---

- Dostatečná vlhkost prostředí
- Optimální teplota - 37 °C (4 °C, 40 °C)
- Optimální pH půdy - 7,2 - 7,4
- Dostatek vhodných živin
- Vhodné plynné prostředí (aerobní, anaerobní, mikoraerofilní kultivace, zvýšená tenze CO<sub>2</sub>)

# Anaerostat

---



# Identifikace bakterií

---

- Podle morfologie
- Podle růstových vlastností
- Hmotnostní spektrometrie (MALDI)
- Podle biochemických vlastností
  - Selektivní půdy
  - Komerční diagnostické soupravy
- Podle antigenní struktury
  - Latexová aglutinace



# Úskalí dokonalé identifikace

---

- Stafylokoky koaguláza negativní a jejich různá jména
- Jiné- Finegoldia magna

Anaerobní kultivace:

Nález: Finegoldia magna

Stanovení kvalitativní citlivosti na antibiotika:

Augmentin, Unasyn.....C

metronidazol.....C

clindamycin.....C

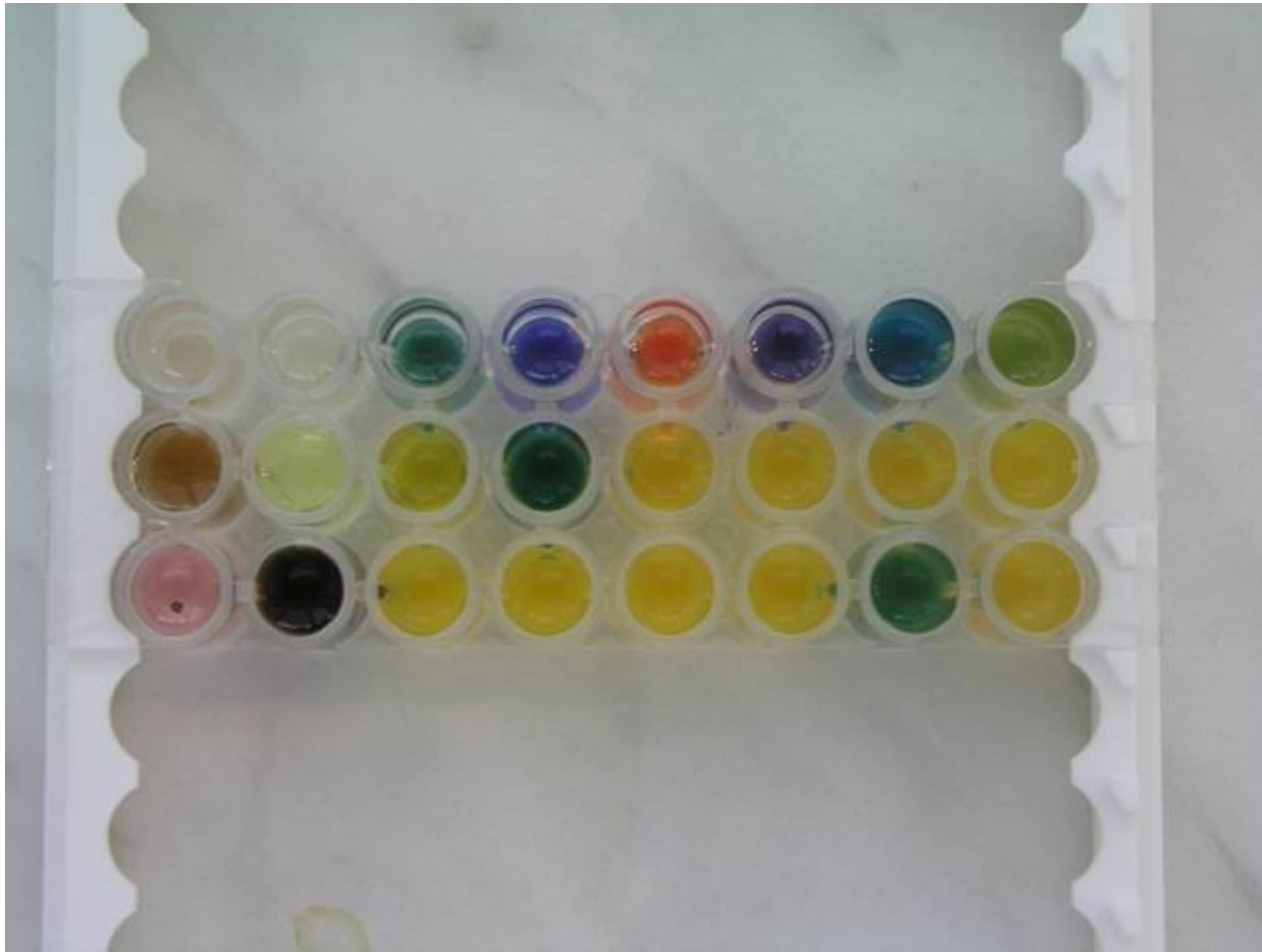
---

F.magna je grampozitivní anaerobní kok.

Kódy citlivosti: C=citlivý, R=rezistentní, X=výsledek sdělíme na požádání

# Biochemická identifikace bakterií

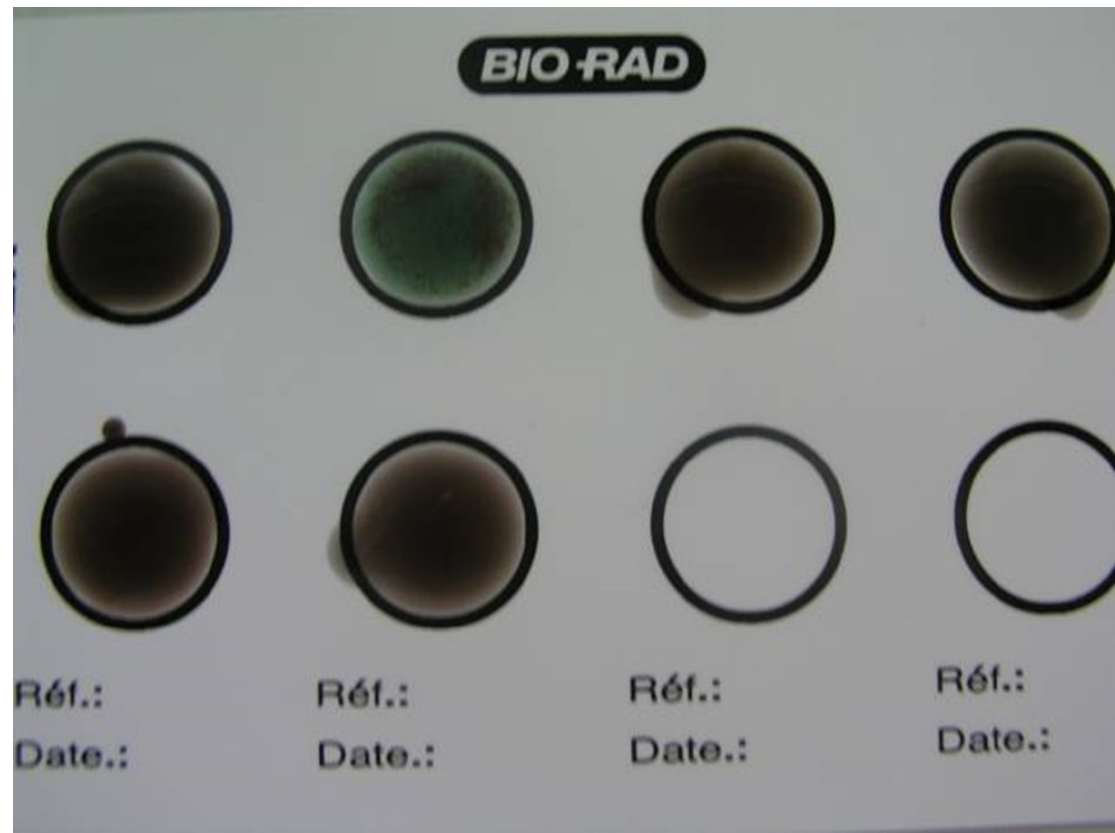
---



# Průkaz antigenů

---

- Latexová aglutinace
- Rychlá vyšetřovací metoda

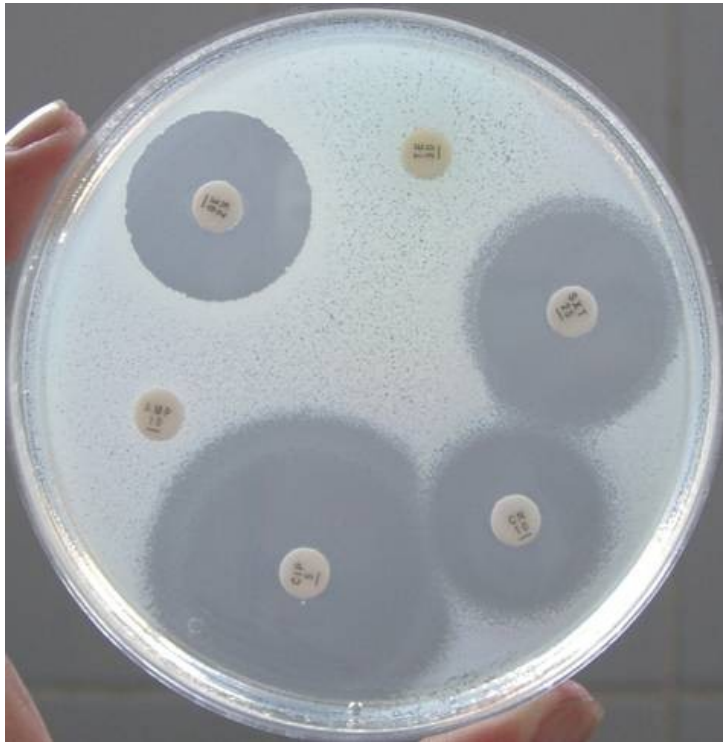


- 
- Nález primárního patogena- většinou jednoznačná situace (*Neisseria gonorrhoeae*)
  - Nález oportunního patogena- nutná komunikace s klinikem!!  
častější situace

# Stanovení citlivosti k antibiotikům

---

- Disková difúzní metoda
- Stanovení hodnot MIC antibiotika vůči danému mikroorganismu
- Semikvantitativní metody (mykoplazmata, ureoplazmata)



# Průkaz nukleových kyselin (PCR)

---

- Polymerázová řetězová reakce (Polymerase Chain Reaction)
- Možnost průkazu mikroba i při kultivační negativitě (meningitidy, infekce TEP)
- Průkaz nekultivovatelných nebo pomalu rostoucích agens
- Riziko kontaminace

# Průkaz protilátek

---

- Průkaz odezvy makroorganismu na infekční agens
- ELISA, komplementfixační reakce, automaty
- Obtížně kultivovatelné bakterie (chlamydie, borélie)
- mykologie



---

- **Spolupráce mikrobiologa s klinikem a jejich vzájemná komunikace**

- informace o konkrétním pacientovi
- konzultace mikrobiologického nálezu
- konzultace antibiotické terapie

- **Spolupráce mikrobiologa s epidemiologem**

# Septické stavy

---



# Sepse

---

- Primární – patogen jen v krevním řečišti – po i.v. aplikaci léčiv, drog
- Sekundární – v těle je primární ložisko a sekundárně se patogeny vyplaví do krevního oběhu
- Katetrové – původce pochází z kolonizace zavedeného cévního katetru

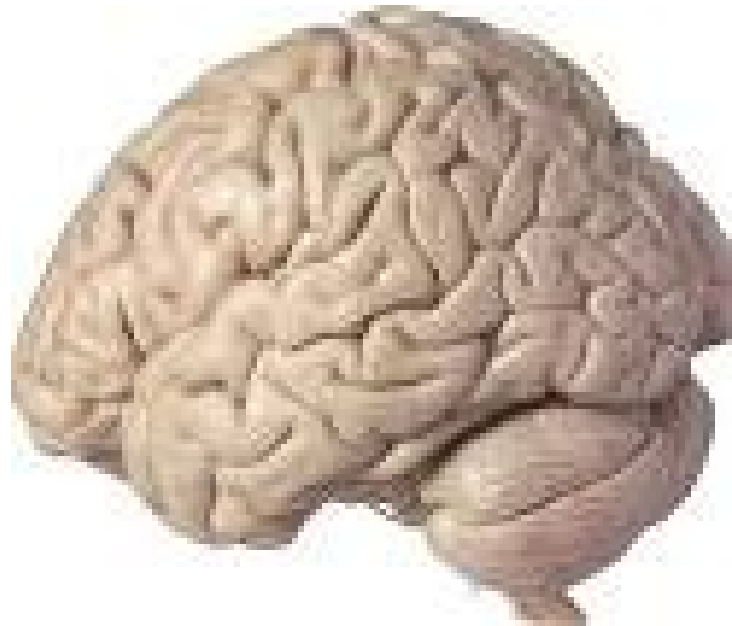
# Původci sepse

---

- Ranné sepse – *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*
- Urosepse – *Escherichia coli*
- Intraabdominální sepse – enterobakterie, anaeroby
- Nosokomiální sepse – *Pseudomonas aeruginosa*, enterobakterie s produkcí beta-laktamáz, kvasinky, *Staphylococcus* koaguláza negativní

# Infekce centrálního nervového systému

---



# Infekce centrálního nervového systému

---

## ○ Zdroj

- Hematogenní – meningokoky
- Per continuitatem – pneumokoky, hemofily
- Podél nervů – virus herpes simplex, vztekliny
- Přímo – při poranění hlavy

# Meningitidy

---

- Meningitidy aseptické – virové
  - Enteroviry, virus herpes – simplex, varicella-zoster, virus klíšťové menigoencefalitidy
- Meningitidy purulentní
  - *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*

# Meningitidy

---

- Chronické meningitidy
  - *Mycobacterium tuberculosis* (bazilární meningitida),
  - *Cryptococcus neoformans*
  - *Listeria monocytogenes*



# Mozkový absces

---



# Mozkové abscesy

---

- Akutní – bakteriální
  - Smíšená aerobní a anaerobní flóra, *Staphylococcus aureus*, nokardie
- Chronické – bakteriální, mykotické, parazitární
  - *Mycobacterium tuberculosis*, *Nocardia asteroides*
  - *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* spp.
  - Cysticerkosa (*Taenia solium*), echinokokosa

# Respirační infekce

---



- Infekce nosu a nosohltanu
  - Rýma, zánět nosohltanu
    - Rhinoviry, koronaviry
    - *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*
- Nosičství
  - *Neisseria meningitidis*

# Infekce dutiny ústní a mandlí

---



- Virové
  - Rhinoviry, koronaviry, adenoviry, EB virová tonsilitida, herpangína
- Bakteriální : angína
  - *Streptococcus pyogenes*,  
*Corynebacterium diphtheriae*, anaerobní  
Plautova-Vincentova
- Kvasinkové
  - soor

# Infekce středního ucha a vedlejších nosních dutin

---

- Akutní zánět středního ucha a dutin
  - Respirační viry
  - bakteriální: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Branhamella catharralis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacteroides spp.*, *Peptostreptococcus spp.*

# Infekce středního ucha a vedlejších nosních dutin

---

- Chronické

- bakteriální: *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, peptostreptokoky

# Infekce příklopky hrtanové

---

- Epiglottitis

- *Haemophilus influenzae* typ b

# Infekce laryngu a trachey

---

- Virové
  - Viry influenzy, parainfluenzy, RS virus
- *Chlamydia pneumoniae*,  
*Mycoplasma pneumoniae*
- Bakteriální
  - *Corynebacterium diphtheriae*, ostatní infekce sekundární po virech



# Infekce bronchů

---

- Virové
  - Viry chřipky, adenoviry, RS virus
- Bakteriální
  - primární: *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Bordetella pertussis*
  - Sekundární: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Branhamella catharralis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*

# Infekce plic

---

## ○ Akutní zánět

- Chřipka A,B, RS virus
- *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*
- *Streptococcus pneumoniae*,  
*Haemophilus influenzae*,  
*Staphylococcus aureus*, *Branhamella catarrhalis*, *Klebsiella pneumoniae*

# Infekce plic u oslabených jedinců

---

- Enterobakterie – *Klebsiella pneumoniae*
- *Legionella pneumophila*
- *Pneumocystis jirovecii*
- *Nocardia asteroides*
- *Aspergillus spp.*
- *Cytomegalovirus*

# Ventilátorové pneumonie

---

## ○ Časné

- *Streptococcus pneumoniae*,  
*Haemophilus influenzae*,  
*Staphylococcus aureus*, *Branhamella*  
*catharralis*

## ○ Pozdní

- *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas*  
*aeruginosa*

# Infekce ran

---

- Povrchové zranění – *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*
- Anaerobní traumatosisy – *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum*, *Clostridium tetani* (toxin)

# Infekce operačních ran

---

- Infekce endogenní – z okolí rány, ze střeva:

*Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes*, čeled' *Enterobacteriaceae*, *Bacteroides sp.*

Infekce endogenní (nozokomiální):

*Klebsiella pneumoniae, Enterobacter sp., Pseudomonas aeruginosa*

# Infekce po kontaktu se zvířetem

---

- Pokousání - ústní mikroflóra zvířete
  - *Staphylococcus aureus*, *Pasteurella multocida*, *Capnocytophaga canimorsus*
  - Vztekлина
- Kontakt bez kousnutí (zoonózy)
  - *Francisella tularensis*,  
*Erysipelothrix rhusiopathiae*,  
*Bartonella henselae*

# Osteomyelitidy

---

- Akutní: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Salmonella spp.*
- Chronická: *Pseudomonas aeruginosa*, enterobakterie, *Mycobacterium tuberculosis*



# Infekce kůže

---

## ○ Bakteriální

- Impetigo: *Staphylococcus aureus*,  
*Streptococcus pyogenes*
- Folliculitis : *Staphylococcus aureus*
- Acne vulgaris: *Propionibacterium acne*
- Erysipel: *Streptococcus pyogenes*

# Bakteriální infekce projevující se na kůži

---

- Produkce toxinů způsobujících vyrážky:
  - Spála – *Streptococcus pyogenes*
  - Syndrom toxického šoku – *Staphylococcus aureus*
- *Neisseria meningitidis*  
diseminovaná intravaskulární koagulopatie
- Erytema chronicum migrans – *Borrelia spp.*

# Virová onemocnění projevující se na kůži

---

- Exantematické virózy
  - Spalničky, zarděnky, erytema infectiosum (5.dětská nemoc, parvovirus B19), exantema subitum (HHV 6)
- Vesikulární exantém (puchýřky)
  - Herpesviry, poxviry
- Bradavice
  - Papillomaviry
- Petechie
  - Hemoragické horečky (Lassa, Ebola, u nás Hantaan)

# Kožní mykosisy

---

- *Candida albicans* – intertrigo, vulvovaginitida, soor
- Dermatofyta – tinea pedis (*Trichophyton rubrum*)

# Parazitární onemocnění kůže

---

- Svrab
- Pedikulóza – zavšivení
- Poštípání členovci

# Infekční průjmy

---

## ○ Bakteriální

- *Salmonely, shigely, kampylobaktery, yersinie*
- Enterotoxická, enteroinvazivní enterohemoragická *Eschericha coli*
- *Toxin Clostridium difficile*
- *Aeromonas spp., Plesiomonas shigeloides*

# Infekční průjmy

---

- Virové

- Rotaviry, adenoviry, kaliciviry (Norwalk), astroviry, noroviry

- Parazitární

- *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium parvum*

# Otravy z potravin

---

- Bakterie vylučující toxiny
  - *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*,  
*Clostridium botulinum*



# Močové infekce

---

- *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae*
- *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*
- *Candida albicans*
- *Trichomonas vaginalis*

# Sexuálně přenosné infekce

---

## ○ Bakteriální

- *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, (*Haemophilus ducrey*, *Calymmatobacterium granulomatis*)

## ○ *Chlamydia trachomatis*

## ○ Virové

- HIV, HSV 2, papilomaviry, molluscum contagiosum, *Hepadnavirus* (hepatitida B)

## ○ Parazitární

- *Trichomonas vaginalis*, ektoparazité

# Infekce v souvislosti s těhotenstvím

---

- Virové infekce se závažným průběhem
  - Hepatitida E, chřipka
- Bakteriální infekce
  - *Streptococcus pyogenes* (porod či potrat, horečka omladnic),  
*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* (mastitidy)

# Infekce plodu a novorozence

---

## ○ Vrozené

- Virové: zarděnky, cytomegalovirus, varicella-zoster, HIV
- Bakteriální: syfilis, listeriosa
- Parazitární: toxoplasmosa

# Infekce plodu a novorozence

---

- Perinatální a neonatální
  - Bakteriální: *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*
  - *Chlamydia trachomatis*
  - Virové: hepatitida B, HIV,

# Nosokomiální infekce

---

- Nákazy získané v souvislosti s pobytem ve zdravotnickém zařízení
- Endogenní – infekce vlastní mikroflórou
- Exogenní – infekce zavlečená zvenčí (ruce personálu)

# Nosokomiální infekce

---

## ○ Bakteriální

- Bakterie citlivé na ATB
- Bakterie rezistentní na ATB
  - Selektce rezistentních kmenů působením ATB na citlivé kmeny
    - MRSA, VRE, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*
  - Indukce tvorby betalaktamáz působením ATB
    - Širokospektré batalaktamázy, induktivní betalaktamázy

# Nosokomiální infekce

---

- Virové
  - Hepatitidy, rotaviry, adenoviry
- Parazitární
  - Roupy, svrab



# Kasuistika

---

- Pacient VCH, 1960
- Přijatý v březnu 2015 pro bolesti zad, crp 275, leukocytóza, febrílie
- Paraplegik po autonehodě, kovový materiál na rozhraní Th a L páteře



---

○ Bolesti zad:

➤ Ranná infekce

➤ Spondylodiscitida

➤ Infekce ledvin

➤ Infekce v dutině břišní (pankreas)

➤ Infekce v malé pánvi  
(gynekologické infekce)

# Kasuistika

---

- Paraplegik po autonehodě, kovový materiál na rozhraní Th a L páteře
- Odběr biologického materiálu:
  - Hemokultivace
  - Moč



# Kasuistika

---

- Diagnostikována spondylodiscitida v oblasti Th páteře
- Hemokultura?
- Empirická antibiotická terapie?

---

## ○ Původce?

*Staphylococcus aureus* představuje nejčastější mikrobiální agens vyvolávající spondylodiscitidu. Lze jej předpokládat zejména u spondylodiscitid anamnesticky spojených se stafylokokovou infekční endokarditidou, u pacientů s předchozí katérovou infekcí krevního řečiště, nebo infekcí kůže a měkkých tkání v anamnéze. Rizikovou skupinu pro spondylodiscitidu vyvolanou *Staphylococcus aureus* představují také nitrožilní narkomani.

U pacientů s touto předpokládanou etiologií je pro empirickou terapii doporučený **oxacilin v kombinaci s gentamicinem.**



---

○ Anamnéza:

- Infekční fokus (kariézní chrup, abscesy, IE...)
- Předchozí infekce (infekce spojené se zavedením CVK, uroinfekce, jiné infekce spojené a bakterémií...)



---

○ Anamnéza:

- 11-12/2014 hospitalizován pro absces v ledvině
- Nefrektomie
- Revize pro krvácení do lůžka po ledvině
- 11/2014 pozitivní hemokultura s nálezem *Klebsiella pneumoniae* s ESBL produkcí

# Kasuistika

---

- Vstupně nasazený potencovaný aminopenicilin (Augmentin)
- Pro vysokou suspekci na klebsielovou etiologii spondylodiscitidy doporučena terapie meropenemem
- Monoterapie- solitární ledvina s horší funkcí, kreatinin 370  $\mu\text{mol/l}$ , alergie na ciprofloxacin



# Kasuistika

---

- Kultivace: půdy, inokulum, antibiotické disky
- Atmosféra, doba kultivace
- Hodnocení: identifikace mikroorganismu a stanovení citlivosti

# Kasuistika

---

- Pozitivní hemokultura s nálezem *Klebsiella pneumoniae* s ESBL produkcí
- Ponechána terapie meropenem + přidáný amikacin v redukováných dávkách
- Pokles hodnot crp i leu, stabilizace stavu

# Kasuistika

- Délka terapie?
- Perorální pokračování terapie?
- Ertapenem? (OPAT- zatím ne v ČR)
- P.o. tetracyklin?

Tetracyclines	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints Letters for comments on disk diffusion
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Doxycycline	-	-		-	-	1. Tigecycline has poor activity against <i>Morganella</i> spp., <i>Proteus</i> spp. and <i>Providencia</i> spp. 2. For tigecycline broth microdilution MIC determination, the medium must be prepared in a 1:1 ratio of tigecycline broth to the medium. A. Zone diameter breakpoints validated for <i>E. coli</i> only. For other Enterobacteriaceae, zone diameters should be interpreted with caution.
Minocycline	-	-		-	-	
Tetracycline	-	-		-	-	
Tigecycline <sup>1</sup>	1 <sup>2</sup>	2 <sup>2</sup>	15	18 <sup>A</sup>	15 <sup>A</sup>	

# Kasuistika

---

- Hospitalizace pokračuje.....



Sestrol! Skočte na internet, otevřete [CHIRURGIE.COM](http://CHIRURGIE.COM),  
sjed'te dolů a klikněte na ikonu "Jste totálně v prdeli?"

# Kasuistika

---

- Opakovaná antibiotická konzultace
- Pacient s crp opět 270, zhoršení stavu
- Klindamicin v terapii osteomyelitidy v kombinaci s amikacinem
- Po CDI (*Clostridium difficile*)
- *Kl.pneumoniae* ESBL ze sputa
- MRSA z hrudních drénů
- Polyrezistentní *Pseudomonas aeruginosa* z moči

# Kasuistika


---

- Původce spondylodicitidy zřejmě ne *S.aureus*, tedy zbytečný klindamycin
- Riziko clostridiové kolitidy
- Amikacin není vhodný v monoterapii plicních infekcí
- Amikacin není vhodný v monoterapii stafylokokových infekcí

# Kasuistika

---

- Opět doporučený do terapie meropenem
- Výhled pacienta?

- 
- 
- Klinická mikrobiologie – spolupráce mikrobiologa s klinickým lékařem
  - Na konci/ na začátku každého mikrobiologického vyšetření je nemocný člověk



Děkuji za pozornost

---

