# P12 Klinická mikrobiologie III – vyšetřování u urogenitálních infekcí

K nastudování: speciální bakteriologie z vašich vlastních protokolů

## Infekce močových cest

## Úkol 1: Odběr a transport moče

Podle výkladu učitele zaškrtněte, které věty o odběru a zasílání moče jsou správně/špatně.

|  |
| --- |
| Vyšetření moče je vhodné u nekomplikované a nezbytné u komplikované cystitidy ❒ správně ❒ špatně |
| Mikrobiologové doporučují použití katetrizované moč jako rutinní způsob odběru moče na bakteriologické vyšetření ❒ správně ❒ špatně |
| Při bakteriologickém vyšetření moče není podstatné, zda se při odběru proud moče dotýká při odběru předkožky (u mužů) či malých stydkých pysků (u žen) ❒ správně ❒ špatně |
| Zevní ústí uretry je třeba před odběrem na bakteriologické vyšetření pečlivě omýt, případně i lehce desinfikovat ❒ správně ❒ špatně |
| Nádobka, do které pacient močí, musí být sterilní ❒ správně ❒ špatně |
| Zkumavka, ve které se posílá moč, musí mít žlutý uzávěr ❒ správně ❒ špatně |
| Není-li moč běžně odebrána, musí žádanka o vyšetření obsahovat informaci, zda jde o moč katetrizovanou, punktovanou, nebo zda jde o vzorek z permanentního močového katetru ❒ správně ❒ špatně |
| Moč z permanentního katetru má v bakteriologické diagnostice stejný význam jako moč katetrizovaná přímo za účelem vyšetření ❒ správně ❒ špatně |
| Vzorek moče musí být dodán do laboratoře do dvou hodin po odběru. Pokud to není možné, je nutno jej uchovat v ledničce ❒ správně ❒ špatně |
| Vzorek moče je při diagnostice kapavky lepší než výtěr z močové trubice ❒ správně ❒ špatně |

## Úkol 2: Očkování vzorku moče

Sledujte svého učitele, který vám bude demonstrovat očkování vzorku moče (nebo sledujte videoklip se stejným tématem, je-li k dispozici). Vyplňte prázdná místa v následujícím textu:

Vzorek moče je očkován kalibrovanou kličkou, vyrobenou z \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_. Termín “kalibrovaná” znamená, že je vyrobena tak, aby měla určitý objem, konkrétně \_\_\_\_\_\_\_. Vzorek moče se očkuje na dvě půdy: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_. Místo druhé z nich bychom také mohli použít \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ nebo \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_. Po naočkování je vzorek inkubován přes noc v termostatu při \_\_\_\_\_°C.

## Úkol 3: Vyhodnocení semikvantitativní kultivace moče

Po naočkování a inkubaci (vizte Úkol 2) vyhodnocujeme misky s výsledkem kultivace vzorku moče. Počítáme kolonie (nebo jejich počet odhadneme) a přepočítáme na počet bakterií v mililitru původní moče.

Vyplňte následující tabulku. Poté vyhodnoťte předložené vzorky moče kvalitativně (= o jakého mikroba jde) a semikvantitativně (= jaké je jeho přibližné množství a co to podle všeho znamená).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Počet kolonií na agaru | Počet bakterií v mikrolitru původní moče (µl) | Počet bakterií v mililitru původní moče (ml) | Interpretace |
| <10 |  |  |  |
| 10–100 |  |  |  |
| >100 |  |  |  |



Tabulka pro zapsání výsledku Enterotestu 16:

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| ONPG | 1H | 1G | 1F | 1E | 1D | 1C | 1B | 1A | 2H | 2G | 2F | 2E | 2D | 2C | 2B | 2A |
| + | černá | modrá | červená | modrá | červená | zelená | černá | modrá | modrá | žlutá | žlutá | žlutá | žlutá | žlutá | žlutá | žlutá |
| – | bezbarvá | zelená | žlutá | zelená | žlutá | žlutá | bezbarvá | žlutá | žlutá | zelená | zelená | zelená | zelená | zelená | zelená | zelená |
| ? |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 |
|  |  |  |  |  |  |
| Kód: | Identifikace | % pravd. | T index |



Test citlivosti na antibiotika

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| AmpicilinAMP | R < 14S ≥ 14 |  | Tetracyklin\*TE | R < 12S ≥ 15 |  |
| CefalzolinKZ | R < 14S ≥ 18 |  | Cefuroximpůdě Chromotest URICXM | R < 18S ≥ 18 |  |
| Ko-trimoxazol SXT | R < 13S ≥ 16 |  | NorfloxacinNOR | R < 19S ≥ 22 |  |
| NitrofurantoinF | R < 11S ≥ 11 |  |  |  |  |

zapisujte C = citlivý, R = rezistentní, případně I = intermediární

\*výsledek testu citlivosti platí i pro doxycyklin

Konečný závěr a doporučení léčby: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

## Úkol 4: Interpretace a léčba infekcí močových cest

V následující tabulce je v každé buňce (kromě buněk prvního sloupce) **jeden nesprávný termín.** Udělejte tečku k termínům, které považujete za nesprávné. Poté svůj výběr ověřte za pomoci učitele a **přeškrtněte termíny, které jsou definitivně prohlášeny za nesprávné**.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Klinická situace | Nejpravděpodobnější patogeny | Lék volby pro počáteční léčbu | Alternativní léčba (alergie apod.) |
| Asymptomatická bakteriurie (ABU)těhotné ženy | *Escherichia coli**Klebsiella pneumoniae**Streptococcus pyogenes**Enterococcus* sp. | nitrofurantoin\*ofloxacin | amoxicilinlinezolid |
| Asymptomatická bakteriurie (ABU)ostatní situace | bez léčbynitrofurantoin | bez léčbycefuroxim |
| Akutní nekomplikovaná cystitida (komunitní, tj. „ne-nozokomiální“) | *Clostridium* sp.*Escherichia coli**Staphylococcus saprophyticus**Klebsiella pneumoniae* | ciprofloxacinnitrofurantoin | ko-trimoxazol(ko-)amoxicilinvankomycincefuroxim |
| Akutní pyelonefritida | *Escherichia coli**Bacteroides fragilis**Klebsiella pneumoniae**Proteus* sp. | (ko-)amoxicilincefuroximnitrofurantoin | ko-trimoxazolnorfloxacinimipenem |

\*kromě prvního trimestru a druhé poloviny třetího trimestru

## Infekce pohlavních cest

## Úkol 5: Odběrové metody u STI a ostatních infekcí pohlavních orgánů

Najděte vhodné výtěrovky či jiné odběrové metody pro následující klinické situace (podezření na konkrétní choroby). Pro některé z nich je vhodná více než jedna metoda. Použijte číslice 1 až 6 pro označení svého výběru. Opravte svůj výběr s pomocí učitele.

Bakteriální vaginóza

Aerobní vaginitida

Poševní mykóza

Kapavka

Syfilis

Mykoplasmová infekce

Chlamydiová infekce

Papilomavirová infekce

Čísla: 1 – Souprava Amies 2 – souprava C. A. T. 3 – suchý tampon 4 – nátěr na sklíčko 5 – srážlivá krev na nepřímý průkaz 6 – seškrab z tvrdého vředu na zástinovou mikroskopii a PCR

## Úkol 6: Vyhodnocení poševních nátěrů

Při diagnostice vaginálních infekcí je velmi důležitou metodou mikroskopie. Kultivační výsledky mohou být pozitivní i v případě výskytu malého nesignifikantního množství určitých bakterií (např. gardnerel). V tomto je mikroskopie lepší, protože lze sledovat podíly jednotlivých bakteriálních morfotypů, a také další struktury (epitelie včetně těch s adherovanými bakteriemi, tzv. “clue cells”; bílé krvinky; kvasinky atd.) Někdy jsou do laboratoře zasílána dvě sklíčka: jedno se barví Giemsovým barvením (hlavně kvůli *Trichomonas vaginalis*, protože tento prvok se Gramovým barvením barví špatně), druhé dle Grama (zejména kvůli bakteriím).

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_­­­­\_\_\_\_

Nugentovo skóre BV:

Prohlédněte si výsledek poševního nátěru a zaznamenejte výsledek do protokolu. Pomocí následujícího návodu se pokuste vypočítat **Nugentovo skóre bakteriální vaginózy**:

**A. Morfotypy**

* **Morfotyp *Lactobacillus*** = **robustní** a dlouhé G+ tyčinky
* **Morfotyp *Gardnerella*** = **subtilní** gramnegativní či gramlabilní **rovné** tyčinky
* **Morfotyp *Mobiluncus***= **subtilní** gramnegativní **zahnuté** tyčinky.

Jiné objekty (koky, lidské buňky, kvasinky) se **nepočítají**

* **Poznámka:** termín *morfotyp* znamená “bakterie, které v mikroskopu vypadají jak…”, tzn. že například ne všichni zástupci “*morfotypu Gardnerella/Bacteroides*” jsou skutečně gardnerely nebo bakteroidy

**B. Systém pro počítání (+ až ++++) – zjednodušeno**

|  |  |
| --- | --- |
| Bakterie jsou **extrémně početné**, vidíme je v prvním okamžiku pohledu do mikroskopu | ++++ |
| Bakterie jsou **velmi početné**, každé pole jich obsahuje mnoho | +++ |
| Bakterie jsou **přítomny v každém poli**, ale nejsou příliš početné | ++ |
| Bakterie jsou málo početné, existují **pole, ve kterých se žádná nenachází** | + |
| Bakterie **zcela chybějí** | – |

Poznámka: Podobný systém lze použít i pro jiné mikroskopie, například hodnocení sputa

**C. Vlastní Nugentův skórovací systém (zjednodušeno):**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Připočtené body | Přítomnost morfotypu *Lactobacillus* | Přítomnost morfotypu *Gardnerella/Bacteroides* | Přítomnost morfotypu *Mobilluncus* |
| 0 | ++++ | –  | – |
| 1 | +++ | + | + nebo ++ |
| 2 | ++ | ++ | +++nebo ++++ |
| 3 | + | +++ |  |
| 4 | – | ++++ |  |

A tak každý nátěr může získat 0 až 4 body za morfotyp *Lactobacillus* (čím vice bakterií tohoto morfotypu, tím **méně** bodů), 0 až 4 body za morfotyp *Gardnerella/Bacteroides* (čím více bakterií tohoto morfotypu, tím **více** bodů) a 0 až 2 body za morfotyp *Mobilluncus* (čím více bakterií tohoto morfotypu, tím **více** bodů)

Kritéria pro bakteriální vaginózu podle Nugenta: sedm a více bodů je považováno za téměř jistou diagnózu bakteriální vaginózy, skóre 4 až 6 je intermediární a 0 až se považuje za normální.

*Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. R P Nugent, M A Krohn, and S L Hillier, J Clin Microbiol. 1991 February; 29(2): 297–301.*

## Úkol 7: Vyhodnocení poševních výtěrů

Poševní výtěry zpravidla kultivujeme na následujících půdách:

* **krevní agar** (na běžné bakteriální patogeny)
* **Endova půda** (nebo McConkeyho půda)
* **Agar s 10 % NaCl** (pro staphylokoky)
* **Speciální varianta krevního agaru pro *Gardnerella vaginalis*** (GVA agar)
* **WCHA agar** (anaerobní kultivace) – jen někdy

Jako normální flóru pozorujeme laktobacily – velmi drobné kolonie s viridací. Existuje mnoho druhů laktobacilů s různými vztahy ke kyslíku, ačkoli nejspíše jsou mikroaerofilní. V praxi vídáme tři varianty růstových vlastností těchto mikrobů:

* někdy jsou schopny růstu i na krevním agaru za **normální atmosféry**
* někdy nerostou za aerobních podmínek, ale rostou na agaru pro gardnerely při **zvýšené tenzi CO2**
* někdy rostou pouze na WCHA **za anaerobních podmínek**

A proto buďte připraveni na všechny možnosti a nebuďte překvapeni.

Kromě laktobacilů mohou být za „normální“ považovány i některé jiné nálezy, jmenovitě

* malá množství koagulázanegativních stafylokoků
* malá množství zástupců *Enterobacteriaceae*
* malá množství anaeobních bakterií (nejsou-li velmi početné a intenzivně nezapáchají, považujeme je za „normální nález“)

Na druhou stranu, někdy mohou být laktobacily i nepřítomné, zejména u výtěrů od žen po klimakteriu, nebo jako výsledek předchozí antibiotické léčby.

Zapište své nálezy a pokuste se učinit závěr.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Půda | Normální nález | Možné patogeny | Můj nález |
| Krevní agar | Lactobacily, malá množství koagulázanegativních stafylokoků, velmi malá množství enterobakterií | *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae, Streptococcus agalactiae* a mnoho jiných |  |
| Endova půda | Žádný nárůst, nebo jen malá množství enterobakterií | Zpravidla *Enterobacteriaceae* |  |
| Agar s NaCl | Žádný nárůst, nebo stafylok později určený jako koagulázanegativní druh | Mostly *Staphylococcus aureus* |  |
| GVA agar | Jako na krevním agaru (možná jiná morfologie kolonií) | *Gardnerella* vypadá jako drobné kolonie s částečnou hemolýzou\* |  |
| WCHA agar | Jako na krevním agaru, + mohou být i malá množství anaerobů | Anaerobní bakterie ve velkém množství, předvádějící nepříjemný zápach |  |
| Další testy(pouze byly-li provedeny): |

\*Porovnejte s pozitivní kontrolou, je-li k mání

**Konečný závěr:**

**V našem „red box týmu” písmeno \_\_\_\_\* jsme našli**

* Pouze běžnou flóru
* Běžnou flóru s patogenem, jmenovitě \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

\*A, B, C, D, E, F, G nebo H