

# Lékařská mikrobiologie

Petra Myšková  
OKMI, FN Brno

# Bakteriologie

- přímé mikroskopické zhodnocení klinického materiálu
- kultivační průkaze etiologického agens
- jeho identifikace
- stanovení citlivosti na antibiotika, resp. chemoterapeutika,
- přímý průkaz bakteriálních antigenů
- interpretace bakteriologického nálezu

# Bakteriologie

- Taxonomie – základním taxonem je druh, binomická nomenklatura
- Druh=soubor izolátů, které vykazují některé společné vlastnosti na fenotypové úrovni se společnými genovými clustery
- Typové kmeny
- Další dělení – barvení dle Grama, vztah ke kyslíku

# Mikrobi a prostředí

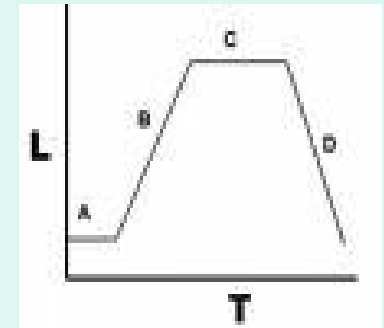
- Voda, půda, rostliny
- Osídlují povrch těla, systémy trávicí, dýchací soustavy vyšších organismů
- Lidské střevo je osídleno asi 500 druhy mikroorganismů

# Obecné podmínky přežívání a usmrcování mikrobů

- Nepříznivé faktory zevního prostředí
  - teplota
  - UV a ionizační záření
  - nedostatek vody
  - nedostatek živin
  - nevhodné pH

- Při pozvolném růstu intenzity nepříznivého faktoru
  - ustává množení buněk (bakteriostáza) - vratný proces
  - postupné odumírání buněk, probíhá podle logaritmické křivky - nevratný proces, na konci zpomalení

- počet usmrcených buněk závisí
  - na intenzitě smrtícího činitele
  - na době jeho působení, expoziční doba
    - vztah mezi počtem přežívajících a usmrcených buněk je logaritmický
- čas potřebný k usmrcení mikrobů závisí
  - na jejich výchozím počtu, úroveň kontaminace
  - na druhu mikroorganismu
  - na ochranném vlivu prostředí (bílkoviny, tuky)
  - na teplotě



# Intenzita smrtícího činitele

- závislost není lineární
- existují výjimky
  - horký vzduch 180 °C je mnohem méně účinný než vodní pára při 120 °C
  - 70% alkohol je mnohem účinnější než 95%, který spíše konzervuje
  - koncentrované dezinfekční prostředky mohou selhat, protože koagulují organickou hmotu kolem mikrobů



- počet usmrcených buněk závisí
  - na době působení – **expoziční době**
    - čím déle, tím více mikrobů je likvidováno
    - žádoucí je snížení pravděpodobnosti přežití na  $10^{-6}$
  - na výchozím počtu mikrobů – **úroveň kontaminace**
    - mechanická očista před dezinfekcí, jinak selhání
  - **druh a stav mikroorganismů**
    - spory *Clostridium botulinum*, *Mycobacterium*, neobalené viry - enteroviry, virus hepatitidy A, obalené viry – hepatitida B

- **Ochranný vliv prostředí**
  - organické látky (bílkoviny, tuky) skýtají dokonalou ochranu
  - pH – v kyselém prostředí jsou mikrobi choulostivější, spory nevyklíčí
- **Teplota**
  - za chladu ztrácí většina chemických dezinfekčních prostředků svou účinnost
  - čím vyšší teplota tím větší účinek

# Definice používaných termínů

- **Sterilizace** – zničení všech životaschopných zárodků (včetně spor, vajíček helmintů, virů)
- **Dezinfekce** – odstranění původců infekce, přerušení cesty přenosu původce
- **Sanace** – vyšší stupeň dezinfekce (zdravotnické nástroje, které se nedají sterilizovat)
- **Asanace** – likvidace zdrojů, rezervoárů a přenašečů infekce
- **Sanitace** – sanitární úklid – snížení mikrobiální kontaminace



# Definice používaných termínů

- **Antisepse** - zneškodňování patogenních mikrobů na kůži, sliznicích, ranách – antiseptika
- **Asepse** – soubor opatření, které má zabránit mikrobiální kontaminaci sterilního prostředí nebo materiálu
- **Konzervace** – v potravinářství – uchovávání potravin v nezměněném stavu
  - tepelná úprava, mražení, sušení, ozařování, filtrace
  - nasolování, okyselování, nakládání do cukru, uzení



# Konkrétní případy

- *Neisseria gonorrhoeae* – podléhá chladovému šoku byla-li odebrána do chladné transportní půdy
- V chladničce při 5 °C se mohou množit yersinie, listerie, *Escherichia coli*, přežívají salmonely a kampylobaktery
- Zmražování – především pomalé, ledové krystaly (versus lyofilizace), cysty *Toxoplasma gondii* – maso po zmrazení bezpečné
- většina mikrobů hyne při 60 °C – 65 °C za 10 – 15 min
- spory vydrží 4 – 20 hodin varu

# Fyzikální postupy sterilizace a dezinfekce

- Sterilizace – spíše fyzikální, dezinfekce - chemické
  - **Teplo**
    - plamen
    - horkovzdušná sterilizace 60 min/160 °C , 30 min/170 °C, 20 min/180 °C
    - parní sterilizátor – autokláv – teplota páry stoupá s jejím tlakem, při tlaku 2atm má pára 121° C/20 min, při tlaku 3atm 134 °C/10 min (priony 1 hodina)
    - frakcionovaná sterilizace – trojnásobné opakované zahřívání na 30 min při 100 °C, proložené inkubací 37 °C
    - pasteurizace – 30 min/62 °C, několik vteřin/75 °C





# Fyzikální postupy sterilizace a dezinfekce

- **Ultrafialové záření** – germicidní zářiče, vlnová délka 260 nm, dosah 30 – 50 cm, absorbováno DNA
- **Infračervené záření** – tepelný účinek 20 min/180 °C
- **Ionizační záření** – paprsky gama
  - zdravotnické potřeby na jedno použití, DNA a volné radikály
- **Filtrace** – porcelán, slinuté sklo, membránové filtry, HEPA filtry, vodárenství
- úklid a mechanická očista





# Chemické postupy sterilizace a dezinfekce

- počet mikrobů
- koncentrace dezinfekčního prostředku
- teplota
- ochranný vliv prostředí
- relativní odolnost jednotlivých mikroorganismů
  - pseudomonády, stafylokoky, enterokoky, mykobakteria, spory, neobalené viry, VHB

# Chemické postupy sterilizace a dezinfekce

## – Mechanismus dezinfekčního účinku

- oxidace (oxidační činidla)
- hydrolýza (kyseliny a louhy)
- tvorba soli s bílkovinami (těžké kovy, halogeny)
- koagulace bílkovin (těžké kovy, fenoly, aldehydy, alkoholy)
- poruchy membrán (kvarterní amoniové soli)
- inaktivace enzymů (těžké kovy, aldehydy, fenoly)

# Chemické postupy sterilizace a dezinfekce



- **oxidační činidla** (persteril, ozon, peroxid vodíku, manganistan draselný) - odštěpení atomárního kyslíku=porušení molekulárních vazeb
- **halogeny** (chlór a jeho deriváty, chloramin, jódové přípravky) – oxidační procesy (kys.chlorná), jód přímo
- **alkylační činidla** (ethylenoxid, formaldehyd, glutaraldehyd)
- **cyklické sloučeniny** (fenol a jeho deriváty, lysol, Orthosan, difenyly, chlorhexidin, barviva, brilantová zeleň, krystalová violet') – inaktivace enzymů, koagulace cytoplazmy

# Chemické postupy sterilizace a dezinfekce

- **alkálie** (louhy, vápno, vodní sklo) – destrukce buněčných struktur, ale žíravé
- **kyseliny** (solná, sírová, chromsírová) – pozor na koagulaci bílkovin
- **sloučeniny těžkých kovů** (rtuť, stříbro, Sagen,  $\text{AgNO}_3$ , měď,  $\text{CuSO}_4$ )
- **alkoholy** (ethanol, propanoly, triethylenglykol) – denaturace bílkovin
- **povrchové aktivní látky** (kvarterní amoniové sloučeniny, Ajatin, Septonex) – porušení BS a CP



- aplikace plynů - ethylenoxid, formaldehyd, páry kyseliny peroctové
- aplikace tekutin – namočení, otírání, postřik, odpařování par
- aplikace suchých prostředků - jen k dezinfekci tekutých materiálů
- po delší době používání může vzniknout rezistence (mutací, přijetím plasmidu nebo transpozonu)
- nutno dodržovat doporučenou koncentraci, každé dva měsíce prostředek obměnit



- kontrola účinnosti sterilizačních přístrojů
  - biologické testy (*Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*)
  - chemické testy reagují změnou barvy (Bowie-Dickův test, procesové testy na obalech, chemické testy)

**gke**

*specializing in sterilization design, validation and monitoring*

## Bowie-Dick simulation test

to monitor steam sterilization processes

### PASS CONDITIONS

A successful Bowie-Dick simulation test proves rapid and even steam penetration, under condition that all subsequent sterilization cycles have the same air removal and steam penetration characteristics and all important process parameters are met.



all color segments are black → sufficient steam penetration

### FAIL CONDITIONS

If the first Bowie-Dick simulation test fails – repeat the test. If the test continues to fail then the sterilizer must be checked, and if necessary, repaired.

Fail conditions may be due to various reasons (see note below) and do not guarantee sufficient steam penetration to all inner surfaces of the load.



color segments are black at one end, and yellow-brownish at the other end ⇒ Insufficient steam penetration and air removal



all color segments are yellow-brownish ⇒ Effect of temperature, but no steam penetration and air removal



all color segments are yellow ⇒ No effect of temperature and no steam penetration and air removal

#### Note

A failure of the Bowie-Dick simulation test is not conclusive proof that the fault is necessarily associated to the sterilizer itself (insufficient air removal or leakages), but may well be due to external causes such as unpurged steam pipes at the start of the process, non-condensable gases in the external steam supply or changing temperature of cooling water. Therefore Bowie-Dick tests made in subsequent cycles may show different results.

Stand 08/11

# Kontrola dezinfekce

- **Chemické postupy** – detekují zbytkový chlór, jód, apod., a stanovují, zda používaný roztok obsahuje účinnou látku v dostatečné koncentraci
- **Mikrobiologické postupy**
  - kontrola účinnosti dezinfekčního prostředku
  - kontrola mikrobiální kontaminace dezinfikovaných předmětů

# Základy epidemiologie přenosných nemocí

- Přenos specifického původce nebo jeho toxického produktu z infikovaného jedince na vnímavý objekt
- Proces šíření nákazy
  - Zdroj původce nákazy
  - Cesta přenosu
  - Vnímavý jedinec, populace





# Výskyt nákazy

- **Sporadický** – ojedinělá onemocnění bez vzájemné souvislosti
- **Epidemický** – nahromadění v prostoru a čase
  - explozivní – prudký začátek, několikahodinová inkubační doba, alimentární, respirační onemocnění
  - kontaktní – vleklý průběh, dlouhá inkubační doba, virová hepatitida A, AIDS
- **Endemický** – bez časového omezení, vychází z přírodních ohnisek nákazy, rezervoárová zvířata
- **Pandemický výskyt** - chřipka

# Zdroj nákazy

- **Člověk**
  - nemocný
    - ke konci inkubační doby, nemocný s typickým nebo atypickým průběhem onemocnění, případně s průběhem abortivním nebo asymptomatickým
  - zdravý nosič
- **Zvíře**
  - antropozoonózy (brucelóza, antrax, vzteklna, leptospiróza, toxoplazmóza, tularémie)
- **Zevní prostředí** – kontaminace, spíše cesta přenosu
  - spóry bakterií, prvoků, vajíčka červů, plísně, nokardie

# Ohnisko nákazy

- zahrnuje zdroj a prostředí, kde se odehrává přenos a kde jsou podmínky pro expozici vnímavých jedinců
- má různý rozsah, trvání a podobu
- přírodní ohnisko nákazy
  - rezervoárová zvířata
    - cirkulace nezávisle na člověku



# Přenos původce nákazy

- **přenos přímý**
  - sexuálně přenosné nákazy, pokousání zvířetem, transplacentární
- **přenos nepřímý**
  - předpokládá schopnost původce přežít ve vnějším prostředí, na kontaminovaném povrchu, materiálu, nebo v jiném vehikulu

# Přenos nepřímý

- **ingescí – alimentární přenos**
  - vodou (salmonely, shigely, cholera, enteroviry, virové hepatitidy, leptospiry, brucely, původci tularémie, amébová dyzentérie, botulotoxin, shigatoxin)
  - potravinu (VHA, TBC, klíšťová encephalitida, alimentární nákazy)
- **inhalací – vzdušnou cestou**
  - respirační nákazy
  - aerosol (Q-horečka, psitakóza, antrax, tularémie)
- **inokulací – transmisivní nákazy**
  - hmyz (malárie, mor), injekce (VHB)

# Exogenní infekce

- jsou důsledkem styku makroorganismu s virulentním patogenním mikroorganismem
- klasické infekce
  - variola, skvrnitý tyfus, malárie, diftérie, poliomyelitida, pertuse
  - respirační, průjmová onemocnění, klíšťová encefalitida

# Endogenní infekce

- vznikají zavlečením infekčního agens z kolonizovaného místa (kůže, pochva, ale zejména orofarynx a GIT) do jiného systému téhož organismu.
  - **Primárně endogenní infekce** jsou způsobeny potenciálně patogenními mikroorganismy, které jsou normálně přítomny v pacientově mikroflóře.
  - **Sekundárně endogenní infekce** jsou způsobeny mikroorganismy, které před vznikem infekce nejprve kolonizovaly sliznice či kůži pacienta

# Faktory ovlivňující vznik infekce

- **Patogenita, virulence**
  - Patogenita je vlastnost druhová, virulence je vlastnost individuální, stupeň patogenity určitého kmene
- **Vnímovost či odolnost hostitele**
- **Zevní ekologické faktory**
  - geografické rozšíření nálezů může být vázáno na výskyt rezervoárových zvířat
  - na klimatických podmínkách
  - sociální faktory, války, vyčerpání, hlad
  - společenský vývoj, cestování



# Zásady boje s infekčními chorobami

- **Opatření při výskytu nákazy**
  - včasná diagnóza a hlášení nemoci
  - izolace, hospitalizace, antibiotika
  - dezinfekce, epidemiologické šetření
  - opatření u zdravých v ohnisku nákazy
    - hygienická opatření, zdravotnický dohled, depistáž nosičů, imunizace, chemoprolaxe
- **Opatření preventivní**
  - hygienická, očkování, evidence bacilonosičů, opatření proti zavlečení infekce do kolektivu, zdravotnická výchova

# Preventivní přístup

- již koncem 19. století ve vyspělých zemích klesal počet úmrtí vyvolaných infekcemi
  - zajištění nezávadných zdrojů vody, účinná kanalizace, zvýšení hygienické úrovně při přípravě a skladování potravin
  - zlepšování bytových podmínek, likvidace brlohů
  - možnost dostatečné výživy
  - zlepšení hygienických podmínek

# Nozokomiální nákazy

- vzniklé v souvislosti se zdravotními výkony
- vzniklé po 48 – 72 hodinách hospitalizace
  - exogenní
  - endogenní
    - primární
    - sekundární

# Kolonizace

- přítomnost potenciálně patogenních mikroorganismů ve dvou nebo více následujících vzorcích odebraných ve dvoudenních intervalech, **bez klinických známek infekce**

# Nejčastější nozokomiální nákazy

- infekce močových cest
- ranné infekce
- pneumonie
- infekce krevního řečiště

- snížená imunita
- porušení bariér
- polyrezistentní kmeny
  - MRSA (methicilin rezistentní *S. aureus*)
  - VRE, LRE (vankomycin rezistentní *Enterococcus*, linezolid rezistentní)
  - ESBL (enterobakterie, *E. coli*, *Klebsiella* sp.)
  - multirezistentní gramnegativní kmeny (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Serratia*)
  - karbapenemázy, metalobetalaktamázy
  - CLDI

# Opatření při vzniku NN

- bariérový ošetrovatelský režim
  - izolační pokoj, označení pokoje
  - vlastní pomůcky (teploměr, fonendoskop)
  - jednorázové rukavice a důsledné mytí a dezinfekce rukou personálu
- poučení pacienta i příbuzných
- záznam do propouštějící nebo překladové zprávy