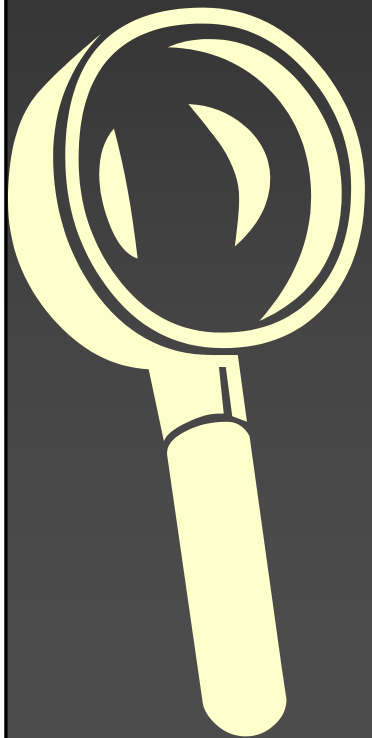


Mikrobiologický ústav uvádí

# NA STOPĚ PACHATELE



Díl dvanáctý:

Spolupráce při pátrání aneb  
Klinická mikrobiologie I

# Opět začneme testíkem...

## ■ Které jsou cíle mikrobiologické diagnostiky?

1. odhalit patogena (+ 2. citl. na antimikr. látky)

## ■ Co prokazujeme přímými diagn. metodami?

Mikroba, jeho součást či jeho produkt

## ■ Jaký je rozdíl mezi vzorkem a kmenem?

Vzorek = to, co je zasláno k vyšetření. Kmen = izolát, čistá kultura stejných buněk

## ■ Kterou metodou jsme schopni získat kmen?

Pouze kultivací mikroba na pevné půdě

# Testík pokračuje... a končí

- Jaké skupiny parazitů znáte?

Prvoci, hlístice, motolice, tasemnice,  
ektoparazité – členovci

- Které metody užitíme při diagnostice rouků?

Grahamovu metodu. Či Kato + Faust (stolice)

- Jaké dvě možnosti jsou pro dg. trichomonád?

1. zaslání soupravy C. A. T., 2. sklo → Giemsa

- Kteří parazité se zpravidla prokazují nepřímě?

Parazité tkáňoví, hlavně toxoplasmy (toxoplasmata)

# Na úvod (materiál se přijímá i o Vánocích)



# Příběh první a dnes jediný – 1

- Petr pořád kašlal, tak navštívil lékaře. Lékař mu chtěl rovnou předepsat antibiotika, pak si ale vzpomněl, jak ho mikrobiologové nabádali, ať provede vyšetření. Tak udělal výtěr z krku. Našel se v něm *Haemophilus influenzae*, citlivý na cefuroxim. Petr začal užívat Zinnat.

# Příběh první a dnes jediný – 2

- Petrův stav se však nezlepšoval. Petr se naštvál a navštívil známého lékaře na plicním. Byla provedena **serologie respiračních virů** a nalezeny **vysoké titry protilátek proti *Mycoplasma pneumoniae***. Petr začal **užívat Sumamed** a brzo je jeho stav výrazně zlepšil.

# Viníkem bylo nejen *Mycoplasma pneumoniae*, ale i

## ■ obvodní lékař X. Y., protože:

- správně si vzpomněl, že je většinou dobré před nasazením antibiotik zjistit **původce a antibiotickou citlivost**
- udělal však **chybu v rozhodování, jaké vyšetření je v daném případě indikováno**
- mělo být zasláno **sputum**, a při negativitě kultivace (nebo při indicích ukazujících spíše na typickou než klasickou pneumonii) případně **srážlivá krev na serologii respiračních virů**
- Všimněte si, že jsou i případy, kdy makrolidy jsou správné řešení dané situace (ač jinak autor těchto řádků spíše brojí proti jejich nadužívání)

# Co je to klinická mikrobiologie

- **Klinická mikrobiologie „sensu lato“** je lékařská mikrobiologie – tedy ta část mikrobiologie, která se týká mikrobiálního osídlení člověka a lidských patogenů
- **Klinická mikrobiologie „sensu stricto“** popisuje vlastní procesy mezi klinickým pracovištěm a laboratoří, jakož i organizaci vlastního laboratorního vyšetření



# Proces mikrobiologického vyšetřování – na všem záleží!!!

KLINIK

LABORATOŘ

Indikace vyšetření – zda, jaké

P 12

Vlastní provedení odběru

Transport materiálu

P 13

Rozhodnutí, jak zpracovat

Vlastní zpracování materiálu

Zaslání výsledku

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

# 1A Indikace – ZDA provést

- Hlavním klíčem k úspěchu je zpravidla položit si otázku **co udělám jinak v závislosti na výsledku vyšetření.**
- Pokud zjistím, že ať vyjde vyšetření jakkoli, **bude můj další postup ve vztahu k pacientovi stejný,** je vyšetření pravděpodobně **zbytečné**
- Toto ale neplatí u **epidemiologických indikací** a také u **profylaktických indikací** (jako je skríníng mikrobiálního osídlení pacientů v těžkém stavu)

# 1A Indikace – CO provést

- Rozhodnutím, že chci provést vyšetření, to zdaleka nekončí. Musím se ještě rozmyslet, **jaké vyšetření se rozhodnu provést.**
- Musím znát **spektrum patogenů a možnosti jejich vyšetření**
- Součástí je také **rozhodnutí o tom, jak** technicky se odběr provede, do jaké nádobky či odběrové soupravy a podobně

# Tři typy patogenů (1)

- Patogen typu *Streptococcus pyogenes*.  
Nemusím vědět, že myslím zrovna na tohoto patogena, ale musím přesně vědět, kde je jeho předpokládaná lokalizace.
- Patogen typu *Mycobacterium tuberculosis*.  
Musím vědět, kde patogena hledám, a zároveň i to, že hledám právě tuto skupinu patogenů.
- Patogen typu *Toxoplasma gondii*. Nemusím vědět, kde se patogen v těle nachází, ale musím vědět, že hledám právě jeho.

# Tři typy patogenů (2)

- Patogen typu *Streptococcus pyogenes*. Týká se kultivovatelných bakterií a kvasinek, tedy mikrobů z témat P 01 až P 06 a zčásti P 10
- Patogen typu *Mycobacterium tuberculosis*. Stále je to přímý průkaz, ale speciální postupy, při běžné kultivaci se nezachytí. Týká se zejména mikrobů z P 07, P 08, P 11.
- Patogen typu *Toxoplasma gondii*. Nepřímý průkaz, event. přímý průkaz virového antigenu. Týká se spirochet z P 09, virů z J 12 a J 13, ale i některých dalších (třeba zrovna toxoplasmy).



## 2 Vlastní odběr vzorku

## 3 Transport vzorku do laboratoře

- Tyto fáze nelze oddělit – odběr je nutno činit již se zřetelem na transport materiálu do laboratoře
- V zásadě existují tři typy vzorků:
  - Výtěry a stěry na tamponech
  - Tekuté a kusové vzorky, zasílané v nádobkách (zpravidla sterilních)
  - Jiné a speciální případy, viz dále
- Nelze zapomenout na správné vyplnění průvodky

# Jiné typy odběrů než „výtěrovky“ a odběrové nádoby

- **nátěr na podložní sklíčko:** kapavka, aktinomykóza apod.
- **v kožním lékařství otisky** přímo na kultivační půdu, která je pro tento účel nalita až po okraj Petriho misky
- **urikult** – zvláštní způsob zasílání moče na půdu; z.různých důvodů se příliš neujalo.
- **rychlé diagnostické soupravy**, většinou založené na přímém průkazu antigenu; jednoduchá manipulace, dostupná i pro nemikrobiologický personál. Při pochybách o výsledku použít klasické zaslání do laboratoře.



# Průvodka 1

- Správně vyplněná průvodka je velice důležitá!
- **Osobní údaje:** podstatné kvůli pojišťovně, ale i kvůli identifikaci, komu poslat výsledek apod.
- **Přesný popis materiálu a požadovaného vyšetření**
  - nepsat pouze „výtěř“, když není jasné, odkud
  - ani „stěr z rány“ nestačí (jaká rána, kde lokalizována)
  - Katetrizovaná moč × moč z permanentního katetru
  - uvést, zda je požadováno např. anaerobní vyšetření
  - nepožadovat vyšetření, které nelze provést nebo nemá smysl (např. serologické vyšetření TBC)

# Průvodka 2 – co uvést

- **skutečnou diagnózu**, je-li více, napsat tu, která souvisí s vyšetřením, popř. všechny /např. (1) diabetes mellitus, (2) poševní výtok/
- **akutní / chronický stav / kontrola po léčbě**
- uvést stávající nebo uvažovanou **antibiotickou terapii**, případně i alergii na antibiotika

# Průvodka 3 – co ještě uvést

- cestovatelská anamnéza – návrat z tropů
- pracovní anamnéza – práce v zemědělství aj.
- u serologických vyšetření datum prvních příznaků, první / druhý vzorek
- u gynekologických materiálů fázi menstruačního cyklu
- v případě mimořádných vzorků se dohodnout, telefonicky

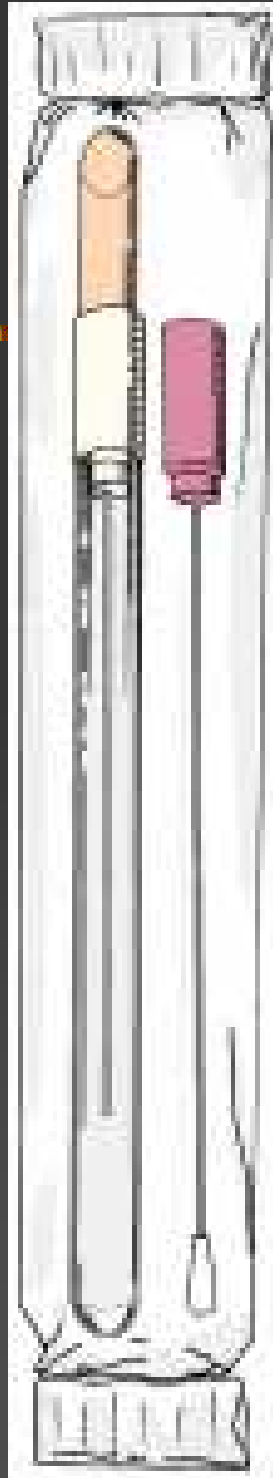
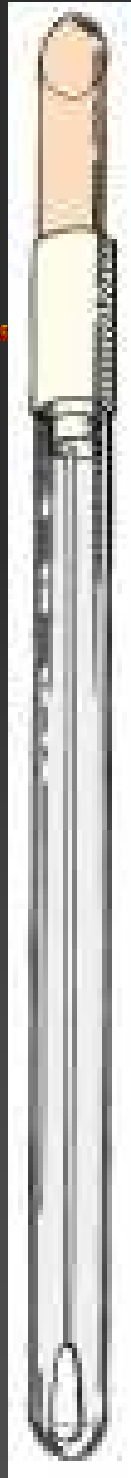
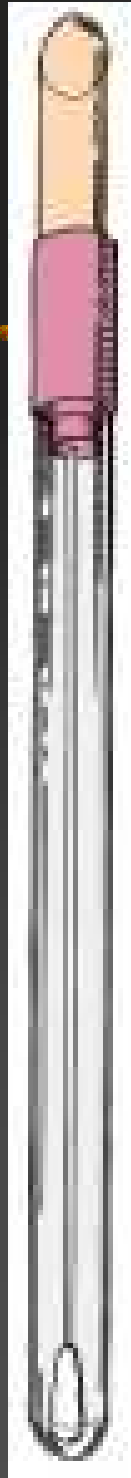
# Úkol 1 Výtěry a stěry



- Dnes již prakticky **neexistuje kultivační indikace suchého tamponu** bez transportního média. Tento tampon je indikován prakticky výhradně pro vyšetření metodou PCR a některé průkazy antigenů
- Používají se tedy **transportní média**. Na bakteriologii je to zpravidla médium Amiesovo (na obrázku)
- **Speciální média** vyžadují houby (Fungiquick), houby + trichomonády z genitálií (C. A. T.), viry, chlamydie
- Potřebuji-li se dostat „za roh“, použiji **tampon na drátu a nikoli na špejli**.

# Některé odběrové soustavy

- zleva:
  - CAT
  - FungiQuick
  - souprava na chlamydie
  - suchý tampon s drátem



# Odběrové soupravy ještě jednou



# Úkol 2: odběr stolice

- Na bakteriologické vyšetření postačuje **výtěr z řitního kanálu v Amiesově médiu**
- Na mykologické vyšetření totéž, ale **ve Fungiquicku**
- Na parazitologické vyšetření je nutno zaslat **vzorek stolice velikosti lískového ořechu**. Nádobka, ve které je zasílán, nemusí být výjimečně sterilní.
- Na virologického vyšetření se rovněž posílá **kusová stolice, a to při teplotě kolem 0 °C**.

# Před třetím úkolem:

## Tekutý vzorek, nebo výtěr?

- Přednost má zpravidla zaslání tekutého/kusového materiálu před pouhým zasláním stěru/výtěru.
- Existují četné výjimky, např.
  - v bakteriologii se zpravidla používá výtěr z řitního kanálu namísto kusové stolice (i když zaslání kusové stolice v zásadě není chyba)
  - stěr z urethry je u kapavky doporučován spíše než zaslání vzorku moče

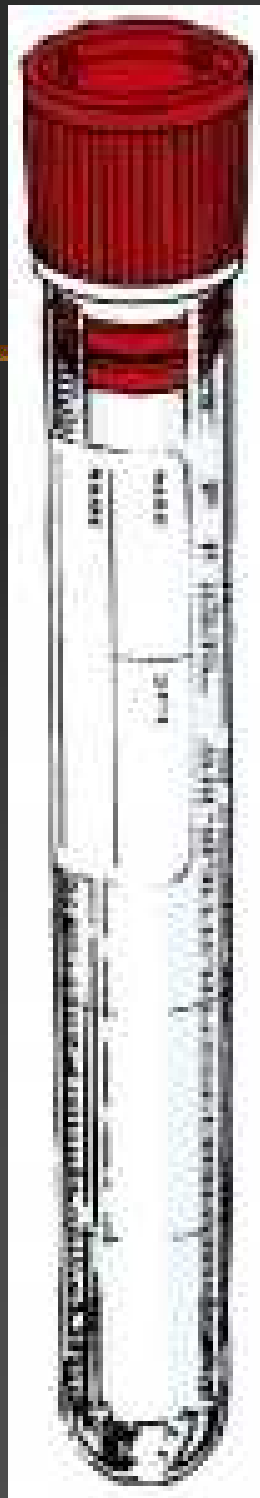


# Úkol 3 – odběrové nádoby

- Odběrové nádoby se používají **na kusové a tekuté vzorky**. Na rozměrech fakticky příliš nezáleží, stejně tak barva uzávěru nemá samozřejmě reálný dopad. Má však někdy význam organizační – záleží na dohodě v rámci konkrétní laboratoře
- U anaerobní kultivace je lépe zaslat přímo stříkačku s jehlou zabodnutou do sterilní gumové zátky
- Vzorky se snažíme vždy **dopravit do laboratoře co nejdříve**, zásadní je to však u moče – do dvou hodin

# Příklady nádobek

- Vlevo klasická zkumavka, např. na sérum, vpravo kontejner na střevní parazity



# Než se vrhneme na čtvrtý úkol

## Základní pojmy kolem sepsí

- **Sepse** je stav, kdy bakterie vyvolaly infekci krevního řečiště, s vysokými horečkami, rozvratem metabolismu a spoustou dalších klinických projevů
- **Bakter(i)émie** je jakákoli přítomnost bakterií v.krvi, tj. i taková, které je přechodná a pro organismus vůbec nic neznamena
- **Pseudobakter(i)émie** je stav, kdy jsou bakterie v krvi přítomny jen zdánlivě (špatně provedené vyšetření krve, zpravidla kožní kontaminace).

# Druhy sepsí

- **Primární sepse** – některé bakterie mají sepse „v popisu práce“, třeba tyfové salmonely nebo do jisté míry i meningokoky
- **Sekundární sepse** – sepse následující po předchozím postižení nějakého orgánu
- **Zvláštní typy sepsí:**
  - urosepse – sepse při onemocnění ledvin
  - katetrová sepse jako nozokomiální onemocnění

# Sepse – klinický obraz

- nestabilní tělesná teplota
- porucha svalového tonu
- nesnášenlivost stravy, průjem
- poruchy dýchání – zrychlené, nepravidelné, dechové pausy, selhání
- poruchy krevního oběhu – zrychlený či zpomalený puls, pokles TK, apod.
- často žloutenka, hyper/hypoglykemie, metabolický rozvrat, krvácení, nervové příznaky apod.

# Úkol č. 4 – hemokultivace

- Jedná se o **nesrážlivou krev**, principiálně zcela odlišné vyšetření než vyšetření serologická
- Dnes zpravidla odběr do **speciálních lahviček** pro automatickou kultivaci
- Nutno odebrat **dvě, ale ještě lépe tři hemokultury** při vzestupu teploty
- Ideálně **pokaždé z nového vpichu**, nebo aspoň jedna venepunkce + centrální žíla + periferní žíla (odlišení bakteriémie od kolonizace vstupu)

# Zásady odběru krve

- **Odebírat asepticky!!!** Nejen kvůli pacientovi, ale i kvůli vzorku. Nestačí očistit kůži benzinem, nutná desinfekce
- **Desinfekci nechat působit dostatečně dlouho**, u alkoholových prostředků do zaschnutí (nechat skutečně zaschnout)
- **Nejlépe použít tři stejné hemokultivační nádoby**. Případně doplnit např. jednou anaerobní
- **Hemokultury popsat**, nezapomenout na čas odběru

# Druhy kultivačních nádobek

- Existují **různé typy** podle toho, které mikroby mají být především zachyceny (aerobní, anaerobní, kvasinky)
- **Některé nádobky („FAN“)** obsahují **aktivní uhlí**. Jsou určeny ke kultivaci krve pacientů, kteří už berou antibiotika (klasická lahvička by mohla dát falešně negativní výsledek – antibiotikum by potlačilo růst)

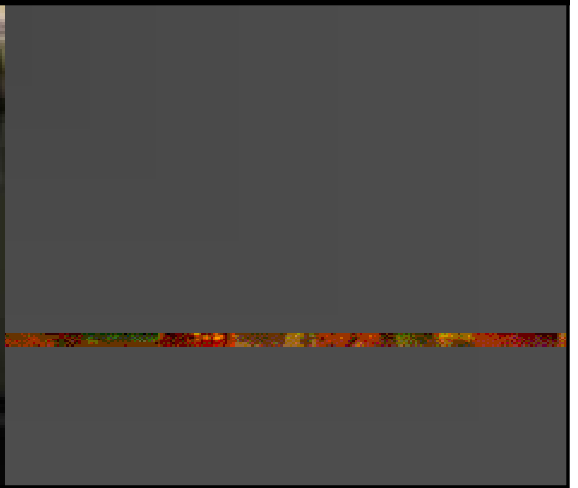
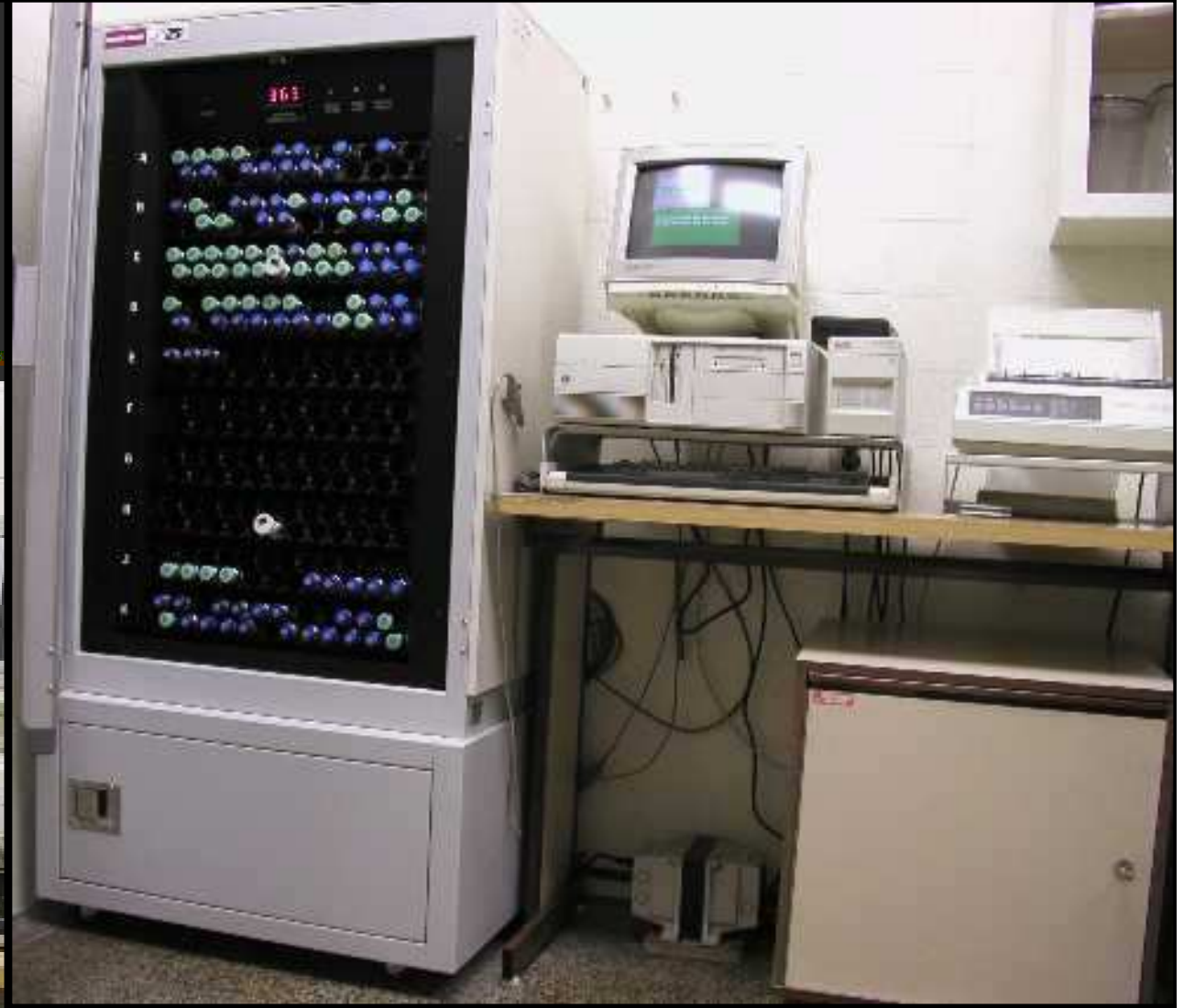




# Fungování kultivátorů

- Kultivátor, napojený na počítač, automatický udržuje optimální podmínky kultivace, a zároveň vyhodnocuje stav nádoby a indikuje případný růst (např. změna tenze  $\text{CO}_2$ )
- Růst je zvukově a opticky signalizován. Pokud ani po týdnu nic neroste, signalizuje to přístroj také (je třeba expedovat negativní výsledek)

# Hemokultivátor



# Když je hemokultura pozitivní...

- Lahvička je vyjmuta z přístroje
- Je nutno zaevidovat čas, resp. dobu od příjmu do positivity. Čím delší je tato doba, tím je pravděpodobnější, že jde o kontaminaci
- Provádí se vyočkování na pevné půdy, nátěr na sklo barvený Gramem a podle jeho výsledku zpravidla „napřímo“ orientační diskový test citlivosti; místo standardní suspenze se použije přímo tekutina z lahvičky → není spolehlivé

# Další postup

- Je třeba počítat s tím, že **testy „napřímo“ jsou jen orientační**, už pro nestandardní obsah bakterií v jednotlivých krvích. Zpravidla se proto v dalším kroku provádí **řádné vyšetření citlivosti**
- Výjimkou jsou **případy, kdy jde asi o kontaminaci** (pozitivní jen jedna hemokultura ze tří, nebo pozitivní všechny, ale evidentně různé kmeny, pozitivita až za delší dobu, koaguláza negativní stafylokoky)

# Spolupráce laboratoř - oddělení

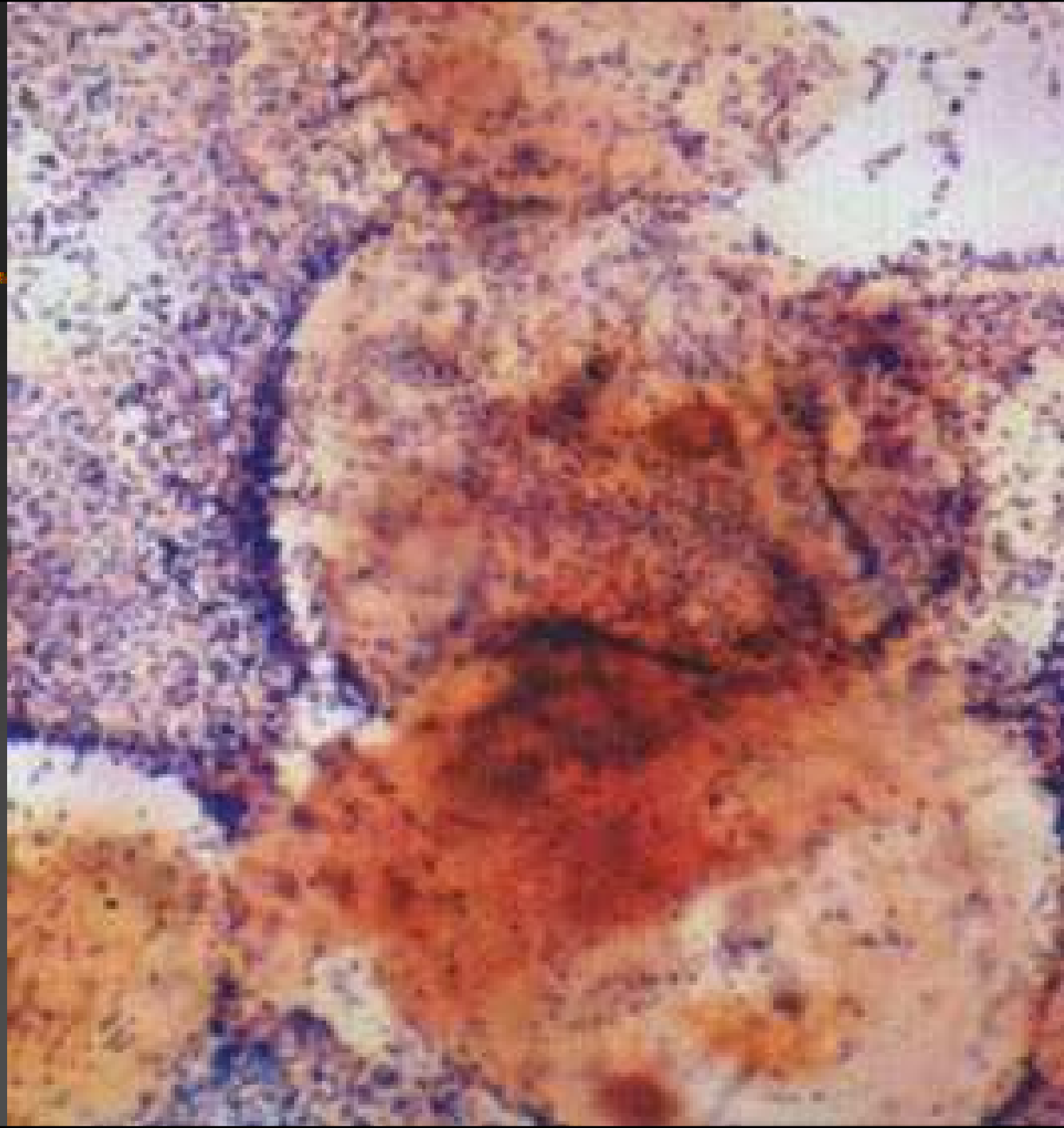
- Laboratoř se snaží v průběhu vyšetření **spolupracovat s oddělením**, nejlépe formou telefonického hlášení, zasílání mezivýsledků (i v případě negativních hemokultur) apod.
- Užitečná je také **dlouhodobá evidence pozitivních nálezů** v rámci soustavného sledování nozokomiálních nákaz.
- **Konkrétní formy spolupráce** je třeba dohodnout vždy individuálně

# Úkol 5

## MOP – mikrobiální obraz poševní

- Posílají se **dvě sklíčka**. Jedno se obarví dle Grama, druhé dle Giemsy (hlavně kvůli trichomonádám)
- Hodnotí se jednak **kvantita jednotlivých útvarů**, jednak **celkový vzhled** preparátu
  - MOP I – tzv. normální obraz zdravé ženy
  - MOP II – bakteriální nehnisavý (i fyziol.)
  - MOP III – bakteriální hnisavý
  - MOP IV – kapavka
  - MOP V – trichomonóza
  - MOP VI – kvasinková infekce

# MOP bakteriální vaginóza



# Nashledanou při dalším dílu!

Dnes použity obrázky z [www.medmicro.info](http://www.medmicro.info)  
a z jiných

