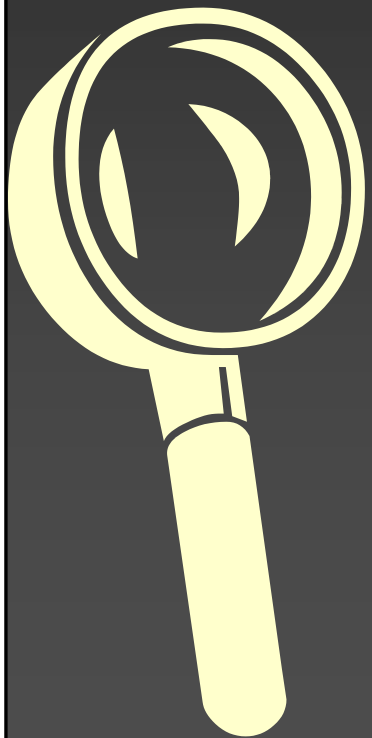


Mikrobiologický ústav uvádí

NA STOPĚ PACHATELE

Díl třináctý:

Spolupráce při pátrání aneb
Klinická mikrobiologie II



Opět začneme testíkem...

■ Které jsou cíle mikrobiologické diagnostiky?

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

■ Co prokazujeme nepřímými dg. metodami?

Protilátky proti mikrobovi

■ Které bakterie nezachytí běžná kultivace?

Například anaeroby, mykobakteria, spirochety, mykoplasmata, chlamydie, ale ani kapavku

■ Který materiál je nutno dopravit nejrychleji?

Moč – do dvou hodin po odběru

Testík pokračuje... a končí

- Jak se odebírá stolice na různá vyšetření?

Výtěr postačuje u bakteriologie a mykologie.

Kusový vzorek nutný u virů a parazitologie.

- Je na kapavku nutná speciální transp. půda?

Není – běžná Amiesova je zcela dostačující

- Proč se u vyšetření MOP posílají dvě sklíčka?

Jedno se barví Gramem, druhé Giemsou

- Kdy se v mikrobiologii posílá jaká krev?

Nesrážlivá na hemokultivaci, srážlivá k serologii

Na úvod (Vánoce v laboratoři)



Příběh první a dnes jediný

- Nicol škrábalo v krku, a tak zašla k lékaři. Lékař provedl výtěr z krku, ale byla nalezena pouze běžná flóra. Lékaři se to nezdálo, protože dle CRP i zvýšeného počtu polymorfonukleárů vše nasvědčovalo hnisavé bakteriální infekci.
- Když se lékař zeptal Nikol, jestli praktikuje orální sex, nejdříve se rozčílila, ale pak, červenajíc se, připustila, že ano, a dokonce před časem i s mužem, na kterého by dnes raději zapomněla. Lékař provedl nový odběr, tentokrát s poznačením, že jde o vyšetření na kapavku. A nemýlil se.

Viníkem byla pouze *Neisseria gonorrhoeae*

- Obvodní lékař tentokrát nic nezanedbal, gonokoková faryngitida zase není tak běžná, aby se po ní rutinně pátralo při rutinní anamnéze. Pozitivní je, že se nenechal zviklat negativním výsledkem vyšetření.
- Lékař si totiž správně uvědomil, že **každý typ vzorku má v laboratoři své rutinní vyšetřovací schéma**. Toto schéma platí vždy, nejsou-li vyřčeny speciální požadavky. Je-li tedy důvod ke speciálnímu vyšetření, je nutno je vyznačit na průvodce.

Zopakujme si:

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)

4 Rozhodnutí, jak zpracovat

- Je dáno standardními operačními postupy (SOP). Pro každý typ vzorku je dáno v SOP, jak má být vzorek zpracován a jaké metody na něj mají být aplikovány
- Ne vždy je ovšem vše dáno SOP. Zvláště ve vzácných a mimořádných případech je na rozhodnutí zkušeného laboranta či VŠ mikrobiologa, jak vzorek zpracovat
- V důležitých případech není naprosto chybou zatelefonovat do laboratoře a domluvit se.

5 Vlastní zpracování (1)

- Vlastní zpracování zpravidla zajišťují laboranti, dříve se SŠ vzděláním, nyní s VOŠ nebo Bc. stupněm vysoké školy
- Postupuje se vždy přísně asepticky, aby se omezilo riziko laboratorní kontaminace. Práce v biohazard boxu je zároveň i dobrou prevencí profesionálních nákaz



5 Vlastní zpracování (2)

- Zpracování obvykle zahrnuje následující
 - před vlastním zpracováním se některé vzorky homogenizují, centrifugují či jinak upravují
 - u některých typů vzorků rychlé postupy – mikroskopie, popř. přímý průkaz antigenu
 - téměř vždy je základem kultivace na několika pevných půdách
 - někdy též pomnožení v tekuté půdě (v případě výtěrů ze spojivky POUZE tento bod)

6 Zaslání výsledku

- Výsledek je zaslán poté, co je dokončen **diagnostický proces**. Někdy je poslán předběžný výsledek („mezivýsledek“) po ukončení aerobní kultivace s tím, že to, co trvá delší dobu (kultivace kvasinek, anaerobů apod.) bude případně zasláno dodatečně
- Výsledek **už v sobě zahrnuje kus interpretace**: mikrobiolog se vyjadřuje k evidentním kontaminacím, náhodným nálezům, běžné flóře, komentuje nález v poznámce

7 Interpretace

- **Definitivní interpretace nálezu je ovšem v rukou klinika.** Pouze on, nikoli mikrobiolog, totiž drží v rukou vedle mikrobiologického nálezu také biochemický, rentgenový, ultrazvukový, a především zná pacienta – vypáčil z něj anamnézu, vyšetřil jej, popřípadě (u obvodních lékařů) jej zná dlouhodobě.
- Samozřejmě, **konzultace klinika a mikrobiologa je u závažných případů velice vhodná.** Na druhou stranu nelze konzultovat každý nález.

Přehled běžné flóry

Kůže, nos, boltec, zevní zvukovod, kožní adnexa	Stafylokoky (i zlaté), korynebakteria, kvasinky
Hltan a ústní dutina	Ústní streptokoky a neisserie Hemofily, malá množství pneumokoků, meningokoků, anaeroby, nepat. treponem.
Tlusté (i tenké) střevo	Anaeroby, enterobakterie, enterokoky, <i>Entamoeba coli</i>
Vagina	Laktobacily, malá množství nejrůznějších mikrobů
Přechody (rty apod.)	Směs zástupců obou míst

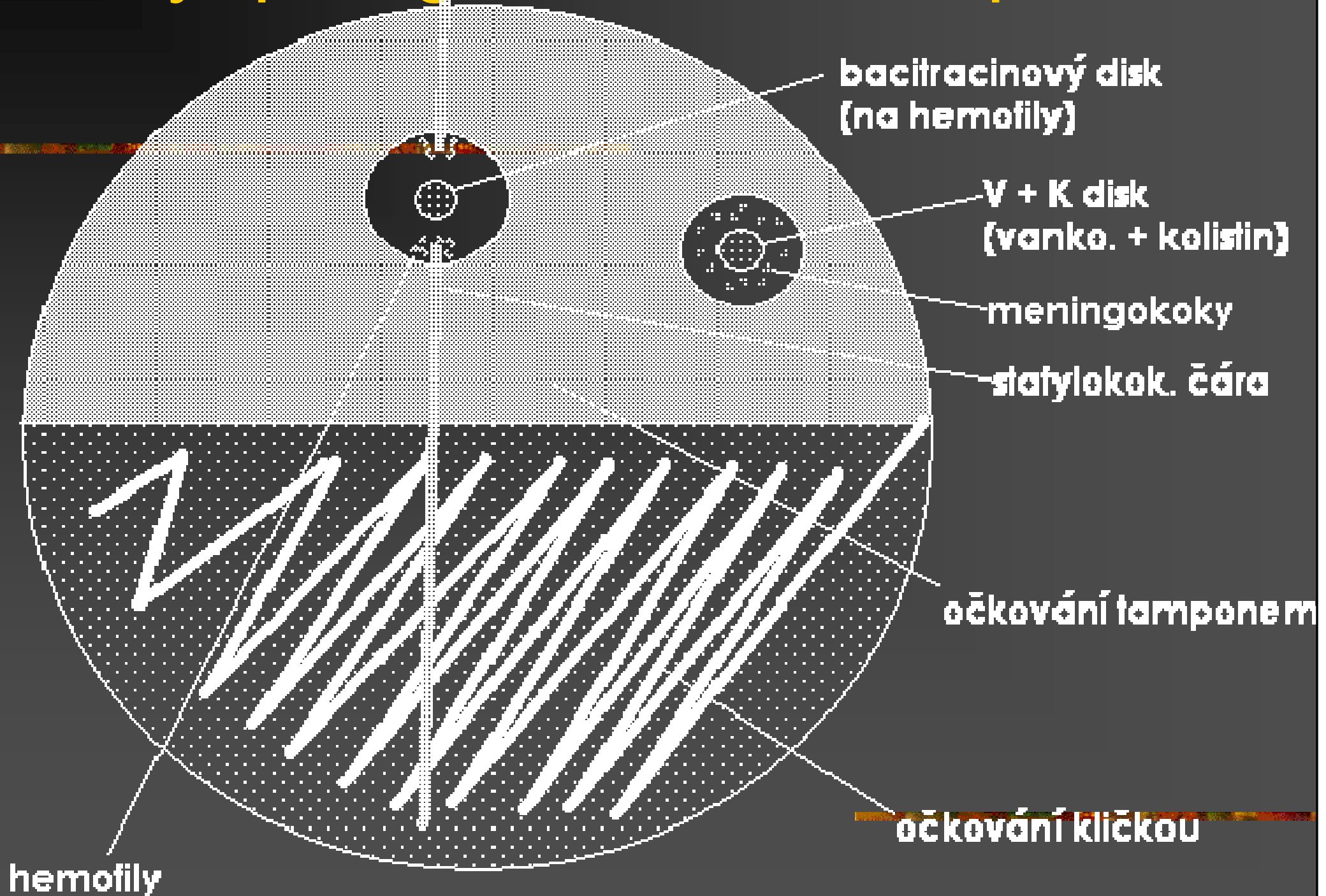
S čím si lze splést patogena

- **S kontaminací:** nejčastěji bakterie rodů *Bacillus*, *Micrococcus*, *Kocuria*, ale i malá množství stafylokoků, plísní a podobně
- **S náhodným nálezem:** u výtěrů z krku mikrob, který se tam dostal s potravou
- **S běžnou flórou:** týká se míst, která svou běžnou flóru mají

Jak najít patogena mezi běžnou flórou (zejména orofaryngeální)

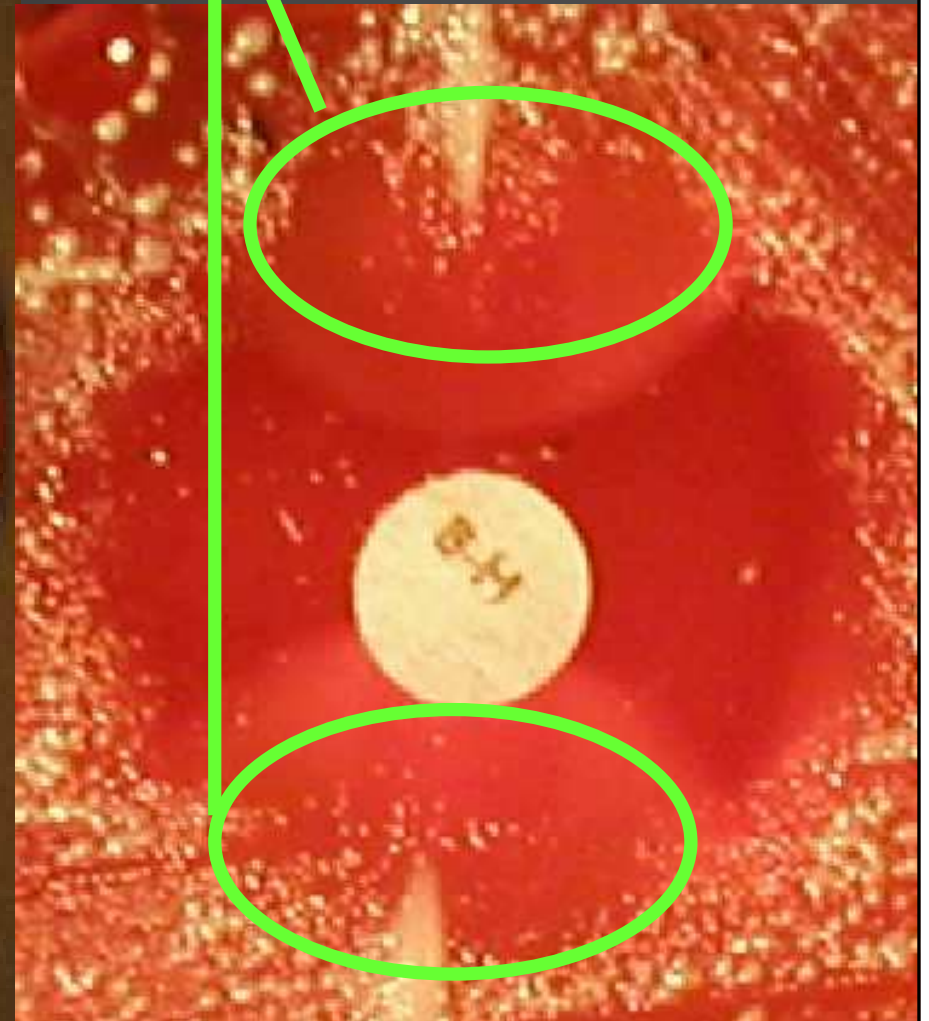
- Řada patogenů se projeví, například výraznou hemolýzou na krevním agaru
- Pokud se neprojeví, je často třeba běžnou flóru odclonit diskem s antibiotikem
 - Pro záchyt hemofilů se používá bacitracin – ve vyšší koncentraci než v bacitracinovém testu
 - Pro záchyt meningokoků se používá směs vankomycinu s kolistinem

Záchyt patogena v krku či sputu



Kultivační výsledek výtěru z krku s běžnou flórou

V těchto místech
pátráme po hemofilech



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



Vysvětlivky k dalším obrazovkám

- **KA** – krevní agar
- **EA** – Endův agar; většinou lze místo něj použít alternativně také McConkeyho agar
- **KA+AMIK** – krevní agar s amikacinem, selektivní pro streptokoky a enterokoky
- **NaCl** – KA s 10 % NaCl, selektivní pro stafylokoky
- **B** – bujón
- **MCh** – močová chromogenní půda (pro identifikaci nejběžnějších močových patogenů)

Úkol 1: Vyšetření sputa

Diagnostické schéma (1)

- **Den 0:** mikroskopie (Gramovo barvení)
- **Den 1:** výsledek primokultivace vzorku na KA, EA a NaCl. Je-li přítomna jen běžná flóra, EA se vyhodí a KA a NaCl se prodlužuje do dalšího dne. Případný patogen se určuje a testuje se jeho citlivost; je-li ho málo dělá se jeho izolace (kolonie se opatrně nabere kličkou a naočkuje se na celou miskou křížovým roztěrem tak, aby se určitě získal čistý kmen

Úkol 1: Vyšetření sputa

Diagnostické schéma (2)

- **Den 2:** expedice negativních výsledků (prohlížení „prodlužek“, jak říkáme u nás, či „dohřívek“, jak říkají v nemocnici na Homolce). Expedice většiny pozitivních výsledků, je-li bližší určení hotovo a test citlivosti uspokojivý. Není-li, nebo je-li hotova teprve izolace, „jede se dál“.
- **Den 3:** expedice většiny zbylých pozitivních výsledků (rezistentní, špatně určitelné, z izolací)
- **Den 4:** výjimečně expedice posledních výsledků

Sputum – možné nálezy

- **Běžná flóra:** V DCD sice není, ale při průchodu HCD vždy dochází ke kontaminaci ústními streptokoky a neisseriemi
- **Patogeny:** pneumokoky, pyogenní streptokoky, hemofily (klasické pneumonie). Původci atypických pneumonií většinou nejsou kultivovatelní. Ko-amoxicilin pokryje původce většiny klasických pneumonií; je ovšem otázkou, zda bylo správné začít hned atb s tak širokým spektrem

Praktická poznámka

- Malé, našedlé, skoro bezbarvé, s viridací, to jsou **ústní streptokoky**.
- Malé, nažloutlé, bez viridace, bez hemolýzy (nebo s nepatrně naznačenou hemolýzou), oxidáza pozitivní, to jsou **ústní neisserie**
- Pokud na misce vidíte ještě něco jiného, a zvláště pokud to „něco“ má výraznou hemolýzu, bude to asi **kýžený patogen**.

„Odečítání“ bakteriologie



Úkol 2: Výtěr z krku

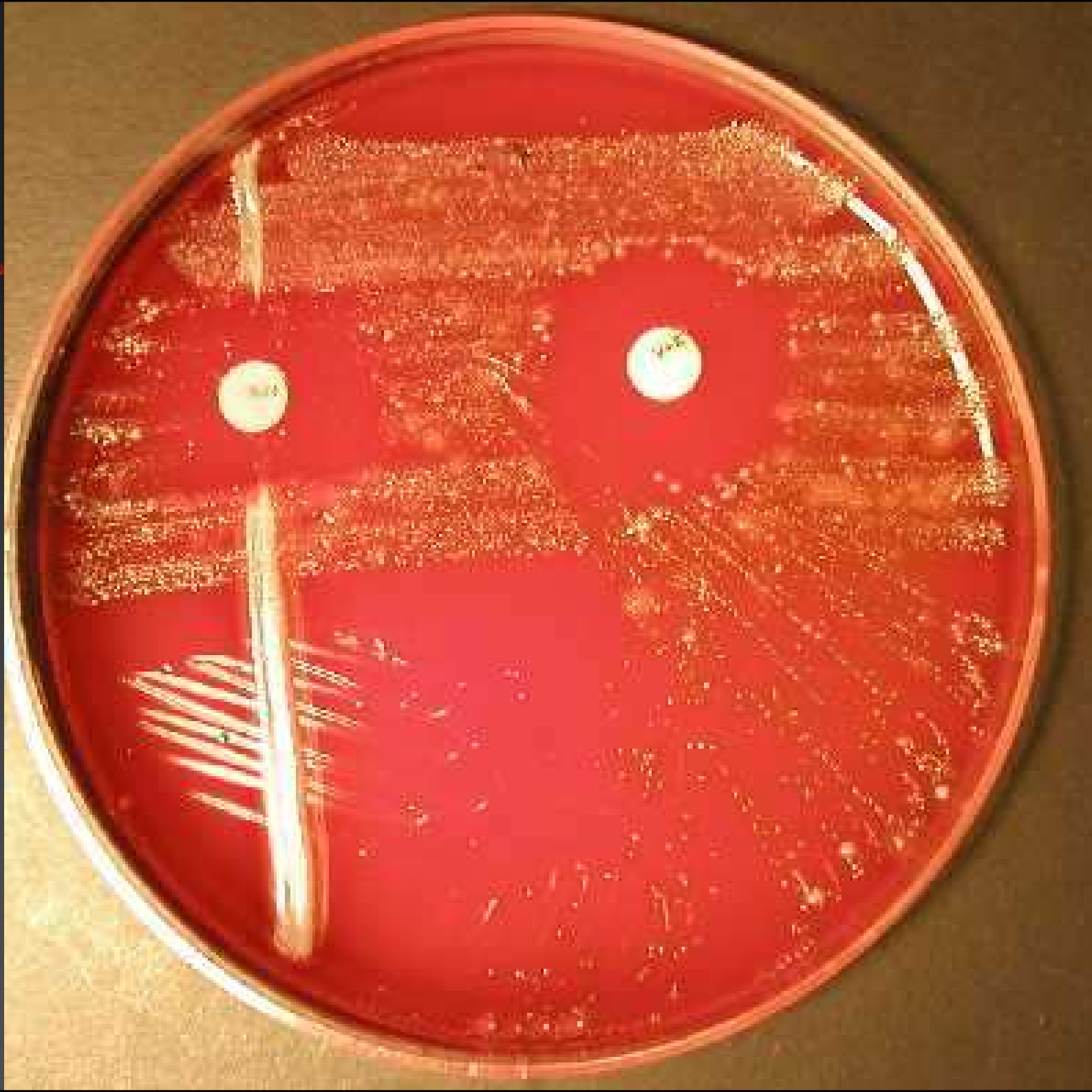
Diagnostické schéma

- **Den 0:** pouze nasazení kultivací
- **Den 1:** výsledek primokultivace vzorku na KA a EA. NaCl se zde nepoužívá. I v tomto případě se KA s běžnou flórou prodlužují
- **Den 2:** expedice všech negativních a většiny pozitivních výsledků
- **Den 3:** expedice téměř všech zbylých pozitivních výsledků

Farynx – možné nálezy

- **Běžná flóra:** Ústní streptokoky a neisserie; hemofily (hlavně *H. parainfluenzae*), za normální se považuje i malé množství aureů, pneumokoků, meningokoků, moraxel apod. Další součásti běžné flóry (anaeroby, spirochety) se při běžné kultivaci neodhalí
- **Patogeny:** pyogenní streptokoky, arkanobakteria; často se nenajde nic a původ je virový (EB viry a jiné)

Výtěr z krku – běžná flóra
plus pyogenní streptokok



Úkol 3: Výtěr z rány

Základní diagnostické schéma

- (Liší se dle lokalizace rány a dalších okolností)
- **Den 0:** pouze nasazení kultivací
- **Den 1:** výsledek primokultivace vzorku na KA, EA, NaCl a KA+AMI. V případě negativity všech pevných půd se prohlíží B, je-li zakalený, vyočkovává se (tzv. subkultivace)
- **Den 2:** expedice všech negativních a mnohých pozitivních výsledků – pro komplikace, rezistence apod. ovšem zdaleka ne všech
- **Den 3:** expedice dalších pozitivních výsledků

Výtěr z rány

- **Běžná flóra:** žádná není, vše, co se najde, se považuje za patogena (pro jistotu i to, o čem máme pochybnosti, není-li to kontaminace)
- **Patogeny:** všechno možné, od stafylokoků přes streptokoky a pseudomonády až po anaeroby u břišních ran a pasterurelly u ran po pokousání psem. Proto se doporučuje s atb léčbou vyčkat až po alespoň předběžném výsledku kultivace

Úkol 4: Moč

Základní diagnostické schéma

- **Den 0:** pouze nasazení kultivace
- **Den 1:** výsledek primokultivace vzorku na KA a EA či MCh, expedice všech negativních, testování patogenů
- **Den 2:** expedice pozitivních, je-li dostatečná citlivost a uspokojivé bližší určení
- **Den 3:** expedice dalších pozitivních výsledků



Moč

- **Běžná flóra** sice není, ale u starších osob je často přítomna bezpříznaková bakteriurie, kterou u těchto osob není nutno léčit
- Za **pravděpodobnou kontaminaci** (či náhodný nálezn) považujeme vše v množství do 10^4 / ml, vše v množství do 10^5 / ml při dvou různých bakteriích a úplně vše při třech a více bakteriích
- **Z patogenů** jsou nejběžnější enterobakterie, enterokoky, *S. agalactiae*, stafylokoky a další

Nashledanou při opakování!

Dnes použity obrázky z www.medmicro.info
a z jiných

