

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 zaslání moče jsou správně/špatně.

Vyšetření moče je vhodné u nekomplikované a nezbytné u komplikované cystitidy <input type="checkbox"/> správně <input type="checkbox"/> špatně
Mikrobiologové doporučují použití katetrizované moč jako rutinní způsob odběru moče na bakteriologické vyšetření <input type="checkbox"/> správně <input type="checkbox"/> 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) <input type="checkbox"/> správně <input type="checkbox"/> špatně
Zevní ústí uretry je třeba před odběrem na bakteriologické vyšetření pečlivě omýt, případně i lehce desinfikovat <input type="checkbox"/> správně <input type="checkbox"/> špatně
Nádobka, do které pacient močí, musí být sterilní <input type="checkbox"/> správně <input type="checkbox"/> špatně
Zkumavka, ve které se posílá moč, musí mít žlutý uzávěr <input type="checkbox"/> správně <input type="checkbox"/> 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 <input type="checkbox"/> správně <input type="checkbox"/> špatně
Moč z permanentního katetru má v bakteriologické diagnostice stejný význam jako moč katetrizovaná přímo za účelem vyšetření <input type="checkbox"/> správně <input type="checkbox"/> špatně
Vzorek moče musí být dodán do laboratoře do dvou hodin po odběru. Pokud to není možné, je nutno jej uchovat v ledničce <input type="checkbox"/> správně <input type="checkbox"/> špatně
Vzorek moče je při diagnostice kapavky lepší než výtěr z močové trubice <input type="checkbox"/> správně <input type="checkbox"/> 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 očkovan 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			

Kód pojišťovny 1 1 1	peřaduje díl A	IČP 7 2 1 2 3 4 5 6	Datum 7 8 9 1 5 : 1 2 0 8	Čís. dokladu	Poř. č.
POUKAZ NA VYŠETŘENÍ / OŠETŘENÍ					
Pacient Karolína Červená	Dg.: Akutní cystitis		IČP		
Č. pojištěnce *1956	Variabilní symbol		Odbornost	Var. symbol	Poč.
Odeslán ad:	Kód náhrady		Datum	Kód	Poč.
Požadováno: moč běžně odebraná na bakteriologické vyšetření					
Poznámka: 72 Dr. Mikrob Strašlivý 123 praktický lékař 456 G. v. z. 8. Brno razítko a podpis lékaře					
Dne:			razítko a podpis		

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					

Pacientka: Karolína Červená *1952 Dg.: akutní cystitis			
Vzorek: moč běžně od. Objednavatel: Dr. Mikrob Strašlivý			
Růst na krevním agarů:	Růst na Endově agarů	Závěr:	Interpretace:
Kvantita	Výsledek Enterotestu 16		

Test citlivosti na antibiotika

Ampicilin AMP	R < 14 S ≥ 14		Tetracyklin* TE	R < 12 S ≥ 15	
Cefalzolín KZ	R < 14 S ≥ 18		Cefuroxim CXM	R < 18 S ≥ 18	
Ko-trimoxazol SXT	R < 13 S ≥ 16		Norfloxacin NOR	R < 19 S ≥ 22	
Nitrofurantoin F	R < 11 S ≥ 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	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	nitrofurantoin* ofloxacin	amoxicilin linezolid
Asymptomatická bakteriurie (ABU) ostatní situace	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Enterococcus sp.</i>	bez léčby nitrofurantoin	bez léčby cefuroxim
Akutní nekomplikovaná cystitida (komunitní, tj. „ne-nozokomiální“)	<i>Clostridium sp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	ciprofloxacin nitrofurantoin	ko-trimoxazol (ko-)amoxicilin vankomycin cefuroxim
Akutní pyelonefritida	<i>Escherichia coli</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus sp.</i>	(ko-)amoxicilin cefuroxim nitrofurantoin	ko-trimoxazol ofloxacin imipenem

*kromě prvního trimestru a druhé poloviny třetího trimestru

Infekce pohlavních cest

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

Najděte vhodné výtěrky 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.

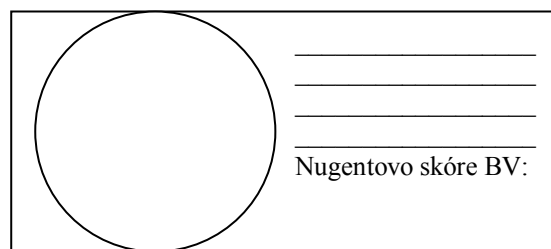
Bakteriální vaginóza
Aerobní vaginitida
Poševní mykóza
Kapavka

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 zaslána 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).



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 morfolotypu <i>Lactobacillus</i>	Přítomnost morfolotypu <i>Gardnerella/Bacteroides</i>	Přítomnost morfolotypu <i>Mobiluncus</i>
0	++++	–	–
1	+++	+	+ nebo ++
2	++	++	+++nebo +++++
3	+	+++	
4	–	++++	

A tak každý nátěr může získat 0 až 4 body za morfolotyp *Lactobacillus* (čím více bakterií tohoto morfolotypu, tím **méně** bodů), 0 až 4 body za morfolotyp *Gardnerella/Bacteroides* (čím více bakterií tohoto morfolotypu, tím **více** bodů) a 0 až 2 body za morfolotyp *Mobiluncus* (čím více bakterií tohoto morfolotypu, 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 stafylokoky)
- **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 vidáme 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 *Gardnerella* 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 anaerobních 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	Laktobacily, malá množství koagulázanegativních stafylokoků, velmi malá množství enterobakterií	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> a mnoho jiných	
Endova půda	Žádný nárůst, nebo jen malá množství enterobakterií	Zpravidla <i>Enterobacteriaceae</i>	
Agar s NaCl	Žádný nárůst, nebo stafylok později určený jako koagulázanegativní druh	Mostly <i>Staphylococcus aureus</i>	
GVA agar	Jako na krevním agaru (možná jiná morfologie kolonií)	<i>Gardnerella</i> 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