

## P13 Klinická mikrobiologie IV – vyšetřování u infekcí ran a IKŘ; biofilm na cévních katétrech

Ke studiu: Vaše vlastní protokoly (zejména speciální bakteriologie)

### Úkol 1: Vzorky u infekcí ran

Pokuste se vyplnit následující tabulku:

Typ rány	Povrchová rána	Hluboká rána s dostatečným množstvím hnisu (hnis lze poslat jako tekutinu)	Hluboká rána s nedostatkem hnisu	Hnisavá rána pravděpodobně obsahující anaeroby
Způsob odběru				
Když posíláme do laboratoře vzorek z rány, je velmi důležité vyplnit žádanku, zejména je postatné na žadance uvést 1) _____ a 2) _____				

### Úkol 2: Otisková metoda pro vyšetření povrchových ran

#### a) Otisková metoda – provedení

Vyzkoušejte si po dvojicích otiskovou metodu. Umístěte na předloktí spolužáka (místo povrchové rány) sterilní čtvereček. Ponechte deset sekund a pomocí pinzety jej opatrně přeneste na Petriho misku s agarem. Poté jej odstraňte a vyhod'te.

*V praxi se filtrační papír nevyhodí, ale posílá se zároveň s miskou do laboratoře. V laboratoři je filtrační papír umístěn na dvě či tři další půdy: agar s 10 % NaCl, chromogenní půda URI atd. Poté se všechny půdy kultivují do druhého dne.*

#### b) Otisková metoda – vyhodnocení

Pokuste se přibližně odečíst výsledek otiskové metody na chromogenní půdě URIchrom pomocí přepočítávací tabulky na svém stole a klíče k barvám jednotlivých bakterií na chromogenním médiu. Pozor! Máte skutečné výsledky skutečných pacientů. Nepředpokládá se, že váš výsledek bude stejný jako výsledek vašeho souseda s jinou destičkou. Dokonce i počet přítomných mikrobiálních kmenů se může lišit. Bližší určení a testování citlivosti na antibiotika v tomto případě nebudete provádět.

**Kultivační výsledek mého otisku obsahoval:**

Pravděpodobná skupina či rod bakterie:	Kvantita (přibližný počet kolonií na 25 cm <sup>2</sup> )
1.	
(2.)	
(3.)	

**Klíč k předběžné diagnostice: Stafylokoky** – bílé na URI, rostou také na NACL, bílé kolonie na krevním agaru. **Hemolytické streptokoky** – hemolytické kolonie na krevním agaru, nerostoucí na NACL, na URI nerostou nebo (*S. agalactiae*) jsou světle tyrkysové. **Enterokoky** mají šedé kolonie na krevním agaru a drobné, sytější tyrkysové kolonie na URI. **Enterobacterie a G- nefermentující** – rostou na Endově agaru. **Escherichia** je růžova na URI, **Klebsiella** je na URI modrá, **Proteus** žlutý, **Pseudomonas** je na URI bílá nebo světle zelená (v důsledku vlastní produkce pigmentu). *Toto vše je jen předběžné, jinak platí algoritmy z předchozích praktik!*

### Úkol 3: Vyhodnocení kultivace z hlubší rány

V případě výtěru z rány není žádná „běžná flóra“. To je hlavní rozdíl mezi výtěrem z rány a např. výtěry z respiračních cest: není potřeba vyhledávat patogena mezi běžnou flórou.

Na druhé straně zpravidla bakterie pěstujeme na větším počtu půd, abychom odhalili všechny možné patogeny i v případě směsi bakterií. Zpravidla používáme vedle krevního agarů a Endovy (či McConkeyho) půdy i krevní agar s 10 % NaCl, ale také krevní agar s amikacinem pro vyhledávání streptokoků a enterokoků (v našem úkolu však tyto půdy nemáme). Přitom se ale někdy také stává, že je naopak přítomen jen jeden patogen v malém množství a je nutno ho pomnožit v tekuté půdě (bujonu). Ani tento bujón není součástí našeho dnešního úkolu.

Opět vyplňte formulář.

Kód pojišťovny 1 1 1	požaduje díl A	IČP 7 2 1 2 3 4 5 6 Odbornost 7 8 9	Datum 1 5 : 1 2 : 0 8	Čís. dokladu	Poř. č.
<b>POUKAZ NA VYŠETŘENÍ / OŠETŘENÍ</b>				provedl díl B	
Pacient	Lucie Žlutá			IČP	
Č. pojištění	*1983	Dg.: poranění plosky nohy		Odbornost	
Variabilní symbol				Var. symbol	
Odeslán ad:		Kód náhrady		Datum	
<b>Požadováno:</b>				Kód	
stěr z hnisavé rány na plosce levé nohy,				Poč.	
ránu si způsobila o plechovku v rybníce,				1	
po dvou dnech rána zhnisala				2	
				3	
				4	
				5	
				6	
				7	
				8	
				9	
				10	
				11	
				12	
				13	
				14	
Poznámka:				Dne:	
72 Dr. Mikrob Strašný 123 praktický lékař 456 G. Kopečnická 8, Brno razítko a podpis lékaře				razítko a podpis	

Pacientka: Amanda Červená *1983 Dg.: rána plosky nohy					
Vzorek: stěr z rány*      Objednavatel: Dr. Mikrob Strašlivý					
*poznámka: hnisavá rána na plosce nohy, plavala v rybníce					
Růst na krevním agaru vč. vůně	Endova půda	MH agar:	Oxidáza	Závěr	Interpretace

Test citlivosti na antibiotika

Piperacilin+tazobaktam (TZP)	C ≥ 18 R < 18		Ciprofloxacin (CIP)	C ≥ 25 R < 22	
Gentamicin (CN)	C ≥ 15 R < 15		Ceftazidim (CAZ)	C ≥ 16 R < 16	
Ofloxacin (OFL)	C ≥ 16 R < 13		Kolistin (CT)	C ≥ 11 R < 11	

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

\*výsledek testu citlivosti platí i pro doxycyklin

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

### Infekce krevního řečiště

#### Úkol 4: Hemokultury – zpracování

Popište využití tří typů hemokultivačních nádobek


Vyplňte, které údaje nesmějí chybět na průvodce při zasílání hemokultury (jde pouze o pole „typ materiálu/vyšetření“)

--

Vysvětlete:

Proč je úplná sterilita u hemokultur ještě důležitější než u jiných typů odběru krve (např. na biochemické vyšetření)?

--

Kolik hemokultur se zasílá k vyšetření a proč?

--

Vyplňte chybějící políčka v popisu procesu hemokultivačního vyšetření dle videoklipu a výkladu učitele.

Hemokultivační nádoby přicházejí do laboratoře. Zde jsou vloženy do \_\_\_\_\_.

Pozitivitu automat ohlásí \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_. Když je kultivace pozitivní, je zhotoven nátěr a vzorek je \_\_\_\_\_ na krevní a Endův agar. Rovněž se připraví předběžný test \_\_\_\_\_ vzhledem k tomu, že inokulum není standardní, lze jeho výsledky považovat pouze za \_\_\_\_\_.

### Úkol 5: Hemokultury – mikroskopie pozitivního vzorku

Automatický kultivátor ohlásil pozitivní výsledek. Pro umožnění prozatímní léčby byl z obsahu lahvičky proveden nátěr barvený Gramem. Prohlédněte si výsledek a запиšte ho. **Pozor!** Sklíčka pocházejí z opravdových hemokultur. Proto je pravděpodobné, že váš výsledek bude jiný než výsledek vašeho souseda s jiným sklíčkem.

Hemokultura obsahovala grampozitivní – gramnegativní\* koky – tyčinky\* uspořádané v \_\_\_\_\_\*\*  
 \* *nehodící se škrtněte* \*\**pouze pro koky (dvojice, řetízky, shluky...), případně G+ tyčinky v palisádách*

### Úkol 6: Hemokultury – výsledek kultivace

Prohlédněte si výsledek kultivace pozitivní hemokultury vyočkované na pevné půdy. Navrhněte další metody pro přesnější určení nalezených bakterií. Pokuste se o zhodnocení předběžné citlivosti na antibiotika. Také zde se nepředpokládá, že byste nutně museli mít stejné výsledky jako vaši sousedé.

Název půdy			
Růst ano/ne, vzhled kolonií			

Další testy bližšího určení: \_\_\_\_\_

Předběžné určení mikroba: \_\_\_\_\_

#### Orientační test citlivosti na antibiotika

Název sestavy antibiotik:

Antibiotikum	Interpretace citlivosti	Naměřená zóna	Výsledek (zakroužkujte)	Antibiotikum	Interpretace citlivosti	Naměřená zóna	Výsledek (zakroužkujte)
1.	R < S ≥		C–I–R	4.	R < S ≥		C–I–R
2.	R < S ≥		C–I–R	5.	R < S ≥		C–I–R
3.	R < S ≥		C–I–R	6.	R < S ≥		C–I–R

### Úkol 7: Hemokultury – interpretace

Vhodně interpretujte výsledky hemokultivace dvou různých pacientů.

Jan Bílý, *1942, horečky a zvýšené zánětlivé markery, do laboratoře zaslány tři hemokultury	Jakub Černý, *1945, horečky a zvýšené zánětlivé markery, do laboratoře zaslány tři hemokultury
I Centrální venózní katetr. Čas do positivity 10 hodin, nález: <i>Staphylococcus hominis</i> , citlivý k oxacilinu, tetracyklinu, vankomycinu, resistantní k erythromycinu, klindamycinu, ko-trimoxazolu.	I Centrální venózní katetr. Čas do positivity 8 hodin, nález: <i>Staphylococcus epidermidis</i> , citlivý k oxacilinu, tetracyklinu, vankomycinu, resistantní k erythromycinu, klindamycinu, ko-trimoxazolu.
II Periferní katetr. Čas do positivity 13 hodin, nález: <i>Staphylococcus hominis</i> , citlivý k oxacilinu, tetracyklinu, vankomycinu, resistantní k erythromycinu, klindamycinu, ko-trimoxazolu.	II Periferní katetr. Čas do positivity 26 hodin, nález: <i>Staphylococcus hominis</i> , citlivý k oxacilinu, tetracyklinu, vankomycinu, erythromycinu, klindamycinu, ko-trimoxazolu, žádná rezistence.
III Nový odpich žíly. Čas do positivity 13,5 hodiny, nález: <i>Staphylococcus hominis</i> , citlivý k oxacilinu, tetracyklinu, vankomycinu, resistantní k erythromycinu, klindamycinu, ko-trimoxazolu.	III Nový odpich žíly. Čas do positivity 38 hodiny, nález: <i>Staphylococcus epidermidis</i> , citlivý k oxacilinu, vankomycinu, ko-trimoxazolu, resistantní k tetracyklinu, erythromycinu, klindamycinu.
Pravděpodobná interpretace:	Pravděpodobná interpretace:

### Úkol 8: Průkaz mikrobů kolonizujících katétry

#### a) Kvalitativní metoda pomnožení v bujONU

Vytažený centrální venosní katétr (CVK) byl ponořen do kultivačního média a kultivován 24 hodin. Poté bylo zakalené kultivační médium vyočkováno na krevní agar. Zhodnoťte nárůst mikroorganismů na krevním agaru.

#### b) Semikvantitativní metoda (Makiho metoda)

Vytažený CVK byl válen po povrchu krevního agaru, který byl poté kultivován. Zhodnoťte nárůst mikroorganismů a spočítejte narostlé kolonie. Za signifikantní se považuje množství kolonií >15, menší množství je možno považovat za kontaminaci. Je-li kolonií evidentně více než 100, nepočítejte a napište „> 100“.

#### c) Kvantifikace pomocí sonifikace katétru

Vytažený CVK se ponoří do 10 ml fyziologického roztoku a poté vystaví účinku ultrazvuku, který rozrušuje strukturu biofilmu a jednotlivé bakteriální buňky tak z biofilmu uvolňuje. 100 mikrolitrů takto vzniklé suspenze se naočkuje přímo na krevní agar a rozočkuje sterilní kličkou po celém povrchu krevního agaru. Dle pokynů vyučujícího proveďte metodu sonifikace katétru. Naočkované krevní agary umístěte do termostatu do 37 °C.

Na připravené Petriho misce spočítejte množství kolonií narostlých na krevním agaru a vypočítejte počet bakterií adheřujících na povrch katétru. Je-li kolonií evidentně více než 100, napište „> 100“.

Výsledky:

	3a	3b	3c
Odhad počtu mikrobů			

Kterým z uvedených postupů je možno detekovat a kvantifikovat bakterie nejen z biofilmu

přítomného na povrchu katétru, ale i v jeho lumen? \_\_\_\_\_

Které metody umožňují kvantifikovat množství bakterií adheřovaných na povrchu katétru?

\_\_\_\_\_

Jaký má smysl kvantifikace mikroba izolovaného z katétru? \_\_\_\_\_

Jméno \_\_\_\_\_ Bi7170c Red box tým \_\_\_\_\_ Datum 10. 12. 2019 Strana 5/6

