




KLINICKÁ MIKROBIOLOGIE- SHRNUTÍ

Klinická mikrobiologie

- Zajišťuje diagnostiku infekčních onemocnění vyvolaných bakteriemi, viry, parazity a mykotickými agens
- Stanovuje citlivost/rezistenci mikrobiálních agens k antimikrobiálním látkám
- Ve spolupráci s klinickými lékaři poskytuje konzultace mikrobiologického nálezu a antimikrobiální terapie

- 
-
- Správný výsledek mikrobiologického vyšetření začíná správným odběrem biologického materiálu a jeho správným transportem do mikrobiologické laboratoře

-
- Výtěr z krku
 - ❖ AMIES
 - Vyšetřeni na toxin *Clostridium difficile*
 - ❖ Kusová (tekutá) stolice
 - PCR vyšetřeni
 - ❖ Suchý tampon

- Vyšetření biologického materiálu
- Stanovení pravděpodobného původce infekce
- Stanovení citlivosti k antibiotikům



Vyšetření biologického materiálu

- Mikroskopie
- Kultivace
- Průkaz antigenů
- Průkaz metabolitů *Helicobacter pylorii* (ureáza)
- Průkaz nukleových kyselin (PCR)
- Průkaz protilátek (nepřímý průkaz)

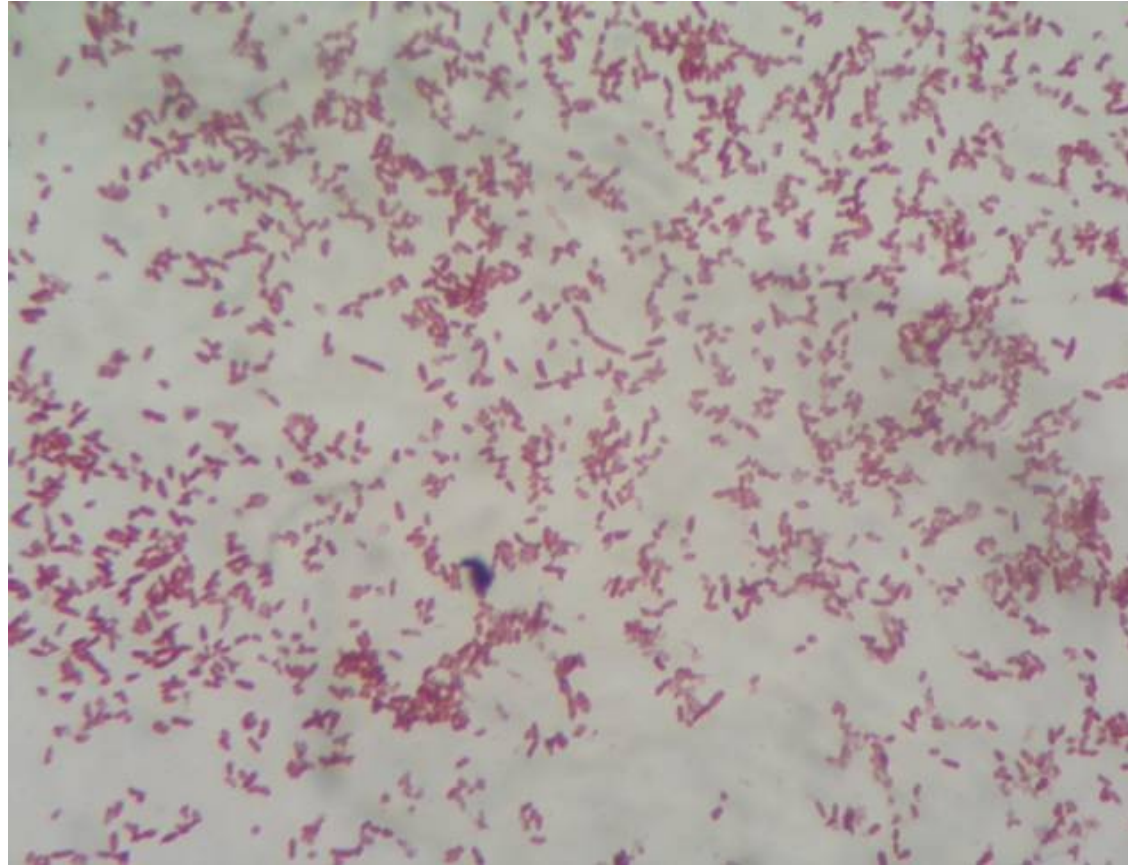
Mikroskopie

- ❖ Nativní preparát
 - Trichomonas vaginalis
- ❖ Barvený preparát
 - Barvení dle Grama
 - Barvení dle Giemsy
 - Barvení dle Ziehl- Nielsena
 - Barvení spor
 - Barvení pouzder
 - Fluorescenční barvení

Barvení podle Grama

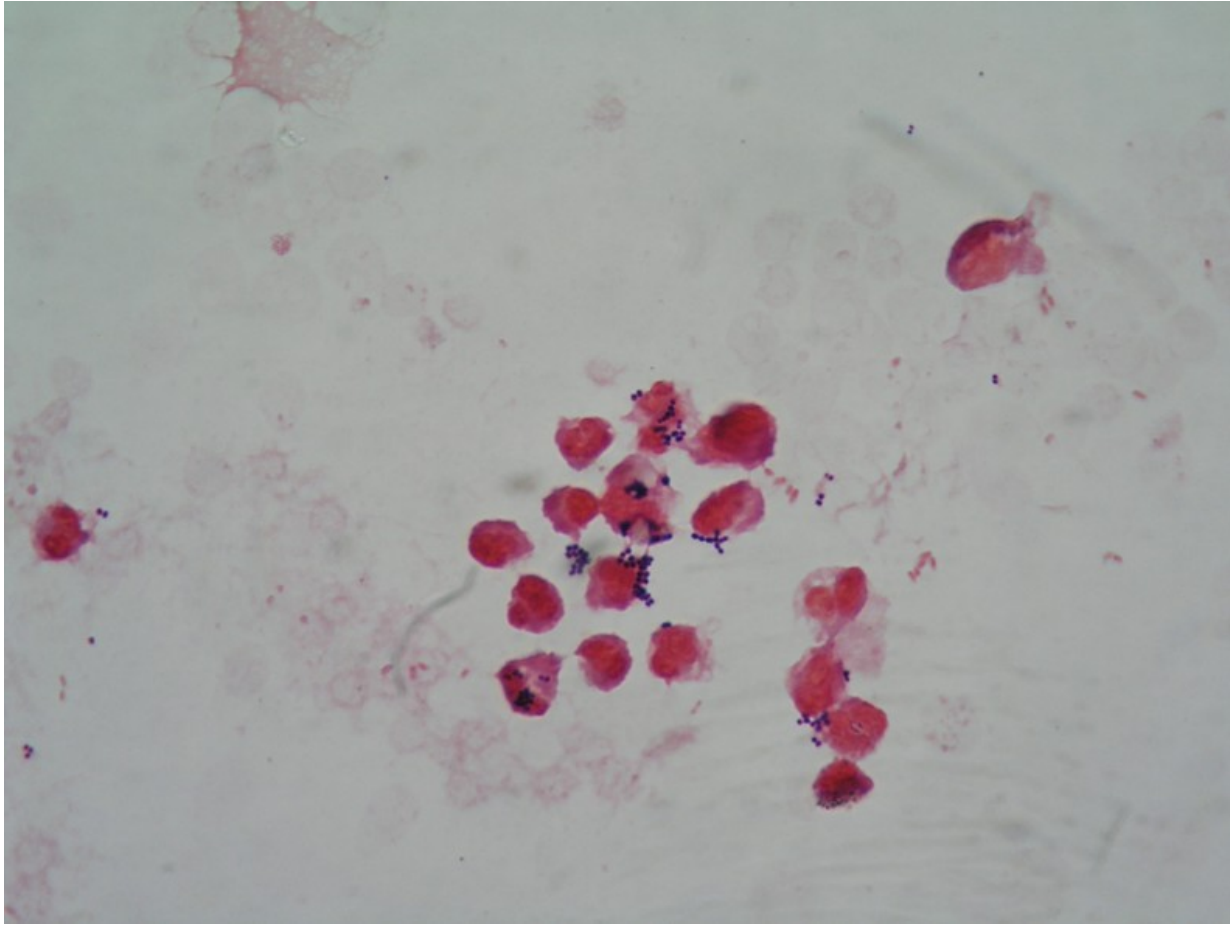
- Hans Christian Joachim Gram, 1884
- Dělí bakterie do dvou základních skupin
 - Grampozitivní G +, modrofialové
 - Gramnegativní G -, růžovočervené

Barvení podle Grama-Gramnegativní



Barvení podle Grama- význam

- Diagnostické barvení – základ klasifikace a taxonomie bakterií
- Možnost okamžité a racionální antibiotické terapie



Fluorescenční barvení

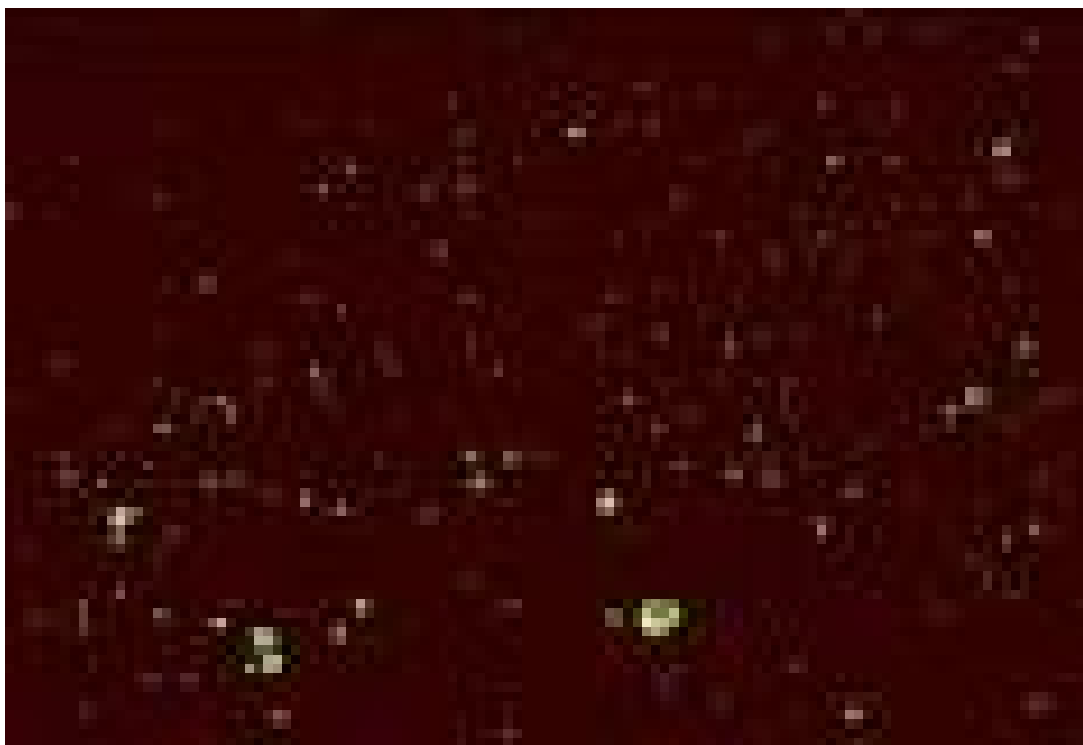
Pomocí fluoreskujícího barviva

- Imunofluorescence

- Na hledaný antigen se naváže protilátka označená fluoreskujícím barvivem


- Pozorování pomocí fluorescenčního mikroskopu

Fluorescenční barvení



Kultivační průkaz

- Základní mikrobiologický postup
- Cílem je získat mikroba z klinického materiálu v čisté kultuře
- Identifikovat ho
- Určit citlivost k antibiotikům

- 
-
- Kultivační půdy (tuhé, tekuté, diagnostické, selektivní, selektivně diagnostické...)
 - Očkování biologického materiálu
 - Diagnostická antibiotika
 - Kalibrované klíčky

Kultivační půdy

- ❖ Tekuté: masopeptonový bujon
- ❖ Tuhé:
 - Krevní agar
 - Čokoládový agar
 - Levinthalův agar
 - Mc Conkey agar (Endova půda)
 - Sabouraudův agar
 - Desoxycholát – citrátový agar
 - Chromagary

Podmínky kultivace

- Dostatečná vlhkost prostředí
- Optimální teplota - 37 °C (4 °C, 40 °C)
- Optimální pH půdy - 7,2 - 7,4
- Dostatek vhodných živin
- Vhodné plynné prostředí (aerobní, anaerobní, mikoraerofilní kultivace)

Anaerostat



Identifikace bakterií

- Podle morfologie
- Podle růstových vlastností
- Hmotnostní spektrometrie (MALDI)
- Podle biochemických vlastností
 - Selektivní půdy
 - Komerční diagnostické soupravy
- Podle antigenní struktury
 - Latexová aglutinace

Úskalí dokonalé identifikace

- Stafylokoky koaguláza negativní a jejich různá jména
- Jiné- Finegoldia magna

Anaerobní kultivace:

Nález: Finegoldia magna

Stanovení kvalitativní citlivosti na antibiotika:

Augmentin, Unasyn.....C

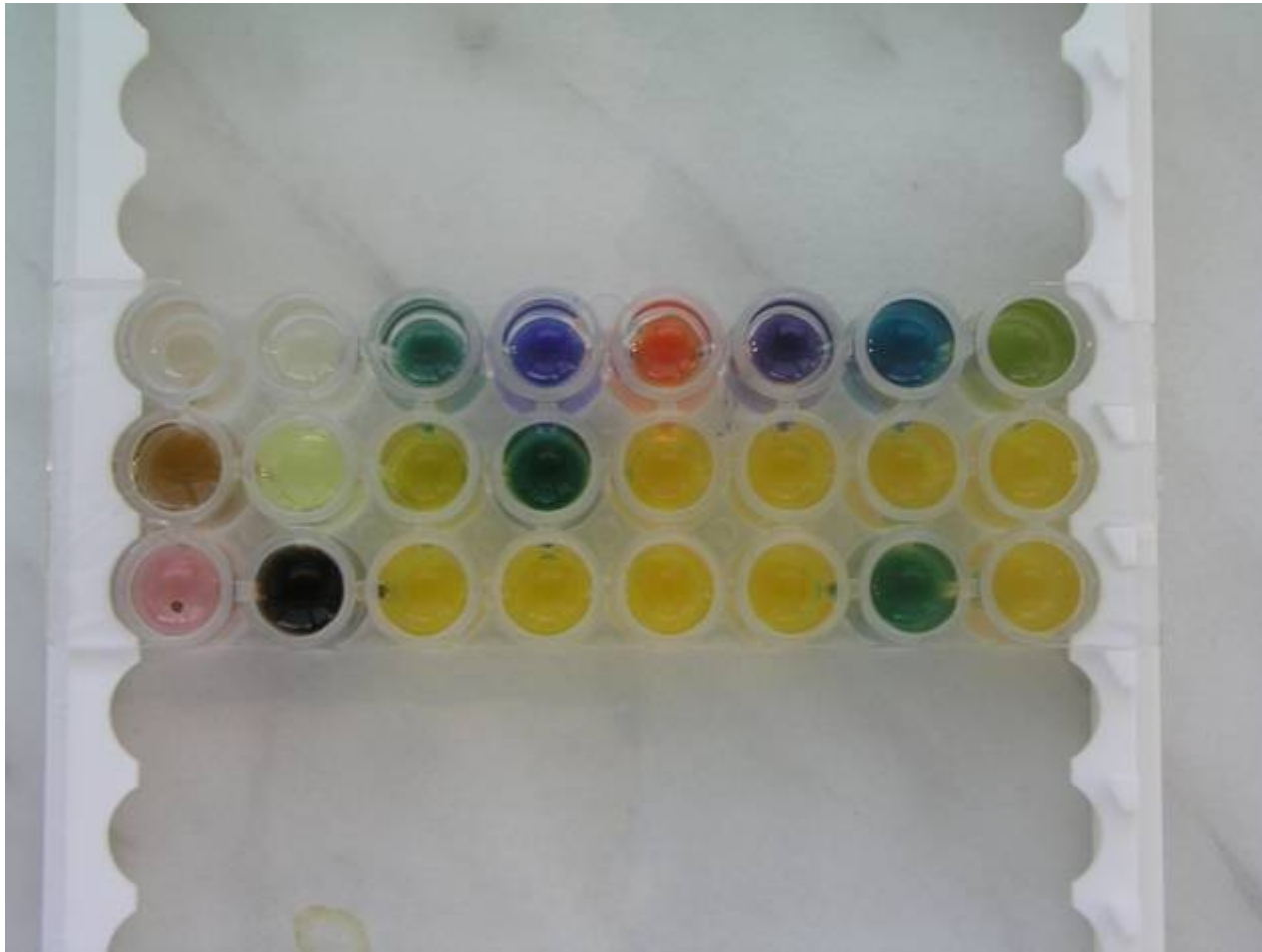
metronidazol.....C

clindamycin.....C

F.magna je grampozitivní anaerobní kok.

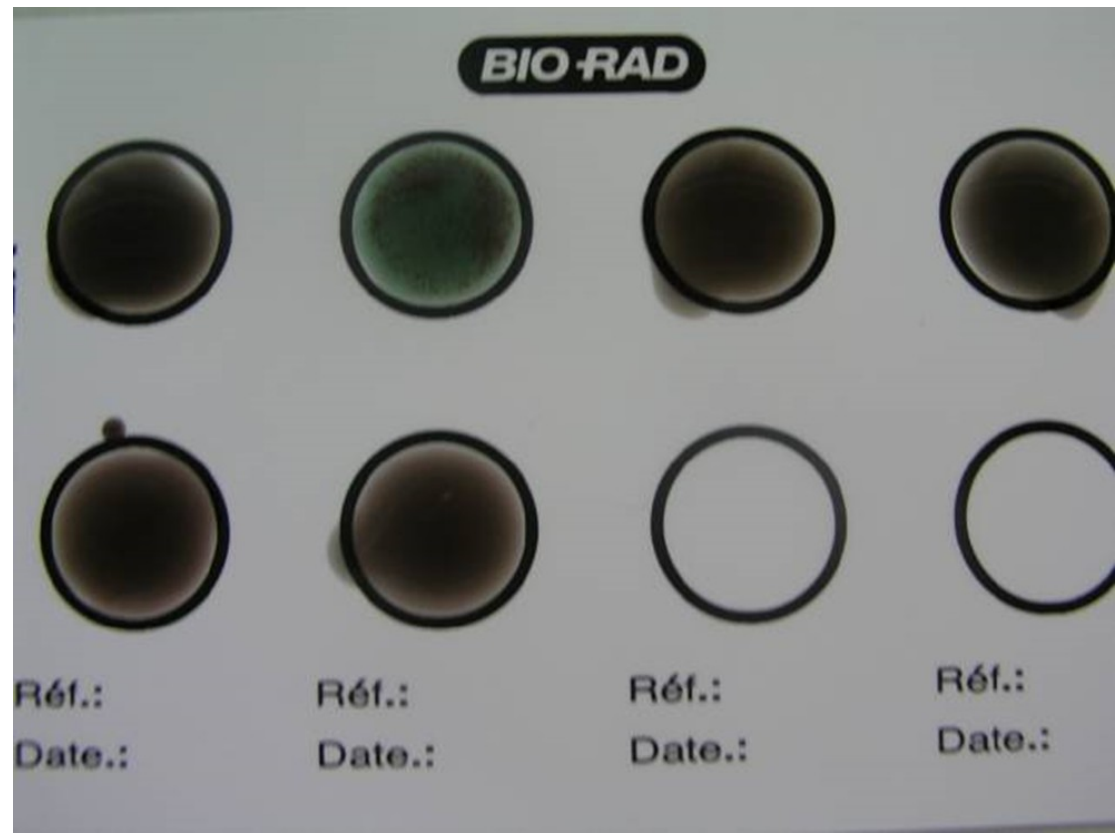
Kódy citlivosti: C=citlivý, R=rezistentní, X=výsledek sdělíme na požádání

Biochemická identifikace bakterií




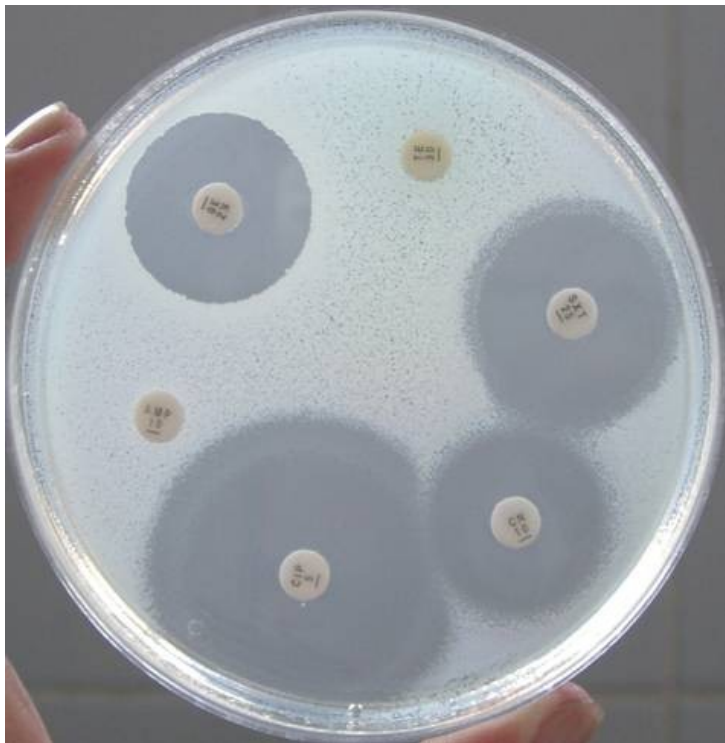
Průkaz antigenů

- Latexová aglutinace
- Rychlá vyšetřovací metoda



-
- Nález primárního patogena- většinou jednoznačná situace (*Neisseria gonorrhoeae*)
 - Nález oportunního patogena- nutná komunikace s klinikem!!
častější situace

- 
-
- Stanovení citlivosti agens k antibiotikům (pokud to lze)
 - Disková difúzní metoda
 - Stanovení hodnot MIC antibiotika vůči danému mikroorganismu
 - Semikvantitativní metody (mykoplazmata, ureoplazmata)




Průkaz nukleových kyselin (PCR)

- Polymerázová řetězová reakce (Polymerase Chain Reaction)
- Možnost průkazu mikroba i při kultivační negativitě (meningitidy, infekce TEP)
- Riziko kontaminace

Průkaz protilátek

- Průkaz odezvy makroorganismu na infekční agens
- ELISA, komplementfixační reakce, automaty
- Obtížně kultivovatelné bakterie (chlamydie, borélie)
- mykologie

- 
-
- **Klinická mikrobiologie**- poskytuje servis vyšetření klinickým lékařům v úzké spolupráci s nimi!!
 - **Vzájemná komunikace!!**

-
- Konzultace mikrobiologického nálezu
 - Konzultace antibiotické terapie



Kasuistika

- Pacient VCH, 1960
- Přijatý v březnu 2015 pro bolesti zad, crp 275, leukocytóza, febrílie
- Paraplegik po autonehodě, kovový materiál na rozhraní Th a L páteře



○ Bolesti zad:

- Ranná infekce
- Spondylodiscitida
- Infekce ledvin
- Infekce v dutině břišní (pankreas)
- Infekce v malé pánvi (gynekologické infekce)

Kasuistika

- Paraplegik po autonehodě, kovový materiál na rozhraní Th a L páteře
- Odběr biologického materiálu:
 - Hemokultivace
 - Moč



Kasuistika

- Diagnostikována spondylodiscitida v oblasti Th páteře
- Hemokultura?
- Empirická antibiotická terapie?

○ Původce?

Staphylococcus aureus představuje nejčastější mikrobiální agens vyvolávající spondylodiscitidu. Lze jej předpokládat zejména u spondylodiscitid anamnesticky spojených se stafylokokovou infekční endokarditidou, u pacientů s předchozí katérovou infekcí krevního řečiště, nebo infekcí kůže a měkkých tkání v anamnéze. Rizikovou skupinu pro spondylodiscitidu vyvolanou *Staphylococcus aureus* představují také nitrožilní narkomani.

U pacientů s touto předpokládanou etiologií je pro empirickou terapii doporučený **oxacilin v kombinaci s gentamicinem.**



○ Anamnéza:

- Infekční fokus (kariézní chrup, abscesy, IE...)
- Předchozí infekce (infekce spojené se zavedením CVK, uroinfekce, jiné infekce spojené a bakterémií...)



○ Anamnéza:

- 11-12/2014 hospitalizován pro absces v ledvině
- Nefrektomie
- Revize pro krvácení do lůžka po ledvině
- 11/2014 pozitivní hemokultura s nálezem *Klebsiella pneumoniae* s ESBL produkcí

Kasuistika

- Vstupně nasazený potencovaný aminopenicilin (Augmentin)
- Pro vysokou suspekci na klebsielovou etiologii spondylodiscitidy doporučena terapie meropenemem
- Monoterapie- solitární ledvina s horší funkcí, kreatinin 370 $\mu\text{mol/l}$, alergie na ciprofloxacin

Kasuistika

- Kultivace: půdy, inokulum, antibiotické disky
- Atmosféra, doba kultivace
- Hodnocení: identifikace mikroorganismu a stanovení citlivosti

Kasuistika

- Pozitivní hemokultura s nálezem *Klebsiella pneumoniae* s ESBL produkcí
- Ponechána terapie meropenem + přidáný amikacin v redukováných dávkách
- Pokles hodnot crp i leu, stabilizace stavu

Kasuistika

- Délka terapie?
- Perorální pokračování terapie?
- Ertapenem? (OPAT- zatím ne v ČR)
- P.o. tetracyklin?

Tetracyclines	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints Letters for comments on disk diffusion
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Doxycycline	-	-		-	-	1. Tigecycline has poor activity against <i>Morganella</i> spp., <i>Proteus</i> spp. and <i>Providencia</i> spp. 2. For tigecycline broth microdilution MIC determination, the medium must be prepared in a special way. A. Zone diameter breakpoints validated for <i>E. coli</i> only. For other Enterobacteriaceae, zone diameter breakpoints are not available.
Minocycline	-	-		-	-	
Tetracycline	-	-		-	-	
Tigecycline ¹	1 ²	2 ²	15	18 ^A	15 ^A	

Kasuistika

- Hospitalizace pokračuje.....



Sestrol! Skočte na internet, otevřete CHIRURGIE.COM,
sjed'te dolů a klikněte na ikonu "Jste totálně v prdeli?"

Kasuistika


- Opakovaná antibiotická konzultace
- Pacient s crp opět 270, zhoršení stavu
- Klindamicin v terapii osteomyelitidy v kombinaci s amikacinem
- Po CDI (*Clostridium difficile*)
- *Kl.pneumoniae* ESBL ze sputa
- MRSA z hrudních drénů
- Polyrezistentní *Pseudomonas aeruginosa* z moči

Kasuistika

- Původce spondylodicitidy zřejmě ne *S.aureus*, tedy zbytečný klindamycin
- Riziko clostridiové kolitidy
- Amikacin není vhodný v monoterapii plicních infekcí
- Amikacin není vhodný v monoterapii stafylokokových infekcí

Kasuistika

- Opět doporučený do terapie meropenem
- Výhled pacienta?

- 
-
- Klinická mikrobiologie – spolupráce mikrobiologa s klinickým lékařem
 - Na konci/ na začátku každého mikrobiologického vyšetření je nemocný člověk

Děkuji za pozornost

