

Laboratoř klinické mikrobiologie MUDr. Magda Balejová

Umístění laboratoří českobudějovické nemocnice se může zdát symbolické. Stojí v samém epicentru areálu. Budova se zářivě žlutými okny je místem, kde sídlí všechny laboratorní obory, tedy i Laboratoř klinické mikrobiologie. Rychlost a kvalita výsledků laboratoře má zcela zásadní podíl na úspěšné léčbě našich pacientů.

O tom, co se za žlutými okny děje, jsme si povídali s vedoucí Laboratoře klinické mikrobiologie MUDr. Magdou Balejovou.

Paní doktorko, prosím, přibližte nám činnost Laboratoře klinické mikrobiologie?

Všechny činnosti, které v Laboratoři klinické mikrobiologie (LKMB) provádíme, cílí na to, co nejrychleji určit původce infekčního onemocnění pacienta, a tím napomoci lékaři v rozhodování při léčbě. Nesmírně důležitá je správná interpretace výsledku. To znamená posoudit, zda zachycené agens nebo imunitní odpověď vůči němu (stanovená průkazem protilátek) je ve vztahu k danému onemocnění pacienta. Případně pak správně stanovit citlivost k antimikrobiálním lékům.

Zásadní je také role konzultační. Při té se musí propojit znalosti mikrobiologické (tj. o patogenitě agens, jeho toxinů a o onemocněních, která může vyvolávat v lidském těle) s údaji poskytnutými ošetřujícím lékařem. A následně doporučit vhodnou antimikrobiální terapii. Anebo naopak zvážit, zda stav nemá jinou příčinu než infekční. Zda vůbec vyžaduje antimikrobiální léčbu. Pomoci navrhnout další potřebná vyšetření k objasnění pacientova stavu. V tom, si myslím, je práce klinických mikrobiologů prospěšná.

Nutno dodat, že nikdy nejde o práci jednotlivce, ale že se na výsledcích podílí celý tým pracovníků. A jsem moc ráda, že se u nás na mikrobiologii podařilo vybudovat

Vše začíná buď u lůžka pacienta či v ambulanci odběrem pacientova vzorku.



MUDr. Magda Balejová | Foto: Jan Luxík

Tím může být např. výtěr z krku při podezření na angínu, odběr moči při podezření na močovou infekci, výtěr z rány i, často zásadní vzorky pro osud pacienta, punktát z kloubu, mozkomíšni mok nebo hemokultura (tj. vzorek krve při horečnatém onemocnění s těžkým průběhem).

Správný odběr vzorku zcela zásadně ovlivňuje výsledek vyšetření. Musíme minimalizovat kontaminaci při odběru, tzn. zanesení okolní, přirozené tzv. kolonizující bakteriální flóry do vzorku, která by mohla ovlivnit výsledek vyšetření. Důležité je i správné načasování odběru. V bakteriologii, pokud možno, před nasazením antibiotické léčby.

Po příjmu do laboratoře se vzorku a žádance o vyšetření přidělí stejné laboratorní číslo, pod kterým se vzorek dále vyšetřuje. Všechny údaje z žádanky

s naočkováním (nanesením) vzorku na kulturační půdy zhotoví mikroskopický preparát umožňující první rychlou informaci. Kultivace, tedy nárůst bakterií na kulturačních půdách, vyhodnocujeme následující den, někdy i později, podle rychlosti růstu různých druhů bakterií.

U hemokultur se snažíme o identifikaci kmene a předběžně stanovení citlivosti k antibiotikům (ATB) z kultury narostlé již po čtyřech hodinách.

Snažíme se využívat všechna rychlá, dostupná vyšetření. Jedná se především o průkazy antigenů původců zánětů plic (pneumokoka a legionely), nejčastějších původců bakteriálních meningitid, průkaz antigenů a toxinu Clostridium difficile, významného původce průjmů až těžkých zánětů střeva. Tato vyšetření jsou obvykle hotova do 30 min. Neumožňují sice vyšetření citlivosti těchto původců k ATB, ale umožňují nasadit léčbu obvykle účinnou, která se pak případně upraví podle výsledku kultivace.

Velmi cenným je průkaz rezistence Staphylococcus aureus k oxacilinu z narostlé kultury. Většina kmenů má k oxacilinu vysokou citlivost. Tento test umožní během 5 minut odhalit rezistenci, tedy kmen MRSA (methicillin rezistentní Staphylococcus aureus) a nasadit rychle účinnou léčbu. Klinicky významné nálezy lékařům ihned aktivně hlásíme a konzultujeme s nimi případnou antibiotickou terapii.

Jak vám ve vaší práci pomáhají přístroje?

Dříve se v mikrobiologii, kromě termostatů, téměř žádné přístroje nepoužívaly. Dnes si pro určování mikroorganismů už nemusíme pamatovat výsledky celé řady biochemických testů jednotlivých bakteriálních druhů. Přístroje nám pomáhají a urychlují naši práci. Pracujeme s nejmodernějším analyzátořem pro kultivaci krve, který automaticky signalizuje růst bakterií.

Využíváme také přístroj ke stanovení kvantitativní bakteriurie, který umí vyhodnotit množství bakterií ve vzorku moči. Doba vyšetření zabere pouhé čtyři hodiny. Lze také přímo zhotovit test citlivosti k ATB. Kompletní výsledek vyšetření moče je pak dostupný za 24 hod, oproti dřívějším 48 hodinám. To vede ke správné léčbě močových infekcí. Vzhledem k tomu, že až třetina těžkých stavů s přítomností bakterií v krvi, má zdroj v infekci močových cest, je tato rychlá diagnostika důležitá.

Hmotnostní spektrometr technologie MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight) pro identifikaci bakterií, kvasinek a plísní jsme měli jako druhá laboratoř v republice. Výsledky identifikací z narostlých kultur jsou touto technologií hotové během 30 minut.

Rovněž jsme byli vybaveni moderními

Věděli jste, že...

- Bakterie jsou nejrozšířenější skupinou organismů na světě. Celkově se odhaduje, že na Zemi žije asi 5×10^{30} (jedinců) bakterií.
- Lidské tělo se skládá z 10^{13} buněk a hostí obdobný počet buněk bakteriálních.
- Bakterie poprvé pozoroval roku 1676 nizozemský přírodovědec Antoni van Leeuwenhoek, a to mikroskopem vlastní výroby.
- Robert Koch, zakladatel bakteriologie a nositel Nobelovy ceny za fyziologii a lékařství, ve 2. polovině 19. století stanovil pravidla a postupy pro prokázání příčinné souvislosti mezi patogenem a nemocí.
- Antibiotika resp. jejich účinek nepřímo znali už staří Číňané, kteří zjistili, že obklady z plesnivého mléka mají léčivý účinek na některé infekce.
- Za první objevené antibiotikum je považován penicilin objevený v roce 1929 Alexandrem Flemingem. Používat se začal v roce 1942.

skvělý tým lidí, kteří mají zájem o svou práci a chápou její význam a dopady. Touto cestou bych jim velmi ráda poděkovala.

S jakými odděleními spolupracujete nejčastěji?

Již z povahy oborů a množství zasílaných vzorků je to samozřejmě Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Infekční, Interní a Chirurgické oddělení, Oddělení úrazové a plastické chirurgie, Ortopedické, Dětské, Kožní a další oddělení. S Ortopedickým a Infekčním oddělením již dlouhá léta spolupracujeme, kromě jiného, na diagnostice a terapii infekcí kloubních náhrad. Z této spolupráce vzešel i doporučený postup – Infekce endoprotéz – doporučení antibiotické léčby (Acta Chir Orthop Traumatol Cech. 84, 2017, No. p. 219–230). Stejný postup mikrobiologické diagnostiky, vycházející z doporučení ze světové literatury, dnes používáme i pro osteosyntetický materiál a s tím související vzorky z operací z Oddělení úrazové a plastické chirurgie. Ve spolupráci s Infekčním oddělením sledujeme infekce krevního řečiště způsobené Staphylococcus aureus. S naší epidemiologií se podílíme na sledování nemocničních infekcí aktivním hlášením izolovaných nemocničních patogenů a mikrobiologickým monitoringem nemocničního prostředí.

V rámci Centrálních laboratoří úzce spolupracujeme s Laboratoří molekulární biologie a genetiky. Laboratoři imunologie poskytujeme izolované bakteriální kmeny pro přípravu vakcín.

Kromě vyšetřování vzorků od pacientů provádíme i kontrolu sterility pro ústavní lékárnu, přípravu cytostatik a radiofarmak, Transfuzní oddělení, pro Neonatologii. Vyšetřujeme stěry z prostředí a kontrolu správné funkce sterilizátorů z jednotlivých oddělení.

Jaké jsou způsoby určení původce onemocnění?

Původce infekčního onemocnění můžeme určit přímo – průkazem přítomnosti agens v těle pacienta. Možnostmi tohoto průkazu je kultivace neboli růst na umělých médiích, tzv. kulturačních půdách nebo průkaz pouze části agens – antigenu. Lze provádět i průkaz pouze nukleové kyseliny původce. Tím se zabývá Laboratoř molekulární biologie a genetiky (LMBG), se kterou úzce spolupracujeme.

K druhé možnosti průkazu původce onemocnění patří jeho stanovení nepřímé – pomocí protilátek proti tomuto původci, resp. jeho částí, antigenů. Že se takto protilátek zantigenů, že se organismus s agens někdy setkal. Úlohou zkušeného mikrobiologa je správně hodnotit, zda jde o právě probíhající onemocnění nebo protilátky po onemocnění prodělaném v minulosti či získané po očkování. To u nás provádí Pracoviště virologie, parazitologie a mykologie a Laboratoř imunologie.

Jak probíhá práce se vzorky?

Popíšu odvětví mikrobiologie, které sama prakticky vykonávám, a sice bakteriologii.

a požadavky na vyšetření jsou zapsány do laboratorního informačního systému. Dnes již začínáme s používáním elektronické žádanky umožňující přenos údajů o pacientovi i požadavků na vyšetření v rámci naší nemocnice elektronicky.

Pracujete se širokým spektrem vzorků a možných původců. Ovlivňuje to dozajista i vaše postupy.

Pro zpracování vzorku je pro nás klíčové uvedení správné diagnózy ve vztahu k odebranému vzorku a uvedení místa v pacientově těle, ze kterého byl vzorek odebrán. To nám umožňuje zvolit správnou sestavu kulturačních půd tak, aby byla co největší pravděpodobnost zachycení očekávaného původce.

To samozřejmě vychází ze znalostí přirozené a tzv. patogenní flóry (vyvolávající onemocnění) v daném místě odběru právě ve vztahu ke klinické diagnóze. Ovlivňuje to i kulturační atmosféru, ve které jsou kulturační půdy inkubovány. Pokud jde o odběr z povrchu kůže nebo sliznic, jsou půdy kultivovány při normální atmosféře.

Laboratoř klinické mikrobiologie

- Zahrnuje Pracoviště bakteriologie, Pracoviště parazitologie a mykologie, Pracoviště virologie.
- Ročně zpracuje přibližně 140 000 vzorků.
- Ročně poskytne okolo 9500 konzultací.

Tam, kde se očekávají růstové náročné bakterie, potřebujeme inkubaci v atmosféře s přidavkem kyslíčnicku uhlíčitého. Vzorky z míst bez přístupu vzduchu (punkty břišní, kloubní, tkáně, hemokultury atd.) kultivujeme i při atmosféře anaerobní, tedy bez přístupu vzdušného kyslíku.

U většiny pro člověka patogenních (onemocnění vyvolávajících) bakterií je optimální růstová teplota $36^\circ + - 1^\circ\text{C}$, teplota lidského těla. Ke kultivaci, tedy růstu bakterií na kulturačních půdách, používáme termostaty (komory) s touto teplotou a různou kulturační atmosférou.

K vám do laboratoře jistě putují i vzorky, u kterých není možné zajistit naprostou sterilitu. Jak pak určujete původce onemocnění?

Pokud nejde o vzorky z primárně sterilních míst v lidském těle, je většinou výsledkem kultivace směs bakterií. V té musíme odlišit typické patogeny, tedy bakterie, které působí onemocnění vředy nebo s vysokou pravděpodobností vředy musíme znát přirozenou bakteriální flóru na kůži a sliznicích jednotlivých částí těla. Někdy i tato přirozená flóra může způsobit onemocnění při poškození obranných mechanismů nebo snížení imunity. Pak jde o tzv. patogenní oportunité. Mohou se tak uplatnit i bakterie z vnějšího prostředí. Např. porušení kůže se stane vstupní branou infekce třeba pro Staphylococcus aureus (zlatý stafylokok), který se zde jinak může vyskytovat jako běžná, kolonizující flóra. Ten

přístroji ke stanovení citlivosti k antibiotikům. Stanovení je přesné a v případě rychleji rostoucích bakterií jsou výsledky k dispozici již za několik hodin. Přístroje detekují a interpretují i různé mechanismy rezistence bakterií. Vzhledem k tomu, že citlivost na antibiotika se vždy vztahuje ke konkrétnímu bakteriálnímu druhu, je rychlá identifikace společně s rychlým stanovením citlivosti, zcela zásadní pro rychlou, cílenou léčbu pacienta.

A nesmím zopomenout na automaty k barvení mikroskopických preparátů, které významně urychlují naši práci, na moderní mikroskopy a biohazardy (boxy sloužící k ochraně pracovníků při zpracování vzorků).

V laboratoři pro diagnostiku mykobakterií (původce tuberkulózy) pracujeme také s moderní kulturačním analyzátořem výrazně zkracujícím čas detekce pozitivních vzorků.

Pracoviště virologie a Pracoviště parazitologie a mykologie jsou rovněž vybavena moderními přístroji. Jejich představení bych přenechala vedoucím těchto pracovišť v některém z dalších článků, stejně jako přiblížení jejich práce.

Ing. Veronika Dubská
Oddělení vnitřních a vnějších vztahů