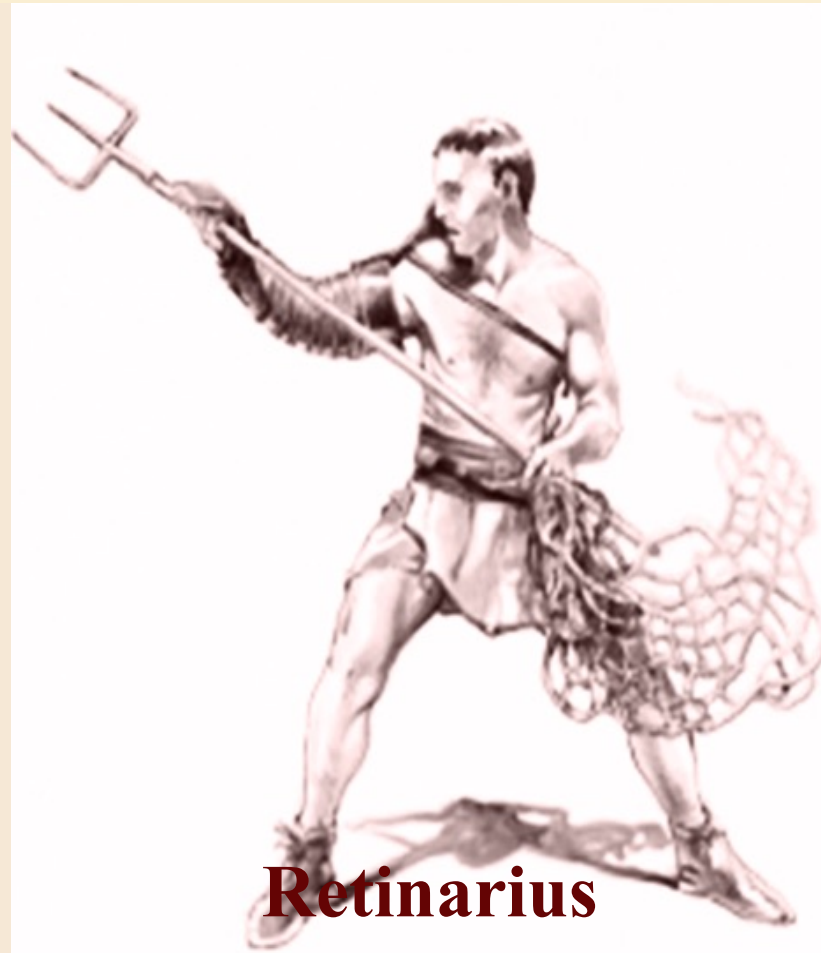


2. Agens - infekce - nemoc

Václav Chmelík

Infekce je souboj

Makroorganismus versus mikroorganismus



2 *Kdo vyhraje?*

Ten, který lépe použije své zbraně!

Infekce je souboj

Makroorganismus versus mikroorganismus

Bariérové systémy

kůže
sliznice

Přirozená - nespecifická imunita

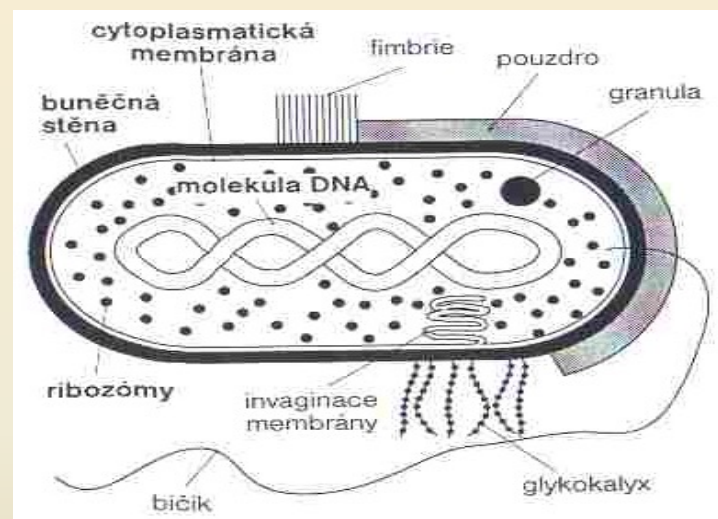
komplement
lysozym, properdin...
makrofág
mikrofágy

Adaptivní - specifická imunita

protilátky
lymfocyty

Stavba těla

pouzdro...



Faktory virulence

exotoxiny, superantigeny
endotoxin

Infekční proces

Mikroorganismus + člověk = nemoc ? *NE !!*

Vztah mikro a makroorganismu: *INTERAKCE*

Patogenita

obligatorní patogen - vždy vyvolá nemoc

oportunní - vyvolá nemoc za jistých okolností (příležitost)

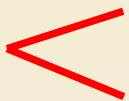
komezál - soužití

Strategie parazitizmu

Co je ve skutečnosti mé tělo?

*Soubor vlastních buněk (z jednoho vajíčka) s identickou genetickou výbavou?
nebo*

Kolonie z vlastních buněk + mikroorganismů - existující v jakémsi souladu?

Mé tělo  **vlastní eukaryotické buňky** **cca 10¹³**
mikroorganismy **cca 10¹⁴**

Mikroorganismy mají v souhrnu minimálně stonásobně větší genom (než můj)

Jsou funkční součástí makroorganismu.

Ovlivňují: metabolismus
 imunitu

Složení tzv. mikroflóry závisí na: věku
 prostředí
 složení stravy, lécích
 zátěži (stresu)

Mechanismy poškození

Toxiny - poškozují přímo buňky hostitele

Exotoxiny - „pravé“ toxiny, vylučované do vnějšího prostředí, většinou proteiny, termolabilní. Proti exotoxinům vzniká protilátková imunita, je možné očkování

rod *Clostridium* (*Cl. botulinum*, *Cl. tetani* – očkování)

Corynebacterium diphtheriae

Vibrio cholerae

Bordetella pertussis a *B. parapertussis*

Superantigeny: TSS1, enterotoxin *S aureus*

Endotoxin - součást bakteriální stěny u G- bakterií, lipopolysacharid, termostabilní. Imunita nevzniká

Endotoxin poškozuje nadměrnou aktivací imunitního systému (produkce TNF, prozánětlivých interleukinů)

Osud infekce:

Interakce makro a mikroorganismus - kdo a kdy vítězí ?

Infekce : inaparentní
 asymptomatická
 akutní
 fulminantní
 chronická

Nemoc: postižení určité funkce či struktury organismu
 a z toho plynoucí příznaky

Nemoc je příběh: inkubace
 katarální stadium - virémie
 postižení cílového orgánu
 výsledek : úzdrava, chronicita, následky, smrt

Infekční nemoc

Nemoc: postižení určité funkce či struktury organismu
 a z toho plynoucí příznaky

Mechanismy postižení organismu

 přímé působení mikroorganismu na struktury
 poškození působky mikroorganismu - toxiny
 imunitní poškození

Změna infekcí v měnícím se světě

Výskyt: vliv očkování

životní styl:

výživa

návyky (IVDU)

sexuální revoluce

medicína:

invazivita

chemoterapie

imunosuprese

ekologie nemocnic

možnost importu :

dostupnost světa

turistika

migrace obyvatel

Změna infekcí v měnícím se světě

Postižení jedinci : demografické znaky
prodloužení života
přežívání i závažných nemocí
komorbidity
stav imunity

Změna klinického obrazu

Změna léčebných možností

dostupnost a zneužívání léků
antibiotická rezistence
vedlejší účinky léčby

Diagnóza infekční nemoci

Syndromologická

Etiologická

je podmínkou úspěšné terapie?

Diagnóza závažnosti stavu

Věk nemocného

Komorbidity

Povaha nemoci:

akutní stav

fokální nebo celková? sepse?

pokračování léčby

chronická léčba

Jak probíhá klinická diagnóza?

Prvý kontakt - dojem

diagnóza osobnosti

Jednoduchá otázka - pacient volně hovoří

Řízená anamnéza (historie):

rodiny	RA (rodinná anamnéza)
pacienta	OA (osobní anamnéza)
nemoci	NO (nynější onemocnění)
sociální /pracovní	PA
epidemiologická	EA
cestovatelská	CA
speciální otázky:	AA (alergická)
	TA (transfusní)
	GA (gynekologická)

Jak probíhá klinická diagnóza?

Fyzikální vyšetření

pohled

pohmat (palpace)

poslech (auskultace)

symptom – příznak

syndrom

dojem (šestý smysl) – neverbalizovaná/vatelná zkušenost

Diferenciální diagnóza:

analyticko - syntetický proces

běžná a vzácná nemoc

pojem „diagnóza nemoci“ je jen abstrakce - snaha o systematické zařazení
příčin - příznaků - následků na základě současných poznatků

osobnost lékaře: lékaři velkých a malých diagnóz

Indikace doplňujících vyšetření = položení otázek

je až výsledkem předchozího více či méně složitého procesu

„Kahnemanovo Myšlení rychlé a pomalé“ a diagnostika?

Rychlé myšlení - intuitivní, „*Šestý smysl*“, „*Systém I*“

mimo aktivní vědomí zpracování množství počitků a paměťových stop rychlé, s minimální námahou, pro CNS ekonomické v běžně se opakujících situacích je zpravidla správné

Heuristika

Expertní myšlení - zpracování i velkého množství vjemů odborníka a jeho značných zkušeností (opět mimo vědomé zpracování)

Chybovost! emoční heuristika, priming, „šarm psychopatů“

Pomalé myšlení – „*Systém II*“

vědomý, řízený rozbor dat, jejich vztahů a logiky.

nastupuje po systému I, kontroluje jej

je pomalejší, spojeno se zátěží

„líný kontrolor“

má omezenou kapacitu – limity („*neviditelná gorila*“)

Diagnóza infekční nemoci

Diagnózu může stanovit pouze lékař svým tvůrčím výkonem a všechny “nálezy” nejsou nic víc než podklady, které si může vzít na pomoc, aby diagnózu zajistil.

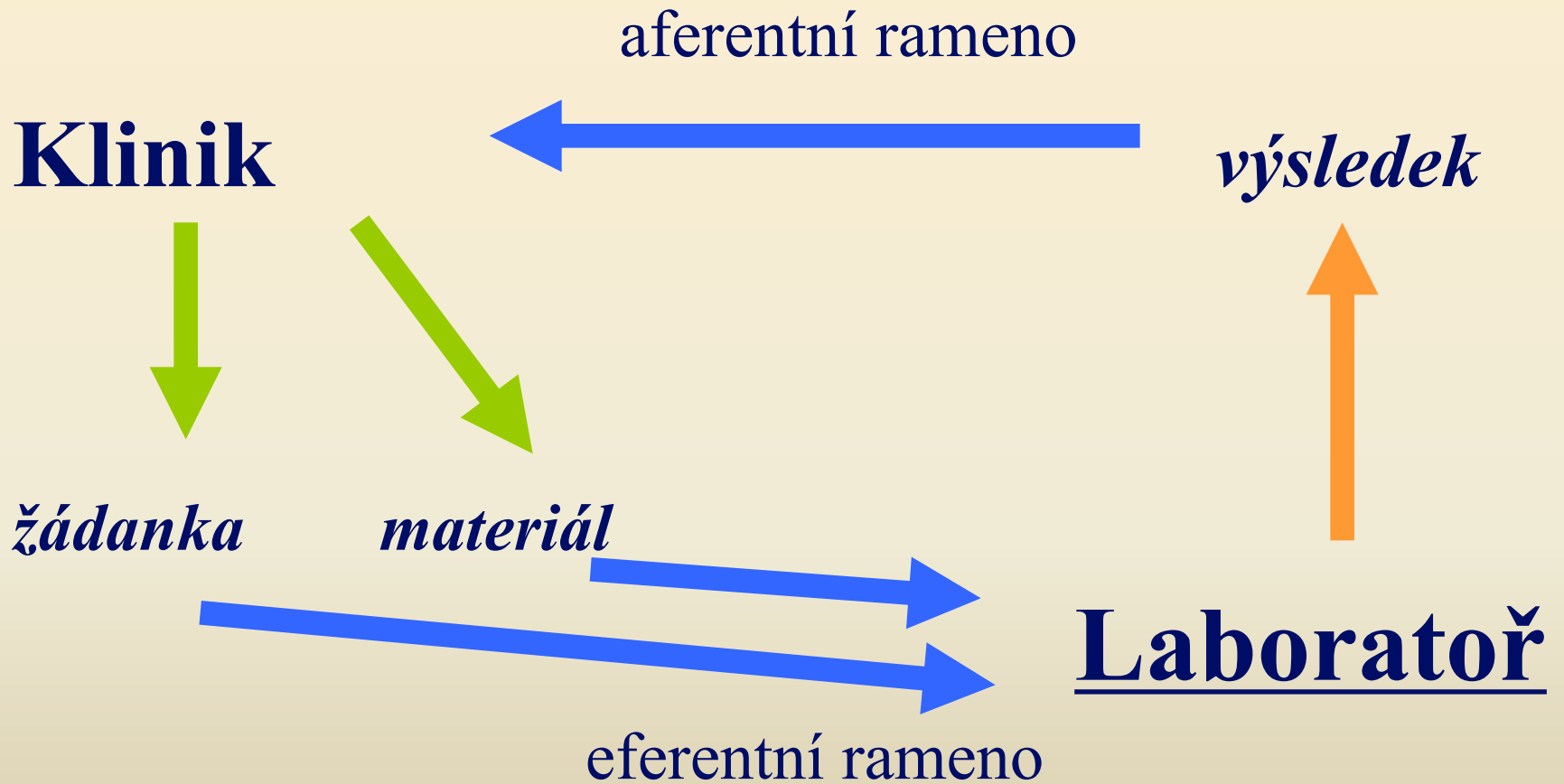
Na tomto základním principu se nezmění nic ani tehdy, až se diagnostický počítač IBM stane obecně dostupným.

Dobrého lékaře toto poznání potěší

Robert Hegglin

(Diferenciální diagnóza vnitřních nemocí - 70. léta)

Vyšetření jako reflexní oblouk



Vyšetření jako položení otázky

Indikací vyšetření podávám cílenou otázku

Realizace má stránku: informační
technologickou - provedení
ekonomickou

Fáze laboratorního vyšetření: *preanalytická*
 analytická
 postanalytická

Indikace vyšetření

Položení cílené otázky vyžaduje:

Jednoznačný slovní popis řešeného problému

Znalost hodnoty odpovědi pro dg. a léčebný postup

Stanovení naléhavosti otázky

– rychlost odpovědi dané metody (přání x možnosti)



Kvalifikovaná volba metody (senzitivita, specificita, zátěž pacienta, dostupnost, rychlost odpovědi, cena)

Položení otázky

Povinné informace (nutné k interpretaci)

Jednoznačné pojmenování problému

Forma kontaktu

Kdo a jak provádí odběr?

Technika odběru:

příprava

vlastní odběr

žádanka (kdo a jak vyplňuje?)

Skladování a transport materiálu: doba a správnost

znehodnocení (lze je rozpoznat?)

Preanalytická chyba ?

William Dock : “Suttonův zákon”

zájem pacienta
etika
cena

alibismus
právní tlak
evidence based medicine

+

osobnost lékaře
zvyklosti pracoviště

-

Proces vyšetření jako zdroj chyb

K L I N I K A

transport

Klinická interpretace

PACIENT



výsledek

Praktická aplikace

Indikace



Odběr



žádanka

materiál

transport



Interpretace



Vyšetření

(dif.dg.strom?)



Příjem materiálu

LABORATOŘ

Proces vyšetření jako zdroj chyb

K L I N I K A

transport

Klinická interpretace ?

PACIENT



výsledek

Praktická aplikace

Indikace



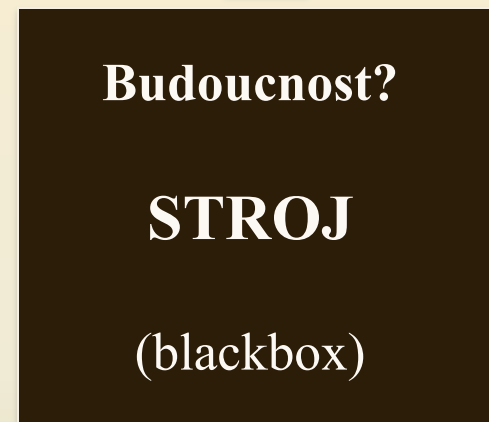
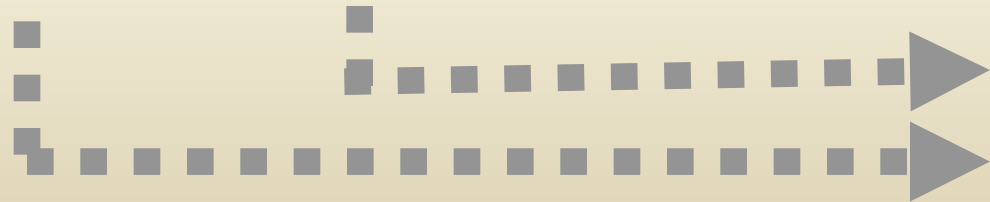
Odběr



žádanka

materiál

transport



Budoucnost?

STROJ

(blackbox)

Příjem materiálu

LABORATOŘ

I



„blackbox“ !!!

Mikrobiologické vyšetření vyžaduje individuální přístup k materiálu neopakovatelného pacienta

Mikrobiolog na základě údajů klinika rozvíjí individualizovaný diferenciálně diagnostický program a pak výsledky interpretuje

Intelektuální vklad zkušeného lékaře, který použije různé metody, interpretuje je jednotlivě i jako celkový výsledek, je nezbytný

Mikrobiologa nenahradíme automatem

Význam etiologické diagnózy

Epidemiologický

Volba cílené protiinfekční terapie

Cílené chemoterapeutikum je zpravidla:

účinnější
užšího spektra
ekologičtější
levnější

Průkaz původce nemoci: **přímý**

mikroskopie
kultivace
průkaz antigenu

*Tradiční
vyšetření*

průkaz genetické informace

Ideální mikrobiologické vyšetření - „růže poznání“



Mikroskopie a rychlé metody

Mikroskopie

stále velký význam,

přítomnost leukocytů – známky zánětu

jeden či mnoho druhů bakterií -

pravděpodobnost kontaminace?

směsné infekce?

Rychlé metody:

připraveny pro rychlou a jednoduchou odpověď

latexová aglutinace mozkomíšního moku

bakteriurie

Kultivace a následná identifikace

Klasické technologie byly zaměřeny na průkaz **planktonických** bakterií

Klasická kultivace na plotně

Technologie detekující růst: baňka s tekutou půdou

přístroj: zajišťuje podmínky pro růst

detekuje známky růstu – CO₂

Infekce spojené s tvorbou biofilmu – nutnost uvolnit agens

Sonifikace

Enzymatické uvolnění

Identifikace agens

klasická s použitím biochemických známek růstu na půdách...

proteomika – identifikace na základě neopakovatelného proteomu

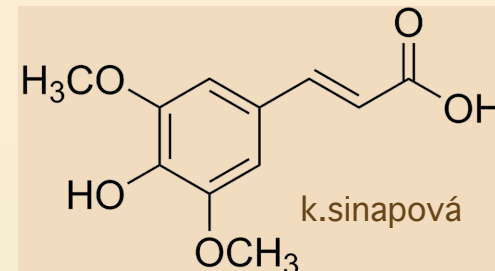
Citlivost: disková citlivost, MIC, E - test, nové technologie

Proteomika

Proteom – s určitým organismem je spojena neopakovatelná sada bílkovin
lze to přirovnat k „otisku prstu“

Hmotová spektrometrie (*mass spectrometry*)

– uvolnění, separace a detekce plynné fáze iontů



MALDI (matrix assisted laser desorption/ionisation) kolonie mikroorganismu je na terčičku (*MALDI target*) v matrix (*krystalické struktury kys. sinapové*) vystaven pulsu laserového paprsku definované vlnové délky a energie. Probíhá strukturální dekompozice a vznik „oblaku částic“ - iontů

TOF (time-of-flight mass spectrometry) akcelerace v elektrickém poli ionty + se pohybují rychlostí úměrnou velikosti a náboji.

Srovnávací algoritmus s referenčním molekulárním identifikátorem



Genomika

Je v tomto materiálu přítomna DNA/ RNA mikroorganismu?

I zde je indikace laboratorního vyšetření položením cílené otázky

Široce položená otázka:

Je v daném biologickém materiálu přítomna jakákoli DNA?

Pokud ano: jakému agens náleží?
přispěje k zacílení léčby?

Primery k identifikaci částí genomu bakterií/prokaryot

16S rDNA (16S rRNA = je komponentem 30S podjednotky ribozomu)

konzervativní část je společná všem bakteriím

hypervariabilní část = alternativa k fenotypické identifikaci bakterií

18s rDNA/RNA (u eukaryont - identifikace hub?)

Přesně zacílená otázka:

je při dobře popsáném syndromu tento suspektní vyvolavatel?

kvantita známého vyvolavatele (virová nálož)?

Primery k detekci jednotlivých agens (Stafylokok? MRSA?)

Genomika

Výhody: rychlost
citlivost
možnost záchytu i po podání chemoterapeutika

Nevýhody: snadná možnost kontaminace
nekritický přístup kliniků

Různý význam zachycení genomu:

DNA/RNA agens z normálně sterilní lokalizace

DNA/RNA původce, který je spojen s lidskou nemocí
a jeho kvantita (HBV, HCV)

Záchyt specifické DNA/RNA z kolonizované lokalizace

DNA prokázána z hnisu/biofilmu z oblasti endoprotézy

I tyto výsledky je nutno interpretovat !

Průkaz antigenu sérologickou metodou

Diagnóza akutní nemoci

Wyšetření biologického materiálu pacienta:

význam značný \cong jiné přímé průkazy

dostupnost

cena

použitelný jen při vysoké koncentraci Ag

Laboratorní ověření kultivovaného mikroorganismu?

(dnes klesl význam – dostupnost MALDI)

Epidemiologie

Význam průkazu specifických protilátek

Epidemiologie:

incidence

prevalence

Vakcinace

Etiologická diagnóza nemoci

jako jediný průkaz etiologie ?

jako konfirmace po záchytu agens

Průkaz protilátek

Výhody: snadnost provedení odběru (*ale potřebné množství - kojenci*)
(většinou) dobrá dostupnost
(většinou) nízká cena
skladovatelnost a transport séra
možnost archivace
opakovatelnost vyšetření

Nevýhody: co znamená „negativita“ výsledku?
co znamená „pozitivita“ výsledku?
forenzní váha ?

předčasný – včasný – opožděný odběr

IgG a IgM

Sledování vývoje titrů k sledování průběhu nemoci !?!

33 *K ověření efektu léčby !?!*

NE!!

Terapeutický dopad sérologie

Přímý průkaz antigenu – rychlá použitelnost

Průkaz tvorby specifických protilátek:

infekce s dlouhou inkubační dobou, s vícefázovým průběhem
(IgM přítomny již na počátku hospitalizace)

infekce s rychlým rozvojem klinických příznaků
zpravidla zpětné doložení

infekce s opožděnou tvorbou protilátek
zpětné doložení

Vhodný doplněk k rychlému průkazu původce

Hodnocení vyšetření

Výsledek vyšetření lze hodnotit z hlediska:

a/ správnosti provedení metody:

správná laboratorní práce

b/ užité hodnoty: srozumitelnost

použitelnost pro klinika

ovlivnění osudu pacienta

laboratorní práce

užitečná hodnota

správný

správný

správný

správný

správný

zásadní

užitečný

zbytečný

zavádějící

nebezpečný

Určitost odpovědi vyšetření

Otázka: Kdo je vyvolavatelem nemoci?

Co odpovídá výsledek vyšetření?

1. Ve vyšetřeném materiálu je jeden nebo více mikroorganismů
2. Mikroorganismus se v lokalizaci fyziologicky (ne)vyskytuje
3. Mikroorganismus žije, množí se
4. V materiálu je prokázán zlomek mikroorganismu (antigen)
5. V materiálu je prokázána dědičná informace mikroorganismu
6. Imunitní systém někdy v minulosti zareagoval /nebo nyní reaguje na přítomnost antigenu mikroba (či podobného)

Mají tyto informace stejnou výpovědní hodnotu?

Uvědomují si uživatelé informací, že nikoli?

Smysl diagnózy? – adekvátní léčba

Základní	Výživa, hydratace Základní funkce: dýchání (oxygenace), odkašlávání vyprazdňování, močení atd. Hygienický standard : kůže, sliznice Rehabilitace Psychický stav
Etiologická	chemoterapie
Symptomatická	tlumení bolesti vnitřní prostředí úprava, náhrada životních funkcí
Chirurgická	

Základní problém

Je identifikovaný mikroorganismus

*(jeho antigen, nukleová kyselina, protilátky proti němu)
skutečně vyvolavatelem příznaků?*

Chybný odběr

Kolonizující flóra

Kontaminace při transportu

Záměna materiálu

Kontaminace v laboratoři

Odběr materiálu

Způsob odběru:

místo odběru

cesta odběru (průnik kůží, kolonizovaným orgánem ?)

desinfekce místa odběru

odběr za chirurgických kautel : incize

Množství odebraného materiálu

Odběrovka

Skladování

Transport

Význam získaného materiálu pro diagnózu

Archivace materiálu

Dvakrát nevstoupíš do stejné řeky !

Materiál je neopakovatelný!

Zajištění alikvot pro doplňující vyšetření

(zmražená tekutina - hnis, tkáň, sérum, cytologický preparát, parafinový bloček)

Indikace dalších vyšetření dodatečně na základě:

vývoje klinického stavu nemocného
potřeby konfirmovat
objevu nových původců, nemocí
vývoje nových diagnostických metod

Možnost zpětného epidemiologického přehodnocení

V.I.M. (very important material)

Hnis / zkalený výpotek z:

kloubu

tělesné dutiny (pleura, peritoneum)

hlubokého abscesu (orgán, retroperitoneum)

absces mozku, v páteřním kanálu

Zkalený mozkomíšní mok

Kanyla centrální žíly vyjmutá při horečnaté epizodě

Krev na hemokulturu

Implantát vyjmutý při septické komplikaci

Materiál, který lékař považuje z nějakého důvodu za zásadní

(výtěr/tampon z pochvy při TSS)

V I M - ODBĚR VELMI DŮLEŽITÉHO MATERIÁLU

Název	Materiál	<p>Předepsané odběrové nádoby pro vyšetření jednotlivými metodami</p> <p>P metoda takto označená na plakátu je vyšetřena vždy Lékař dle svého uvážení může navíc na žadance zaškrtnout další metody Nezaškrtnutá metoda: materiál se ponechává v CL pro eventuelní dodatečné vyš. Uspořádání textu: název metody / určená laboratoř / doporučená odběrovka (náhradní odběr) Při získání malého množství materiálu (např. u dítěte) domluvte telefonicky v BAK</p>
Kloub VIM	Zkalený výpotek z kloubu	<p>✓ Mikroskopie a kultivace aer. – anaer. / BAK / Inj. s., (Zk.), FA + FN</p> <p>✓ KO + punktát (počet leuko a segmentů) / HEM / fial. vakueta</p> <p>Molekulární genetika / LMBG/ Zk.</p> <p>KM, krystaly / LKCH / Zk.</p> <p>Archivace / BAK / Zk.</p>
Absces VIM 42	Hnis z hlubokého abscesu	<p>✓ Mikroskopie a kultivace aer. – anaer. / BAK / Inj. s., (Zk.), FA + FN</p> <p>Molekulární genetika / LMBG / Zk</p> <p>Parazitologie (absces jater apod.) / PAR / Zk.</p> <p>Archivace / BAK / Zk.</p>

Různé metody průkazu původce mají odlišný praktický význam

Kultivace z abscesu a současně i z hemokultur
+ citlivost

Kultivace z hemokultur + citlivost

Kultivace z jiných lokalizací + citlivost

Celá bakterie jinou metodou: mikroskopie, antigen
- citlivost jen odhadujeme

Původce z jiného orgánu v časové souvislosti se sepsí
- pozitivní bakteriurie při spondylodiscitidě

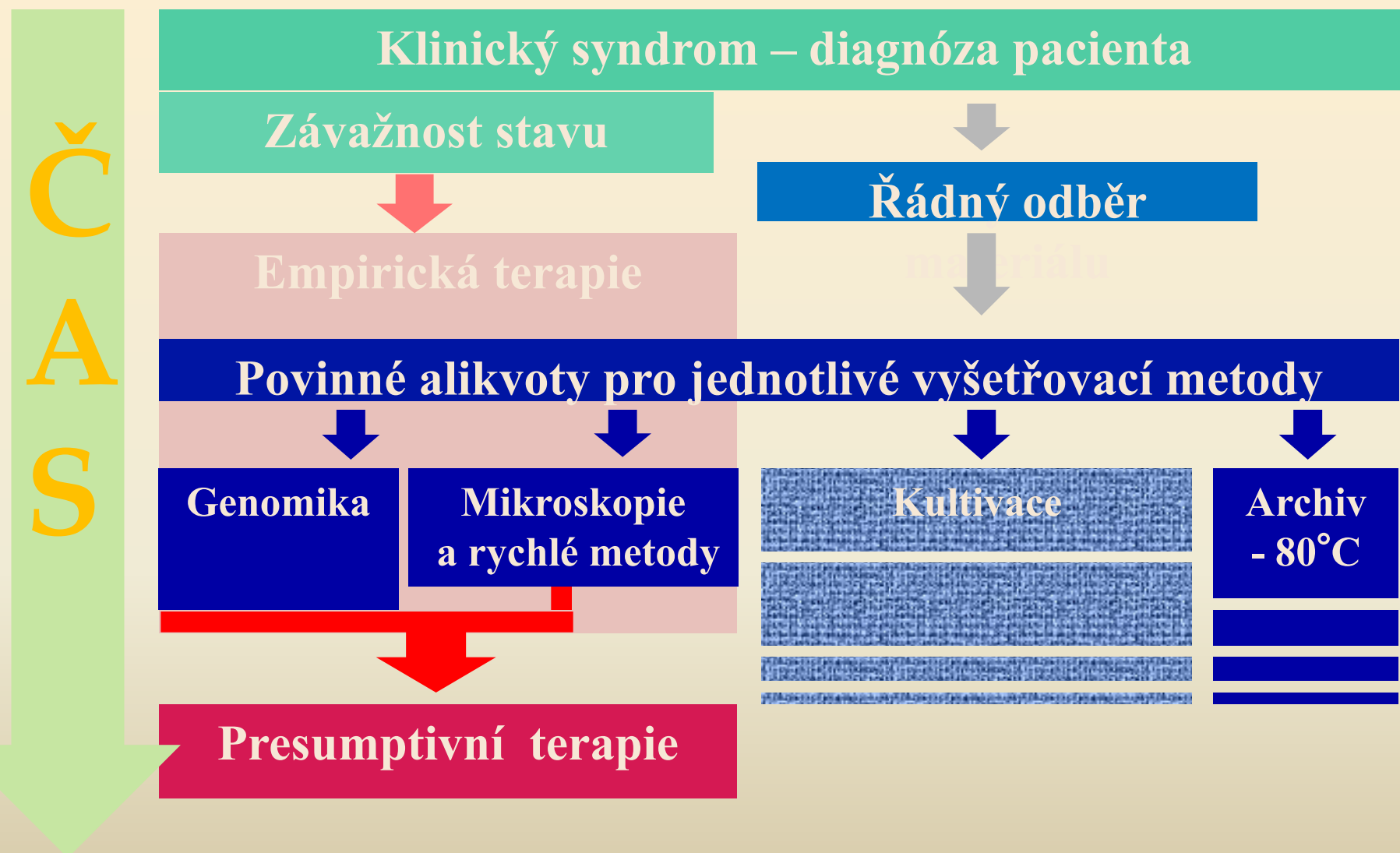
DNA původce z hnisu - citlivost jen odhadujeme

Význam pro volbu chemoterapie

Postupné přibližování se k etiologii a cílené ATB léčbě



Postupné přibližování se k etiologii a cílené ATB léčbě



Postupné přibližování se k etiologii a cílené ATB léčbě

