

# Infekce krevního řečiště

Mikrobiologie praktika 2021

2. LF UK

# Mikrobiologická diagnostika infekcí krevního řečiště – **hemokultivace**

**Odběr venózní krve sterilní venepunkcí z periferní žíly přímo do hemokultivační lahvičky**

Různé typy lahviček pro různé podmínky kultivace, obsahují tekutá kultivační média odlišující se složením

- **Aerobní** (plní se jako první – vzduch)
- **Anaerobní**
- **Mykotické**
- **Pediatrické** pro kultivaci menšího objemu krve – děti do cca 35 kg



Lahvičky s odebranou krví se ihned transportují do laboratoře.

Každá lahvička se eviduje v laboratorním informačním systému a vloží se do speciálního inkubátoru/analyzátoru .

Při množení bakterií se v lahvičce hromadí produkty jejich metabolismu.

Změna chemického složení obsahu lahvičky způsobí změnu barvy indikátoru umístěného u dna lahvičky.

Změna barvy je detekována analyzátořem (např. spektrofotometricky) a je spuštěna zvuková signalizace.



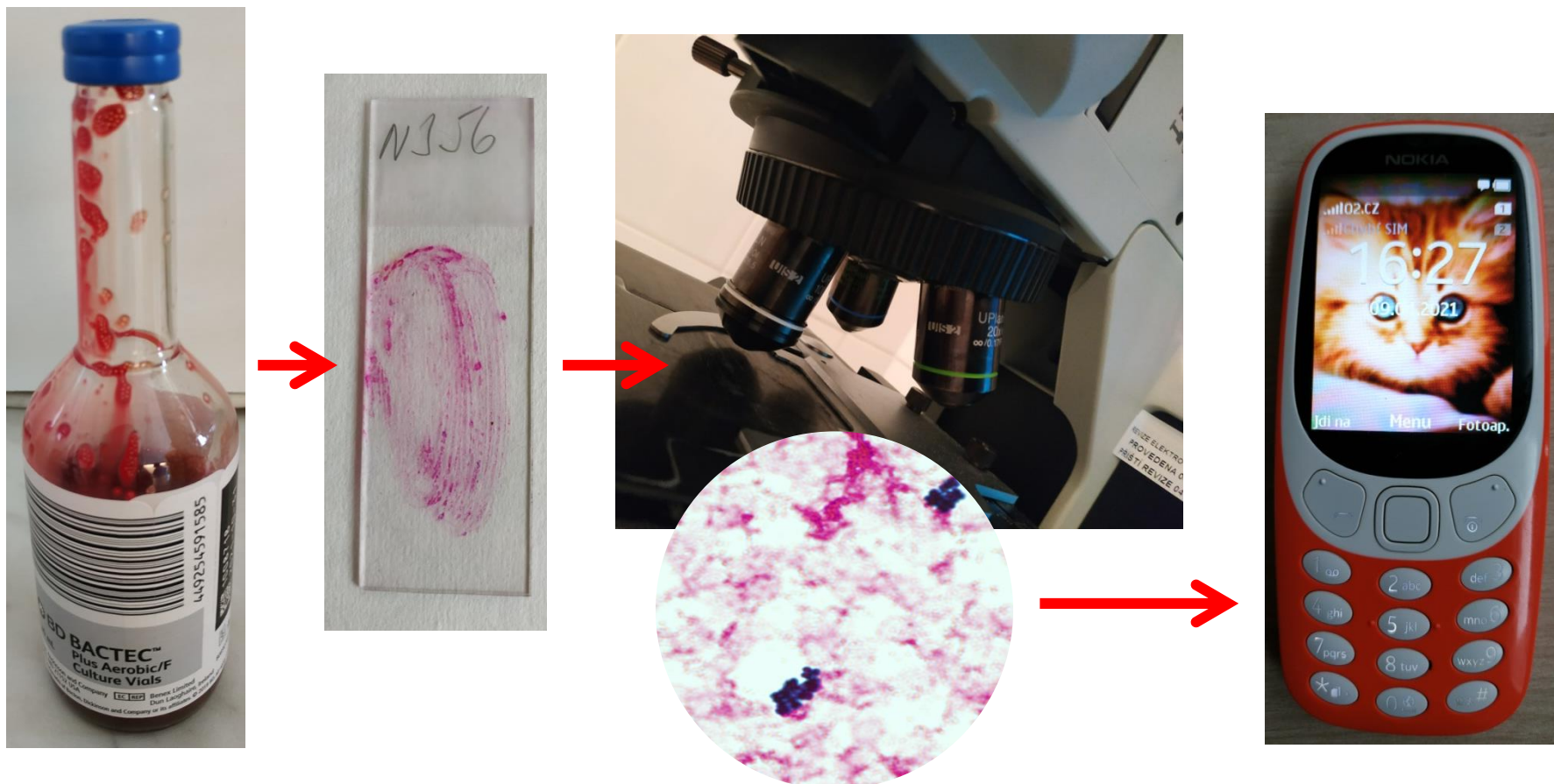
Inkubátor/analyzátor pro hemokultivaci

# Uložení hemokultivačních lahviček k inkubaci



Z lahvičky, ve které je detekován růst bakterií, se odebere obsah k dalšímu zpracování.

Zhotoví se mikroskopický preparát barvený podle Grama, ihned se prohlíží, výsledky se telefonicky hlásí na oddělení.

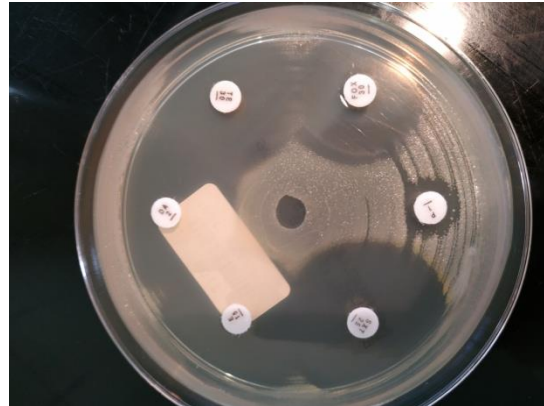
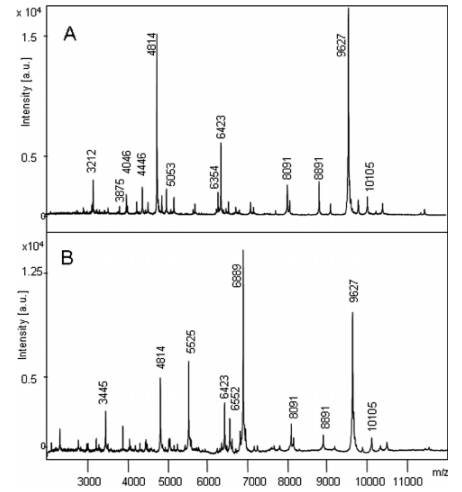
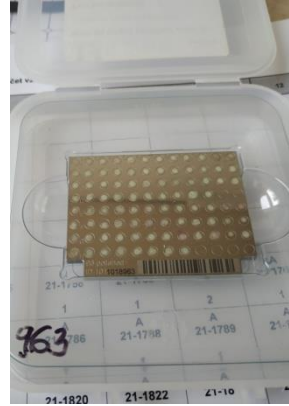
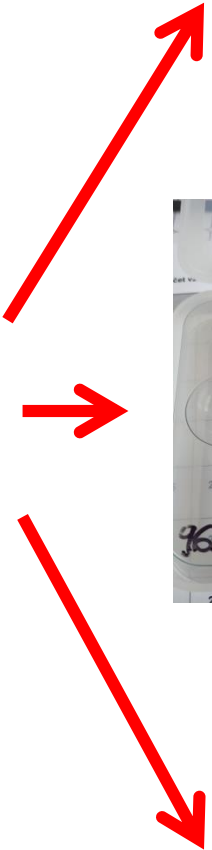


Tekutý obsah lahvičky (pomnožená bakteriální kultura) se vyočkuje na několik pevných médií (obvykle krevní agar, Endova půda nebo jiné médium pro selektivní záchyt G- bakterií, čokoládový agar pro záchyt nutričně náročných bakterií, Schaedlerův nebo jiný agar pro kultivaci anaerobů, Sabouraudův agar pro kvasinky), kultury se inkubují při 37 °C v atmosféře aerobní, anaerobní a při zvýšené tenzi CO<sub>2</sub>.

Dále probíhá identifikace a stanovení citlivosti k antibiotikům standardním způsobem.

V poslední době jsou zkoušeny a implementovány metody umožňující identifikaci a testování citlivosti v urychleném režimu (tj. výsledky jsou k dispozici během několika hodin od signalizace positivity).

Lahvičky, v kterých nebyl růst bakterií detekován, jsou po předepsané době inkubace (5 – 14 dní podle typu lahvičky) vyhodnoceny systémem jako negativní, vyjmou se z inkubátoru a zlikvidují se.



# Sepse

## Život ohrožující orgánová dysfunkce podmíněná dysregulací odpovědi organismu na infekci

**Klinika: quickSOFA** pro rychlé zhodnocení

- Dechová frekvence nad 22/min
- TK pod 100 mmHg
- Alterace vědomí

Mikrobiologie zásadní význam pro diagnózu – **hemokultivace**, další materiál dle zdroje infekce

**Dop. odběr 1 vzorku krve, dostatečný objem, min. 20 ml u dospělého, z periferie, rozdělit do několika lahviček (min. 2)**

**Empirická ATB léčba se musí zahájit do 1 h od rozpoznání. Širokospektrá baktericidní ATB v maximálních dávkách.**

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW et al (2016) The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 315(8):801–810

2. Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML et al (2016) Developing a new definition and assessing new clinical criteria for septic shock: for the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 315(8):775–787

3. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ et al (2016) Assessment of clinical criteria for sepsis: for the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 315(8):762–774

4. Rhodes A et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016, *Intensive Care Med* (2017) 43:304–377

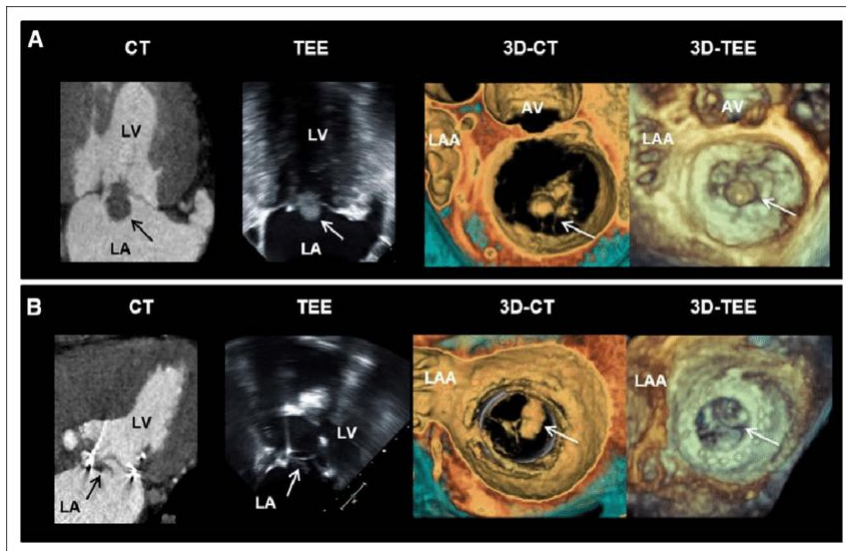


# Infekční endokarditida (IE)

Infekce krevního řečiště s přítomností vegetace (infikovaného trombu) na srdeční chlopni nebo na nástěnném endokardu

IE nativní chlopně

IE postihující chlopní náhradu



Mylotte, D et al. European heart journal. 63. 10.1093/eurheartj/ehu388.

Kim, In-Cheol et al. Circulation: Cardiovascular Imaging. 11. e006986. 10.1161/CIRCIMAGING.117.006986.

## Mikrobiologická diagnostika – infekční endokarditida

Bakterémie je trvalá, **odběr krve opakovaně, bez ohledu na teplotu.**

**Min. 3 sady hemokultur ve 30min intervalech před zahájením podávání antibiotika,  
inkubace aerobní i anaerobní**

**Odběry z periferní žíly** spíše než z centrálního žilního katetru, pečlivě sterilním postupem

**Mikrobiologická laboratoř má být informována o klinickém podezření na IE v době odběru hemokultur.** Je-li mikroorganismus identifikován, je třeba opakovat hemokultivaci za 48–72 h ke kontrole účinnosti léčby.

**Materiál ze srdečních chlopní** odebraný během operace je třeba systematicky vyšetřovat kultivačně, histologicky a pomocí PCR cílené na dokumentaci přítomnosti náročných organismů.

Doporučený postup - **Doporučení ESC pro diagnostiku a léčbu infekční endokarditidy, 2015.**  
Souhrn vypracovaný Českou kardiologickou společností 2015, [www.infekce.cz](http://www.infekce.cz), Doporučené postupy

IE - původci

- **Stafylokoky**
- **Streptokoky viridující a skupina *S. bovis* x skupina *S. anginosus***
- **Enterokoky**
- Gramnegativní bakterie – enterobakterie, nefermentující g- tyčinky x **HACEK**
- Houby, hl. kvasinkovité mikroorganismy
- Obtížně kultivovatelné a nekultivovatelné bakterie (kultivačně negativní IE)

## IE s negativní hemokulturou

(blood culture-negative IE – BCNIE)

nejčastěji

v důsledku

předchozího

podávání

antibiotik. IE s

negativní

hemokulturou

může být

způsobena také

houbami nebo

kultivačně

náročnými

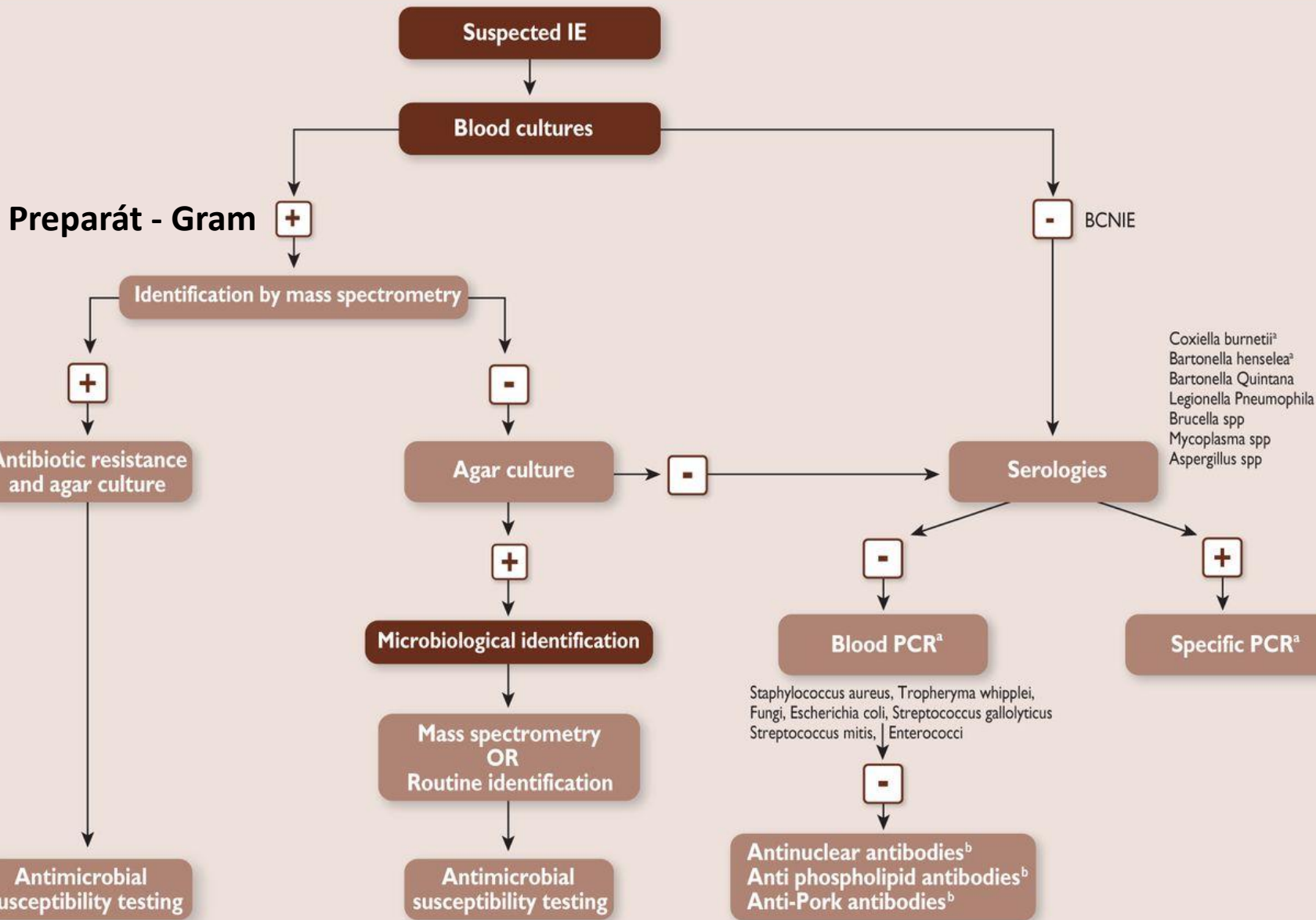
bakteriemi,

zejména

obligatorně

intracelulárními

Pathogen	Diagnostic procedures
<i>Brucella spp.</i>	Blood cultures, serology, culture, immunohistology, and PCR of surgical material.
<i>Coxiella burnetii</i>	Serology (IgG phase I >1:800), tissue culture, immunohistology, and PCR of surgical material.
<i>Bartonella spp.</i>	Blood cultures, serology, culture, immunohistology, and PCR of surgical material.
<i>Tropheryma whipplei</i>	Histology and PCR of surgical material.
<i>Mycoplasma spp.</i>	Serology, culture, immunohistology, and PCR of surgical material.
<i>Legionella spp.</i>	Blood cultures, serology, culture, immunohistology, and PCR of surgical material.
<i>Fungi</i>	Blood cultures, serology, PCR of surgical material.



BCNIE = blood culture-negative infective endocarditis; IE = infective endocarditis; PCR = polymerase chain reaction.

<sup>a</sup>Qualified microbiological laboratory

<sup>b</sup>Immunological laboratory

# Infekce krevního řečiště spojené s cizorodým materiálem kromě chlopní

## Katetrové infekce

### Infekce implantovaného kardiostimulátoru, defibrilátoru

**Odstranění katetru** jako terapeutický zákrok, využití v diagnostice.

## Materiál ke kultivaci

- **Hemokultivace – periferní krev**
- **Konec katetru 3 – 4 cm,**
- **Hnis nebo tekutina**, pokud je kolekce v okolí katetru

~~Stěry z intaktní kůže v okolí katetru – nevalidní~~

**Pokud nelze katetr odstranit** – odběr krve na hemokultivaci z katetru a periferie současně, hodnotí se rozdíl v době do positivity (katetr – signalizace dříve, signifikantní rozdíl 2 h)

Bakterie a kvasinky v **biofilmu**, nutno zohlednit při ATB terapii

## Zpracování cévních katetrů

### Dle Makiho

špičku katetru asepticky přeneseme na krevní agar  
otáčivým pohybem otiskneme na povrch plotny – otočení provede alespoň 4x  
**NEROZOČKOVÁVÁME**  
inkubujeme 24 – 48 hodin při 37°C v CO<sub>2</sub>

### Sonifikace

katetr – špičku vhodit do tryptózo – sojového bujónu (10 ml)  
sonifikujeme v UV lázni 1 minutu  
vortexujeme 15 sekund  
0,1 ml bujónu smícháme s 9,9 ml fyziologického roztoku a vortexujeme 15 sekund  
vyočkujeme 0,1 ml suspenze na krevní agar po celé ploše půdy  
inkubujeme 48 hodin při teplotě 37°C v CO<sub>2</sub>

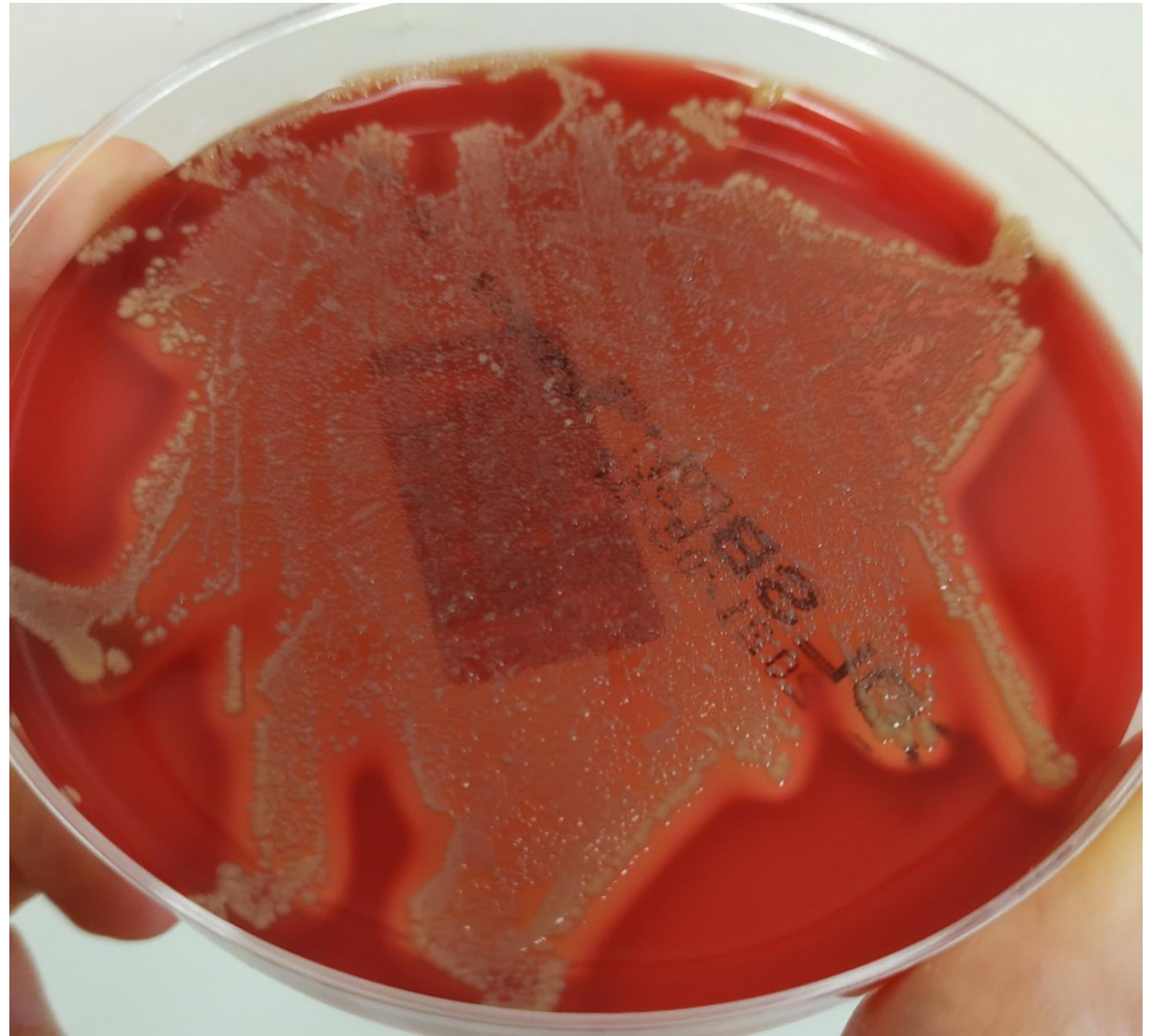
**interpretace výsledku : MAKI  $< / > 15$  CFU nebo negativní**  
**SONO  $< / > 10^2$  CFU (je signifikantní) nebo negativní**

Zdroj: Pracovní instrukce, ÚLM FN Motol

Kultivační vyšetření  
cévního katetru,  
zpracování dle  
**Makiho**

Pozitivní nález >15  
kolonií, infikovaný  
katetr

*Staphylococcus aureus*

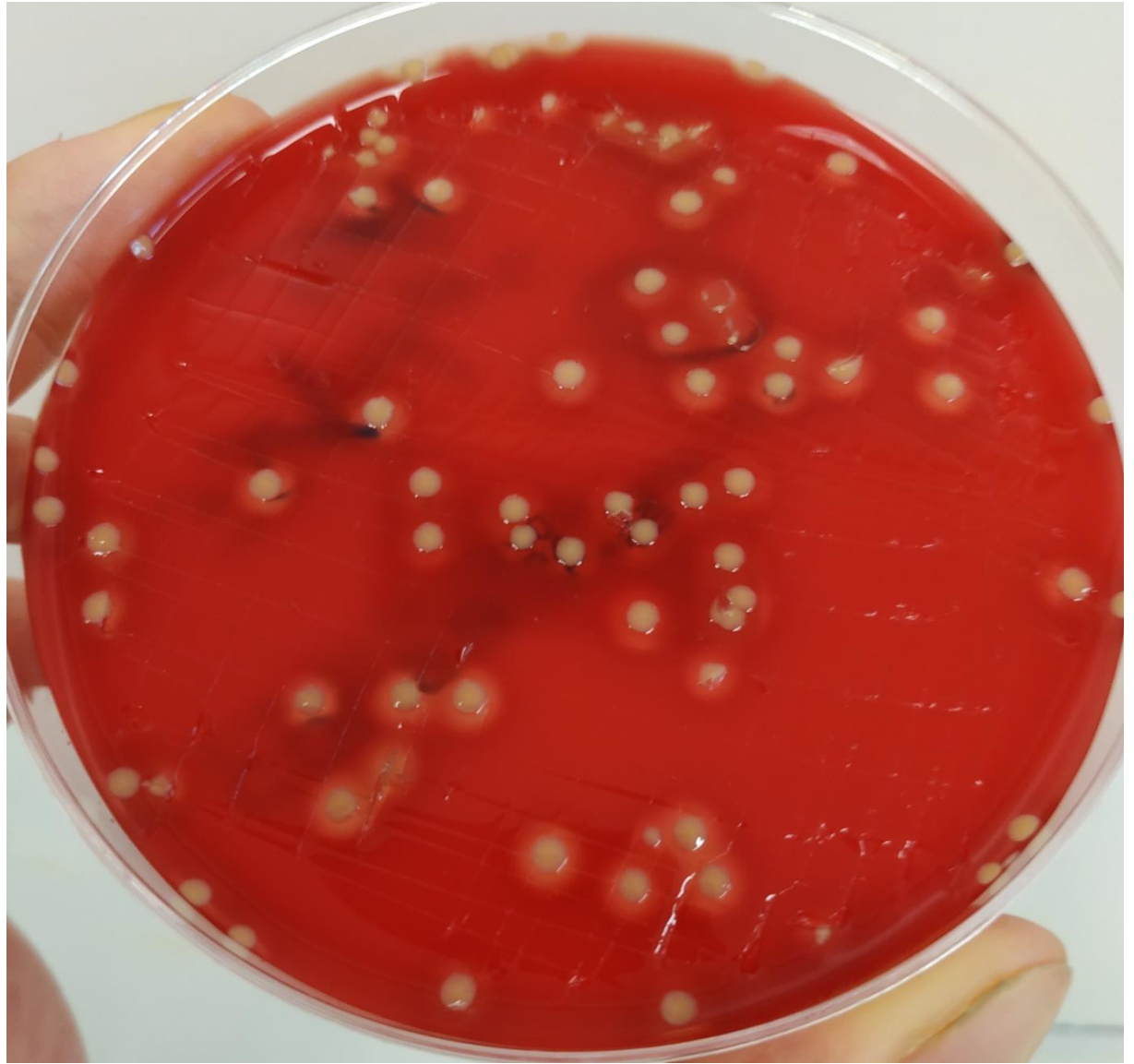




Kultivační vyšetření  
cévního katetru,  
**zpracování  
sonifikací**

Pozitivní nález,  
infikovaný katetr

*Staphylococcus  
aureus*,  $10^4$  CFU/ml



## **Kazuistika – katetrová infekce, postup s odstraněním katetru**

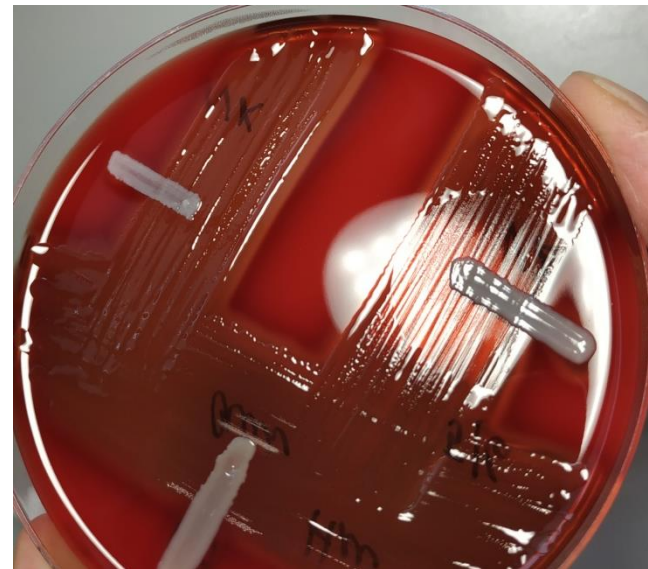
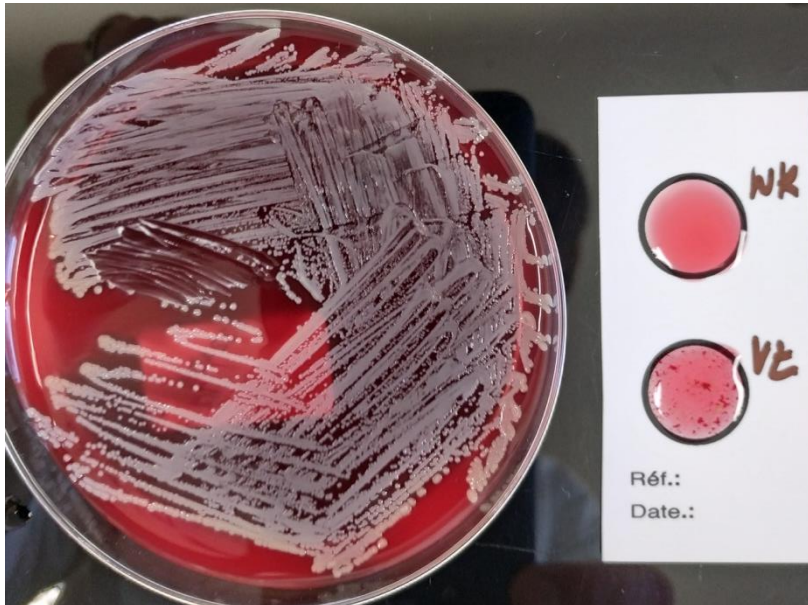
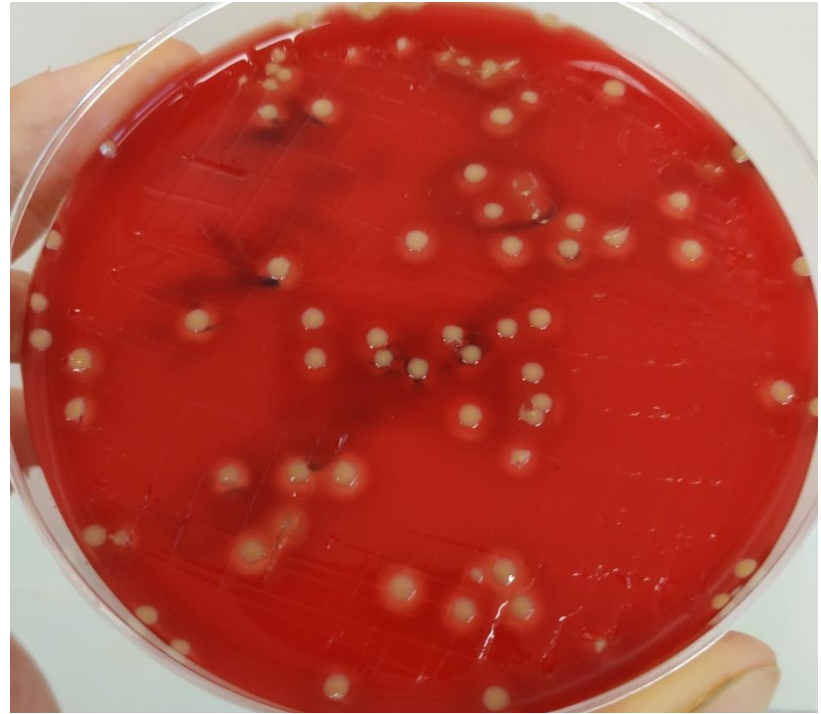
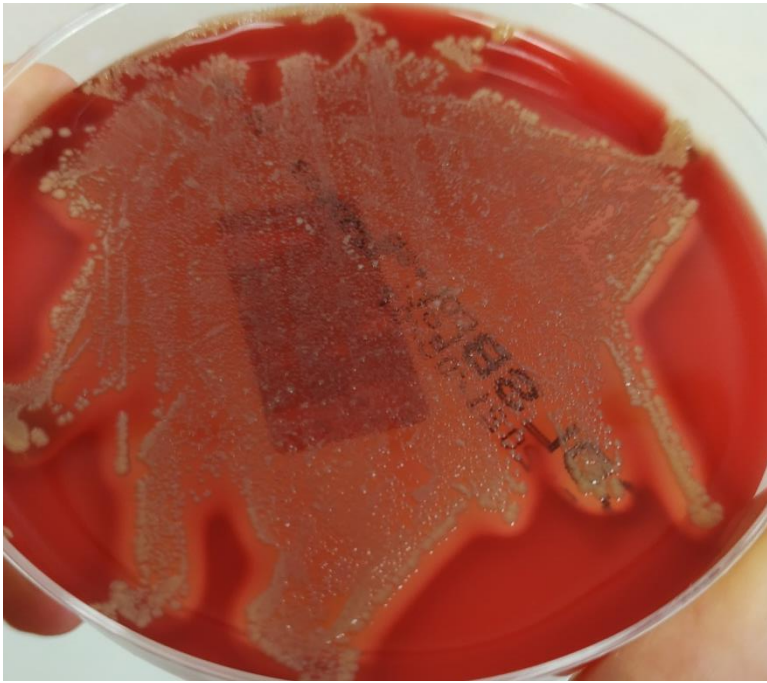
Žena, 69 let, bez ATB alergie, léčena i.v. cefotaximem pro akutní pyelonefritidu, nemožnost zajištění periferního cévního vstupu, proto ATB podávána do centrálního žilního katetru (CŽK, v. subclavia), rychlá úprava stavu.

Po 3 dnech zhoršení, trombóza a zarudnutí v místě vstupu CŽK, febrilie, třesavka

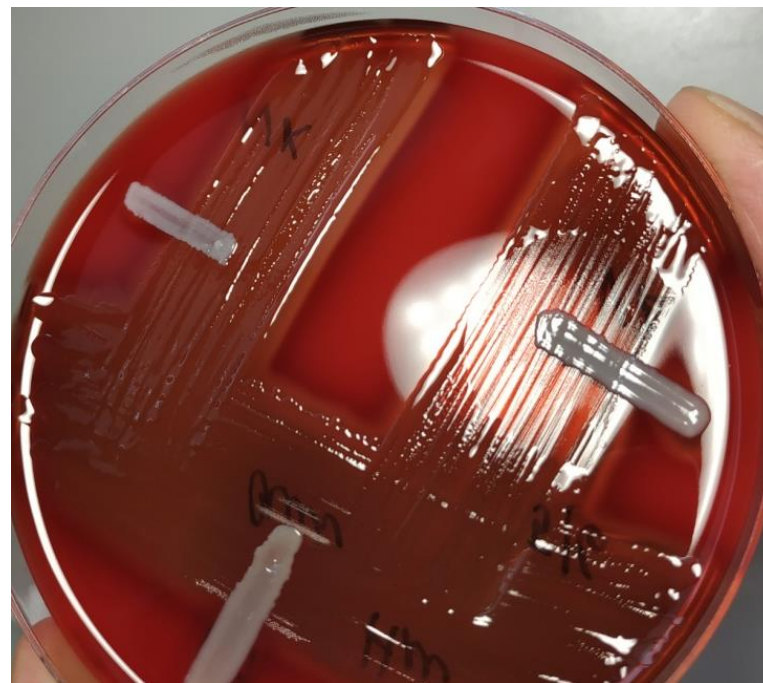
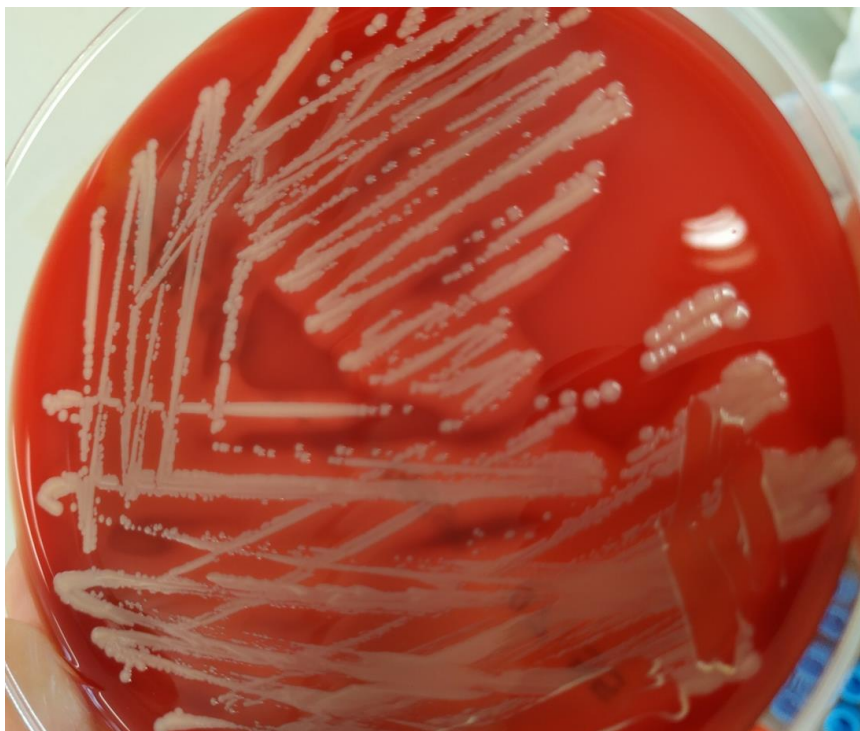
Katetr odstraněn, špička odeslána ke kultivačnímu vyšetření, odebrána krev na hemokultivaci.

Zahájena léčba oxacilinem s dobrým klinickým efektem, pacientka za dalších 7 dní propuštěna.

# Kultivační vyšetření - katetr



## Výsledek hemokultivace 1:



Disk cefoxitinu: inhibiční zóna 30 mm

4 týdny po propuštění febrilie, třesavka, kruté bolesti zad,  
zchvácenost – pacientka znova hospitalizována

Urgentní MRI vyšetření prokázalo spondylodiscitidu L2-3

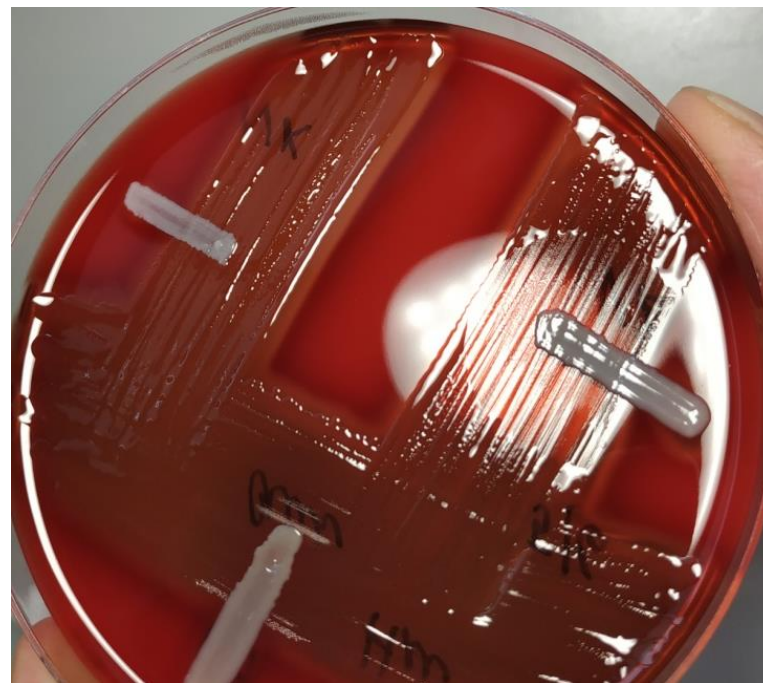
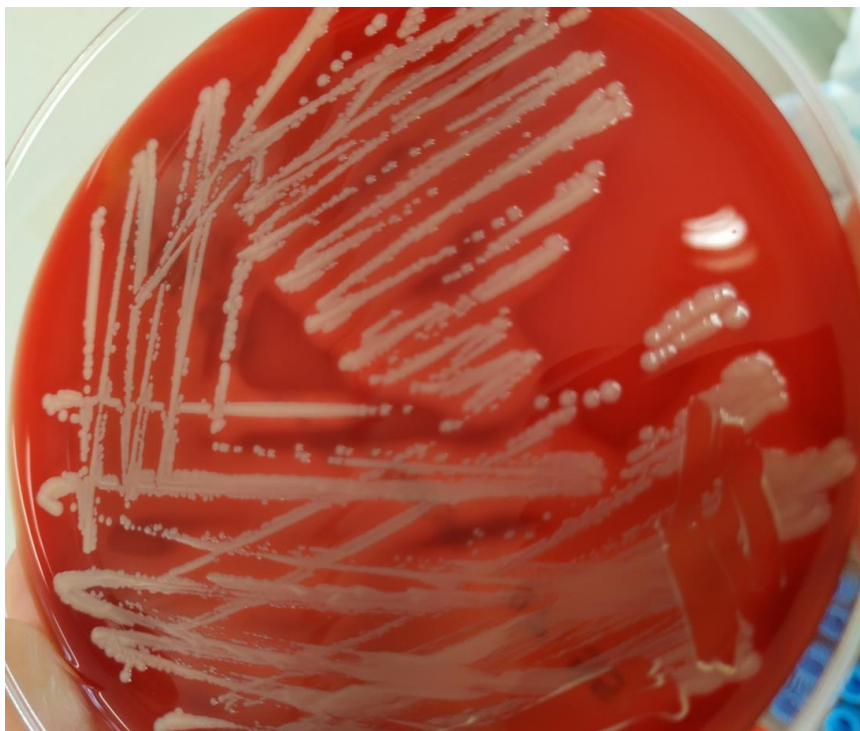
Odebrána krev na hemokultivaci

Léčba spondylodiscitidy:

Oxacilin i. v. 6 týdnů

Pokračování p. o. léčba další 3 měsíce

## Výsledek hemokultivace 1:



Disk cefoxitinu: inhibiční zóna 30 mm

# Katetrová infekce – postup se zachováním katetru

Muž, 83 let, polymorbidní pacient, dlouhodobě hospitalizován v centru následné péče

Centrální žilní katetr zaveden několik týdnů

Náhle vzniklá zimnice, třesavka, klinicky bez zn. pneumonie, IMC, kůže bez defektů a dekubitů

Podezření na katetrovou infekci

Odběr krve z periferní žíly a CŽK ve stejnou dobu

07.11.2022-20:55	10.11.2022	Hemokultivace	anaerobní	periferie	HK,HKp,HKv
		<input type="checkbox"/> Preparát z klinického materiálu: g+koky ve dvojicích a hloučcích			
		<input type="checkbox"/> Staphylococcus aureus			
		<input type="checkbox"/> negativní			
		<input type="checkbox"/> dtto			
07.11.2022-20:54	10.11.2022	Hemokultivace	anaerobní	centrální žilní katétr	HK,HKp,HKv
		<input type="checkbox"/> Preparát z klinického materiálu: g+koky ve dvojicích a hloučcích			
		<input type="checkbox"/> Staphylococcus aureus			
		<input type="checkbox"/> negativní			
		<input type="checkbox"/> dtto			
07.11.2022-20:54	10.11.2022	Hemokultivace	aerobní	periferie	HK,HKp,HKv
		<input type="checkbox"/> Preparát z klinického materiálu: g+koky ve dvojicích a hloučcích			
		<input type="checkbox"/> Staphylococcus aureus			
		<input type="checkbox"/> dtto			
07.11.2022-20:52	10.11.2022	Hemokultivace	aerobní	centrální žilní katétr	HK,HKp,HKv
		<input type="checkbox"/> Preparát z klinického materiálu: g+koky ve dvojicích a hloučcích			
		<input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus aureus			
		<input type="checkbox"/> dtto			

# Výsledky hemokultivace

DG z.: E118 Diabetes mellitus 2. typu s neurčenými k  
DG o.:

upř+lok: aerobní centrální žilní katétr  
odděl: LDN6 LDN II. - o.úžková stanice

uzavřeno: 10.11.2022-08:50

Kult	Dat	Operace	Výsledek
		MIKROSKOPICKY	
	08.11-07:16	Preparát z klinického materiálu:	g+koky ve dvojicích a hloučcích
		Kultivace	
1	07.11-20:52	krevní agar (Columbia) - hemokultura	Staphylococcus aureus
	09.11-08:17	EARSS	
	08.11-10:45	MRSA (imunochromatografická detekce)	negativní
	08.11-10:27	citl zóny Stafylokoky (3 řady)	OXA+ PEN- COT+ ERY+ KLI+ TET+ RIF+ OFL- VAN+ TEI+ GEN- LNZ+ TGC+ CPT+
	08.11-06:22	Doba do pozitivity	12h - 23m
	08.11-07:16	MacConkey půda HK	
	08.11-07:16	Identifikace Maldi - z hemokultivace po 2 hod	<del>Staphylococcus aureus</del>
		Mikroaerofilní kultivace	
	08.11-07:16	čokoládový agar	dtto

DG z.: E118 Diabetes mellitus 2. typu s neurčenými k  
DG o.:

upř+lok: aerobní periferie  
odděl: LDN6 LDN II. - o.úžková stanice

uzavřeno: 10.11.2022-08:50

Kult	Dat	Operace	Výsledek
		MIKROSKOPICKY	
	08.11-10:25	Preparát z klinického materiálu:	g+koky ve dvojicích a hloučcích
		Kultivace	
	07.11-20:54	krevní agar (Columbia) - hemokultura	Staphylococcus aureus
	08.11-10:23	Doba do pozitivity	16h - 24m
	08.11-10:25	MacConkey půda HK	
		Mikroaerofilní kultivace	
	08.11-10:25	čokoládový agar	dtto