

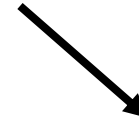
Laboratorní diagnostika v infektologii

Laboratorní vyšetření



Specifická

vyšetřuje odd.
mikrobiologie a imunologie



Nespecifická

vyšetřuje odd.
biochemie, hematologie
(FW, CRP, KO+diff.,
urea, kreatinin, JT,
minerály ad.)

Pacient



Diferenciální diagnóza



Serologie

diagnostický titr
nebo 4-násobný
vzestup titru

Přímá detekce

mikroskop
detekce Ag,
toxinu, D(R)NA

Kultivace

výhoda možného
vyšetření citlivosti
mikroba

Bakteriální kultivace

- správný odběr
 - nejvhodnější materiál
 - minimalizace kontaminace
- dostatečné množství
- šetrný a rychlý transport (transport.půdy)
- delší skladování při $t \sim 5^{\circ}\text{C}$
- získání citlivosti k ATB

Nejčastější materiál k bakteriální kultivaci

- hemokultura
- výtěr T, N
 - nejčastěji *S. pyogenes* sk. A; *N. gonorrhoe*, *C. diphtheriae* - na žádost
- sputum, tracheální aspirát, bronchiální výplach
- moč
- výtěr z rekta, stolice
- stěr z kožních lézí, pustul, abscesů
- mozkomíšní mok
- stěr ze spojivek

Interpretace bakteriologických vyšetření

Přirozená mikroflóra

dutina ústní

- viridující streptokoky, anaeroby, *Candida* sp.

nos

- stejná jako na kůži, *Staphylococcus aureus*
(u 30 % zdravých lidí)

nasopharynx

- jako d.ú., dále *Haemophilus influenzae*,
Neisseria meningitidis, *S. pneumoniae*)

distální uretra

- KN stafylokoky, difteroidy, enterokoky, lactobacily, mykoplasmata, streptokoky, ureaplastmata, bakteroidy, peptostreptokoky

Odběr hemokultur

- při **vzestupu** TT nebo třesavce
- **nejlépe před** nasazením ATB
- pokud již nasazena ATB léčba a není možné ji vysadit, pak **těsně před** další dávkou
- **aseptická technika odběru** - dezinfekce rukou odebírajícího, rukavice, dezinfekce místa venepunkce, dezinfekce gumové zátky na lahvičce
- **objem**: dospělý - 20 ml/1 HK (10 ml/aer+anaer. lahv.)
dítě do 20 kg - 1-5 ml dle hmotnosti, spec.lahvička

Odběr hemokultur

- 2-4 sady z různých míst perif. venepunkce
 - výjimečně z CŽK
- založení co nejdříve do 16 hod. po odběru
- přechodné uchování při pokojové teplotě nebo 37°C dle instrukcí výrobce
- TTD (time to detection)
 - čas potřebný pro detekci mikroorganismu
 - závisí na metabolismu mikroba a iniciální náloži v krvi

Hemokultivační systémy (Bactec, BacTAlert)

princip: detekce patogenu na základě zvýšení koncentrace CO_2/O_2 v lahvičce

- scan každých 10-20 min., při pozitivitě spustí přístroj alarm

Interpretace pozitivních hemokultur

- ve většině případů pozitivita do 48 hod.
- infikující bakterie často do 24 hod.

Kontaminanty bez klinického významu:

Propionibacterium acnes

Staphylococcus epidermidis a další KN stafykoky

- pokud není CŽK, i.v. vstup, chlopenní náhrada

viridující streptokoky (s výjimkou skupiny *S. milleri*)

- pokud není podezření na IE či zaveden CŽK

difteroidy

Izolace/kultivace virových agens

- průkaz viability viru
- možnost testování antivirotik
- další studium viru
- nižší citlivost
- pomalé (7-21 dní), vyžaduje různé buněčné linie
- zkušený personál
- není rutinní metodou

Detekce antigenu

ELISA (enzyme immunoassay)

- různá senzitivita i specifita
- průkaz bakterií včetně toxinů, virů, hub, parazitů

Detekce antigenu - pokrač.

Imunofluorescence

- přímá, nepřímá (citlivější)
- využívá monoklonální protilátky
- nasopharyngeální stěr/aspirát
- např. chřipka, RSV, HSV, VZV

Latex. aglutinace -

- bedside test
- diagnostika virových infekcí GIT
- dobrá citlivost

Serologie

- detekce humorální imunitní odpovědi
- výhoda u obtížně prokazatelných patogenů
- rychlá, neinvazivní
- nevadí léčba ATB
- nevýhody - zkřížená reaktivita, imunosuprimování
- sérum (párový odběr), mozkomíšní mok

Serologie - pokrač.

- vzorky: sérum (párový odběr), mozkomíšní mok

METODY:

- ELISA
- Western blot (konfirmasiace)
- aglutinace (přímá, latexová, hemaglutinace)
- komplement-fixační reakce
- imunofluorescence

Interpretace serologie

- nutná opatrnost, zvážit anamnesu a symptomy
- průkaz akutní infekce IgM Ab nebo serokonverzí
- **4násobný vzestup** titru mezi odběry
- IgM Ab - mohou přetrvávat měsíce, zvýšené při reaktivaci
- stabilní IgG Ab - **prodělaná infekce** v minulosti
- **věk** - narušení produkce Ab u starých osob, novorozenců, imunokompromitovaných
- přenos protilátek **z matky na plod**
- přenos Ab krevními deriváty
- **nespecifická reaktivita** - herpesviry ad.

Hemaglutinace u infekční mononukleózy

- **Paul-Bunnelova reakce** (Erikson, OCH test, Monospot)
 - průkaz primoinfekce EBV
 - falešně negat. u dětí, může být i falešně pozit.
 - při dg. rozpacích doplnit specif. protilátky

Molekulárně-biologické metody

PCR, LCR

- dnes již velké množství patogenů
- vyžaduje zkušený personál
- využití u bakt. infekcí *N. meningitidis*, *M. tuberculosis*, *Strep. pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*
- viry (*HSV 1,2*, *CMV*, enteroviry, *EBV*, parvovirus B19)
- často falešně pozitivní i negativní výsledky
- real-time PCR významně redukuje nedostatky metody

Biomarkery u bakteriálních infekcí a sepse

CRP - produkován v játrech (vliv IL-6, TNF- α)

prokalcitonin (PCT) - u sepse dochází k produkci PCT v celé řadě somatických buněk

počet leukocytů, neutrofilů, lymfocytů

cytokiny

TREM-1

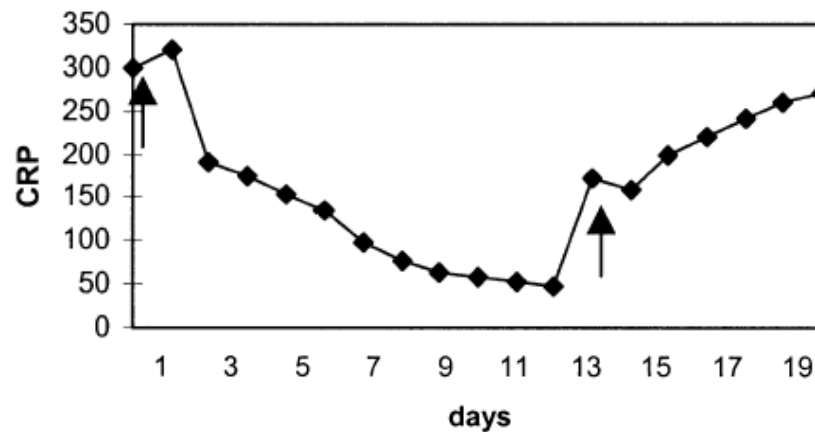
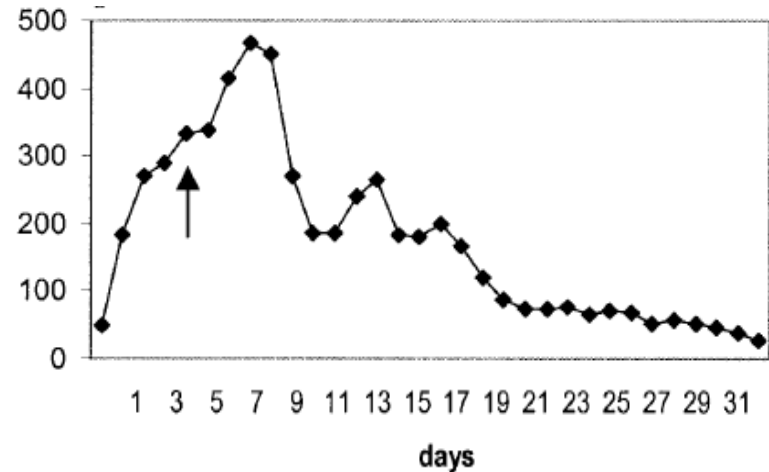
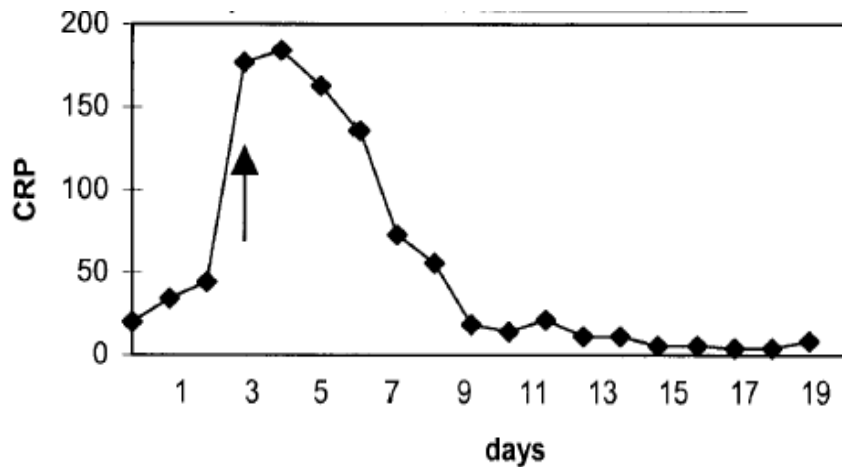
testováno dalších až 160 molekul

Biomarkery u sepsse

| | |
|--|--|
| General Variables | |
| Fever or hypothermia | |
| Tachycardia | |
| Tachypnea | |
| Hyperglycemia (in the absence of diabetes) | |
| Inflammatory Variables | |
| Leukocytosis or leucopenia | |
| Raised plasma CRP concentration | |
| Raised PCT concentration | |
| Hemodynamic Variables | |
| Arterial hypotension | |
| High cardiac index | |
| Mixed venous oxygen saturation >70% | |
| Organ Dysfunction Variables | |
| Arterial hypoxemia | |
| Acute oliguria | |
| Altered mental status | |
| Unexplained coagulation abnormalities | |
| Unexplained ileus | |
| Unexplained hyperbilirubinemia | |
| Tissue Perfusion Variables | |
| Unexplained hyperlactatemia | |
| Decreased capillary refill | |

C-reaktivní protein

- sekrece za 4-6 hod., max.za 36-50 hod.
- biol. poločas 16 hod.



Prokalcitonin

- **prokalcitonin (PCT)** – u sepse dochází k produkci PCT v celé řadě somatických buněk
- stimulace produkce PCT – bakteriální toxiny, TNF- α , IL-1 β
- není prohormon kalcitoninu, fyziol. fce není známa
- detekovatelný za **3-4 hod.**, max. za **14 hod**
- pomalý pokles – poločas v séru **22-35 hod.**
- produkce PCT nekoreluje s jaterními či renálními parametry

PCT

| koncentrace PCT (ng/l) | atb terapie |
|-------------------------------|--------------------|
| <0,1 [*] | Ne |
| 0,1 – 0,25 [*] | Ne |
| 0,25 – 0,5 ⁺ | Ano |

*Kontrolní vyšetření 6 – 24 hod.; ⁺Kontrolní vyšetření 3 dny

Interpretace vyš. zánětlivých markerů

- kinetika CRP je pomalejší než PCT
- CRP slabě koreluje s tíží sepse
- CRP je citlivý, ale nespecifický ukazatel
- produkce CRP může být ovlivněna imunosupresí
- PCT je více specifický v diagnostice infekčního zánětu a sepse

Krevní obraz u inf. chorob

KO je vyšetření:

leukocytů, erytrocytů, Hb, Hct, trombocytů

Diferenciál

- určuje zastoupení jednotlivých populací bílých krvinek
 - lymfo, mono, granulocyty

Změny v KO u infekce jsou způsobeny:

- působením patogenu
- přidruženým onemocněním, chronicitou infekce
- účinkem léků

Změny v krevním obraze

Pancytopenie

- miliární TBC, VHB, HIV
- chloramfenikol - aplastická anémie/reverz. dřevňový útlum, linezolid

Leukopenie

- virové hepatitidy, EBV, CMV, chřipka, tyfus, malárie, m. Dengue, rickettsiózy, G- sepse
- léky - interferony, ATB (včetně PNC)

Krevní obraz u inf. chorob - pokrač.

Leukocytóza

- infekční i neinfekční zánět

Neutrofilie

- infekce

Eosinofilie

- parazitární onemocnění (kromě prvoků)
- larvální toxokaróza

Krevní obraz u inf. chorob - pokrač.

Lymfocytóza (>4000/microl)

reaktivní při viróze - CMV, EBV, TBC, lues, pertuse

Lymfocytopenie (<1500/microl)

při léčbě GK, miliární TBC, HIV, ale i chřipka!

Krevní obraz u inf. chorob - pokrač.

Trombocytóza

Kawasakiho syndrom

chron.- leukemie, malignity, cirhoza, vaskulitidy

Trombocytopenie

malárie, sepse, DIC, erhlichioza

zarděnky, příušnice, dengue, EBV, CMV, varicela, HIV

poléková (trimetoprim), autoimunitní

chronická - většinou neinfekční příčina

KOŽNÍ TESTY

- 1880 - Robert Koch
- detekce akutní i recentní infekce
- APC
- CD4+ T lymfocyty
 - IL-2, IL-3, IL-4, IFN-gamma

KOŽNÍ TESTY

- TBC (alternat.metoda QuantiFeron)
- lepra
- leishmanióza
- histoplasmóza

ANERGIE: systémové infekce, virové infekce, léčba kortikoidy

Take-home message

Lékař musí i v infektologii vědět:

- co vyšetřuje
- proč to vyšetřuje
- co znamená výsledek vyšetření (interpretace)

Odběr vzorků vždy před léčbou ATB!