



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Sciences

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

**Změny střevní flóry u batolat po aplikaci antibiotik**

## **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Studijní program:

**SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ**

**Autor:** Jitka Štaberňáková

**Vedoucí práce:** prof. MUDr. Miloš Velemínský, CSc., dr. h. c.

České Budějovice 2019

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem Změny střevní flóry u batolat po aplikaci antibiotik jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 03. 05. 2019

.....

## **Poděkování**

Děkuji panu prof. MUDr. Miloši Velemínskému CSc., dr.h.c. za vedení mé bakalářské práce. Dále děkuji laborantkám v mikrobiologické části laboratoře Stafila k. s. za ochotu při praktické části. A nakonec děkuji své rodině, která mě po celou dobu mého studia podporovala.

## **Změny střevní flóry u batolat po aplikaci antibiotik**

### **Abstrakt**

V teoretické části jsem se zabývala charakteristikou bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*. Popsala jsem průběh mikrobiologického vyšetření. Dále jsem popsala charakteristiku antibiotik od mechanismu působení až po nežádoucí účinky.

Cílem mé bakalářské práce bylo zjistit, jak je ovlivněn střevní mikrobiom po podání antibiotiku Klacid. Ve spolupráci s dětským lékařem bylo provedeno 76 výtěrů z rekta od 38 batolat, kterým lékař indikoval antibiotikum Klacid na léčbu respiračního onemocnění. Byly provedeny dva výtěry. Jeden výtěr byl proveden před zahájením antibiotické léčby a druhý po ukončení antibiotické léčby. Oba výtěry z rekta byly poslány do laboratoře Stafila k.s. na mikrobiologické vyšetření aerobních kmenů. Vzorky jsem naočkovala, v průběhu dalších dní byly vzorky hodnoceny. Bližší určení jednotlivých bakterií bylo provedeno pomocí biochemických testů. Získala jsem výsledky, které jsem dále zpracovala.

Osvojila jsem si postup mikrobiologického vyšetření na 76 vzorcích bakterií. Zjistila jsem, že v 76 % dochází k nevýznamné změně oportunních bakterií po antibiotické léčbě, v dalších 24 % došlo k ústupu patogenní flóry.

### **Klíčová slova**

enterobakterie; kultivační půdy; antibiotika; batole; střevní mikrobiom; probiotika

## **Changes in intestinal flora in toddlers after application of antibiotics**

### **Abstract**

In the theoretical part, I concentrated on the characteristics of the bacteria from the *Enterobacteriaceae* family. I followed up with aerobic intestinal flora, which we establish by common cultivation. I described the course of microbiological examination and the characteristics of antibiotics from the mechanisms of their function to their side effects.

The aim of my bachelor's thesis was to establish, how the intestinal microbiome is affected after the administration of the antibiotic Klacid. In collaboration with a pediatrician, 76 rectal swabs were performed on 38 toddlers, to whom Klacid was prescribed to cure a respiratory disease. Two swabs were performed; the first performed before the beginning of treatment by Klacid and the second after the conclusion of the antibiotic treatment. Both of the swabs were sent to the laboratory of Stafila k.s. for a microbiological examination of aerobic strains. The samples were inoculated and during the next days also evaluated. Using biochemical examination, further determination of the individual bacteria was performed.

I acquired microbiological examination of 76 samples of bacteria. I determined that in 76% only an insignificant change in the opportunistic bacteria occurred after the antibiotic treatment; in the next 24%, there was a recess in the pathogenic flora.

### **Keywords**

enterobacteria; cultivation medium; antibiotics; toddler; intestinal microbiome; probiotics

# Obsah

1.	Současný stav.....	9
1.1	Střevní mikroflóra .....	9
1.1.1	Enterobakterie .....	11
1.2	Patogenní kmeny .....	13
1.2.1	Rod <i>Campylobacter</i> .....	13
1.2.2	Rod <i>Salmonella</i> .....	14
1.2.3	Rod <i>Yersinia</i> .....	14
1.2.4	Rod <i>Shigella</i> .....	15
1.2.5	Rod <i>Staphylococcus</i> .....	15
1.3	Preanalytická část mikrobiologického vyšetření.....	16
1.3.1	Odběr vzorku .....	16
1.3.2	Transport materiálu.....	16
1.3.3	Příjem materiálu.....	17
1.3.4	Kritéria pro odmítnutí vzorku .....	17
1.4	Analytická část mikrobiologického vyšetření.....	19
1.4.1	Kultivace .....	19
1.4.2	Kultivační půdy.....	20
1.4.3	Druhy kultivačních půd .....	21
1.5	Antibiotika.....	26
1.5.1	Rozdělení antibiotik podle spektra účinnosti.....	27
1.5.2	Beta-laktamová antibiotika .....	27
1.5.3	Glykopeptidová antibiotika.....	31
1.5.4	Aminoglykosidová antibiotika.....	31

1.5.5	Polypeptidová antibiotika .....	32
1.5.6	Vliv antibiotik na gastrointestinální trakt .....	32
2.	Cíl práce a výzkumné otázky .....	34
3.	Metodika .....	35
3.1	Charakteristika souboru .....	35
3.2	Postup mikrobiologického vyšetření .....	35
3.2.1	Příjem vzorku .....	35
3.2.2	Kultivace .....	35
3.2.3	Dourčovací testy .....	38
3.2.4	MALDI – TOF .....	47
3.2.5	Vyšetření citlivosti na antibiotika .....	49
4.	Výsledky .....	50
5.	Diskuse .....	55
6.	Závěr .....	57
7.	Seznam použitých zdrojů .....	58
8.	Seznam obrázků .....	63
9.	Seznam tabulek .....	64
	Přílohy .....	65
	Seznam zkratk .....	69

## Úvod

Běžná flóra chrání sliznici střeva před infekcí patogenními a oportunními bakteriemi. Střevní mikroflóra syntetizuje vitamin K, který je podstatný kofaktor při syntéze protrombinu podílející se na srážení krve; syntetizují též biotin, vitamin B12, thiamin a kyselinu listovou. Bakterie střevní mikroflóry mohou fermentovat vlákninu, která je pro člověka nestravitelná. Po léčbě antibiotiky se může běžná flóra střeva zničit a proto může dojít k infekci střeva nebo osídlení neprospěšnými mikroorganismy, které mohou způsobit průjemy. V posledních letech došlo k razantní změně epidemiologie infekcí vyvolaných *Clostridium difficile*. Kolitida vyvolaná *Clostridium difficile* je infekční choroba různé závažnosti, která může probíhat jako banální průjmové onemocnění, ale také jako život-ohrožující nemoc provázená paralytickým ileem a bolestivým rozepnutím tračníku, přecházející do sekundární sepse.

Největší součástí běžné střevní mikroflóry jsou bakterie rodu *Escherichia*. Mezi patogenními zástupci, můžeme nejčastěji nalézt rody *Shigella*, *Salmonella* a *Campylobacter*.

Probiotika jsou živé mikroorganismy (mikrobiální doplňky stravy) zatímco prebiotika jsou potraviny, které mají selektivní účinek na metabolismus tlustého střeva. Probiotika a prebiotika mají vliv na správné fungování a funkci střeva. Bakterie mléčného kvašení jako jsou rody *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, a jejich fermentované výrobky, jsou účinné na zlepšení vrozené a adaptivní imunity, prevencí proti poškození žaludeční sliznice, zmírnění alergií a jako obrana proti střevní patogenní infekci. Probiotika mohou být bakterie a kvasinky, přesto jsou většina probiotik bakterie. Nejvíce se využívají bakterie mléčného kvašení: *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, druhy *Bifidobacterium*, a *Escherichia coli*.



# 1. Současný stav

## 1.1 Střevní mikroflóra

Fyziologická mikroflóra trávicího ústrojí je komplexní ekosystém sestávající z bakterií jak aerobních, tak anaerobních, virů, hub a dalších mikroorganismů (Lata, 2011).

Mikroflóra je definována jako společenství mikroorganismů, včetně bakterií, archaea, virů a některých jednobuněčných eukaryot, žijících ve specifickém prostředí (García- Castillo, 2016).

Většina z těchto mikrobů žije ve střevech a mají velký vliv na lidský život. Kromě toho, že pomáhají trávit potravu. Ovlivňují metabolismus léků a cizorodých látek. Mají velký vliv na správné fungování imunitního systému a také na psychiku člověka (Podroužek, 2016).

Složení mikroflóry střevního traktu je rozdílné podle lokalizace (tabulka 1). Mikrobiální flóra orální části tenkého střeva má složení podobné jako žaludek a je také do jisté míry ovlivňována patologickými stavy žaludku (Lata, 2011).

Ve střevní mikroflóře se můžou nacházet bakterie fakultativně anaerobní, ale také striktně anaerobní (Gorkiewicz, 2018).

Plod v těle matky by měl být sterilní, až po narození začínají mikroorganismy osidlovat naše tělo. Trávicí trakt každého novorozence je jinak osidlován a kolonizují ho různé druhy mikroorganismů. (Azad, 2013).

Záleží i na tom, zda byl porod veden přirozenou cestou, nebo císařským řezem. Při klasickém porodu přichází dítě nejprve do styku s vaginální mikroflórou matky a zastoupení mikroorganismů je vyšší než při porodu císařským řezem (Song, 2012).

Lidská mikroflóra se rozvíjí během individuálního vývoje. Struktura fyziologické mikroflóry není během lidského života neměnná, ale dochází postupně k modulaci definitivního mikrobiálního osídlení trávicího traktu stejně jako k dalším věkovým změnám (Zbořil, 2005).

Mikrobiální osídlení trávicího traktu se mění v průběhu života. K hlavním změnám mikroflóry trávicího traktu a přiblížení se k dospělému stavu, dochází během přechodu od plného kojení ke smíšené stravě (Švestka, 2007).

Zkoumání těchto bakteriálních druhů se provádělo kultivací, při které se zjistilo, že velká většina bakterií, obsažených ve střevech není možno kultivovat. Při kultivaci nedokážeme napodobit podmínky, které by jim vyhovovaly jako je anaerobní prostředí, pH, kultivační médium, teplota (Thursby, 2017).

Pacientům s nevratným selháním tenkého střeva, kteří jsou odkázáni na parenterální výživu je doporučena transplantace střeva. Selháním střeva rozumíme neschopnost střeva zajistit dostatečnou výživu, vodní a minerálový metabolismus pacienta. Nejčastější příčinou selhání střeva je jeho ztráta. Další příčinou mohou být závažné poruchy funkce. Život ohrožující komplikace parenterální výživy představují nejčastější důvod indikace k transplantaci (IKEM, 2019).

**Tabulka 1:** Složení mikrobioty lidského GIT

Mikroorganismy	Počty mikroorganismů (CFU/g)			
	žaludek	jejunum	ileum	kolon
Celkový počet bakterií	0–10 <sup>3</sup>	0–10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup> –10 <sup>9</sup>	10 <sup>10</sup> –10 <sup>12</sup>
<b>Aerobní bakterie</b>				
Čeď <i>Enterobacteriaceae</i>	0–10 <sup>2</sup>	0–10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup> –10 <sup>7</sup>	10 <sup>4</sup> –10 <sup>10</sup>
Streptokoky	0–10 <sup>3</sup>	0–10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup> –10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup> –10 <sup>10</sup>
Stafilocoky	0–10 <sup>2</sup>	0–10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup> –10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup> –10 <sup>9</sup>
Laktobacili	0–10 <sup>3</sup>	0–10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup> –10 <sup>3</sup>	10 <sup>6</sup> –10 <sup>10</sup>
Kvasinky	0–10 <sup>3</sup>	0–10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> –10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> –10 <sup>6</sup>
<b>Anaerobní bakterie</b>				
Bakteroidy	vzácné	0–10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> –10 <sup>7</sup>	10 <sup>12</sup> –10 <sup>12</sup>
Bifidobakterie	vzácné	0–10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup> –10 <sup>9</sup>	10 <sup>4</sup> –10 <sup>11</sup>
Peptostreptokoky	vzácné	0–10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup> –10 <sup>6</sup>	10 <sup>10</sup> –10 <sup>12</sup>
Klostridia	vzácné	vzácné	10 <sup>2</sup> –10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup> –10 <sup>11</sup>
Eubakterie	vzácné	vzácné	vzácné	10 <sup>10</sup> –10 <sup>12</sup>

**Zdroj:** Lata, 2011

### 1.1.1 Enterobakterie

Čeď *Enterobacteriaceae* je z pohledu klinické mikrobiologie nejdůležitější čeď gramnegativních tyčinek, a možná bakterií vůbec. Mají však velký význam i pro jiná mikrobiologická odvětví, neboť mnohé jdou vděčným modelovým objektem. Platí to zejména pro bakterii možná nejznámější – druh *Escherichia coli*. Enterobakterie jsou gramnegativní tyčky se zaoblenými konci, které jsou dlouhé 2 - 3 μm, tlusté 0,5 - 0,8 μm. Některé mají schopnost se pohybovat. Mezi nepohyblivé bakterie patří *Klebsiella*, *Shigella* a *Yersinia pestis* (Votava, 2003).

Mikroby jsou poměrně kultivačně nenáročné. Většina roste na jednoduchých kultivačních půdách, mají respiratorní a fermentativní metabolismus, ze sacharidů tvoří kyseliny a často i plyn při fermentaci. Tvoří katalázu, ale netvoří oxidázu. (Bednář, 1999).

Čeď zahrnuje vedle druhů saprofytických i druhy patogenní pro člověka, zvířata a rostliny (Bednář, 1999).

#### 1.1.1.1 Rod *Escherichia*

Nejznámější je *Escherichia coli*, která slouží jako důležitý modelový organismus. *E.coli* je běžnou součástí střevní mikroflóry zdravých lidí. Je komenzálem, částečně saprofytem a také symbiontem, neboť svým působením jednak znemožňuje průnik patogenů (produkuje tzv. koliciny, které jsou pro některé jiné bakterie toxické), jednak je makroorganismu prospěšná i přímo – podílí se na tvorbě některých vitamínů, především vitamínu K (Votava, 2003).

Jedná se o podmíněně patogenního mikroba, který může způsobovat i chorobné stavy. Ve střevě je to možné jen tehdy, když je kmen vybaven specifickými faktory virulence; mimo střevo je *E.coli* téměř vždy patogenní (Votava, 2003).

Biochemicky je to průměrně aktivní enterobakterie. Štěpí glukosu a laktosu a za tvorby plynu, tvoří indol, neštěpí močovinu. Problémem mohou být kmeny s opožděnou sacharolytickou aktivitou, které se chovají atypicky a které se mohou na půdách s laktosou jevit jako laktosanegativní (Votava, 2003).

Morfologicky se *E. coli* nijak neodlišuje od ostatních enterobakterií. Je pohyblivá. *E. coli* je kultivována na široké škále půd, přičemž za ideálních podmínek dosahuje její

generační doba 20 minut. Na Endově agaru je nápadná purpurová barva kolonií a jejich okolí (Votava, 2003).

Vedle druhu *E. coli* najdeme v rodu *Escherichia* i další druhy, ty však člověka nenapadají nebo jen výjimečně, např. *Escherichia vulneris* a *Escherichia hermannii*, či nově popsaná *Escherichia albertii* (Votava, 2003).

Kmeny enteropatogenní *E. coli* (EPEC) způsobují novorozenecké průjmy, při kterých dochází k velmi rychlé dehydrataci organismu. Nebyla u nich prokázána tvorba toxinů a u větších dětí nebo dospělých osob již žádné onemocnění nevyvolávají. Jejich patogenní účinek je dán poškozením epiteliálního povrchu střeva, vzniklé těsným přilnutím bakterie k povrchu enterocytu při kterém dochází k destrukci mikrokloků (Klaban, 2011).

Enterohemoragická *E. coli* (EHEC) jsou celosvětovými původci hemoragické kolitidy a klasického (tj. diarrhea-associated) hemolyticko-uremického syndromu (HUS). HUS je velice závažné systémové onemocnění, které je nejčastější příčinou akutního selhání ledvin v dětském věku a je potenciálně smrtelné. Klinicky nejdůležitější a celosvětově rozšířený EHEC sérotyp je *E. coli* O157:H7, který je nejčastějším původcem sporadických onemocnění, především HUS, a vyvolal řadu rozsáhlých epidemií. Kromě EHEC O157:H7 existuje několik dalších EHEC sérotypů, které jsou často izolovány od pacientů s HUS a hemoragickou kolitidou na celém světě (Marejková, 2010).

Enteroinvazivní *E. coli* (EIEC) disponují faktory invazivity, které umožňují invazi do střeva. Infekce těmito kmeny vede ke krvavým průjmům. Mají podobný mechanismus patogenity jako Shigely (Votava, 2003).

### **1.1.1.2 Rod *Klebsiella***

Je blízká rodu *Enterobacter*, se kterým sdílí řadu charakteristik. Tento kmen byl izolován roku 1882 C. Friedlandrem. Mezi nejvýznamnějším členem rodu *Klebsiella* z čeledi *Enterobacteriaceae* patří *Klebsiella pneumoniae*. Je gramnegativní, nepohyblivá, fakultativně anaerobní tyčka, zapouzdřená, fermentující laktózu, neprodukuje indol, tvořící součást běžné flóry v ústech, trávicím traktu a na kůži (Votava, 2003).

### **1.1.1.3 Rod *Proteus***

Jedná se o gramnegativní, nesporulující, fakultativně anaerobní tyčinky. (Kushvaka, 2014). Velmi nápadný je jejich plazivý růst. Z biochemických vlastností mají schopnost tvořit ureázu. (Bednář, 1999).

Jsou dobře odolní vůči podmínkám ve střevě a prostředí. Kultivovat se dají na všech běžných půdách. Při kultivaci na agarových plotnách tvoří kolonie jako ostatní bakterie, ale zároveň se z místa inokulace plazí po povrchu agaru. Plazení má podobu koncentrických kruhů (Votava, 2003).

### **1.1.1.4 Rod *Enterobacter***

Jedná se o druhou nejběžnější enterobakterii lidského střeva. Je to pohyblivá gramnegativní tyčka (Votava, 2003). Enterobaktery se vyskytují přirozeně v půdě a ve vodě (Bednář, 1999). Je biochemicky hodně aktivní a roste na běžných půdách. Ve střevě nebývají zaznamenávány infekce. Mimo střevo může být patogenem jako ostatní enterobakterie (Votava, 2003).

## **1.2 Patogenní kmeny**

### **1.2.1 Rod *Campylobacter***

Kampylobaktery jsou zakřivené, případně až spirálovité gramnegativní bakterie, poměrně často se čile se pohybují díky polárně situovanému bičíku (Votava, 2003).

Všechny kampylobaktery mají pozitivní katalasovou i oxidasovou aktivitu (Ibrahim, 2019). Nejdůležitější druh, *Campylobacter jejuni*, lze celkem snadno rozpoznat od ostatních díky jeho schopnosti hydrolýzy hippurátu, rezistenci k cefalotinu a citlovosti k nalidixové kyselině (Votava, 2003).

Úspěšný záchyt kampylobakterů vychází jednak ze zajištěného transportu materiálu (Ameisova nebo Stuartova půda), jednak z užití speciálních kultivačních půd. K těm nejvíce používáním náleží Butzlerovo selektivní médium, Skirrowův agar nebo snad nejpoužívanější půda, totiž selektivní médium s aktivním uhlím bez krve (CSM agar, z ang. chorcoalbased selective medium) dle Karmaliho. Tato půda vykazuje větší

selektivitu než předchozí uvedená média. Kromě kultivace se také využívá mikroskopie (Votava, 2003).

### **1.2.2 Rod *Salmonella***

Jedná se o pohyblivé gramnegativní tyčky (s výjimkou *Salmonella gallinarum*). Rostou na běžných kultivačních půdách, na nichž však nemohou být od ostatních enterobakterií odlišeny, proto se i pro záchyt užívá selektivně diagnostických půd (Bednář, 1999).

Fermentují glukosu, maltosu, manitol a sorbitol s tvorbou plynu a kyseliny, většina tvoří H<sub>2</sub>S, neprodukuje indol, nehydrolyzuje močovinu a nedesaminuje fenylalanin (Bednář, 1999).

Antigenní struktura – antigeny jsou vázány v buněčné stěně (somatický O antigen) a v bičících (flagelární H antigen). Povrchové antigeny polysacharidové překrývají somatické antigeny a brání jejich aglutinaci; nejdůležitější z povrchových antigenů je Vi antigen u *Salmonella typhi*. U O antigenu je dřevná část společná pro všechny enterobakterie, O specifitu určují až postranní řetězce. Takzvané chemotypy jsou definovány podle stejného obsahu cukrů v postranních řetězcích (bez ohledu na jejich pořadí), takže chemotypy mohou obsahovat salmonely s různými O antigeny (Bednář, 1999).

### **1.2.3 Rod *Yersinia***

*Yersinia enterocolitica* a *Yersinia pseudotuberculosis* patří do skupiny obligátních patogenů. Jedná se o gramnegativní tyčinky, pohyblivé jen při nižších teplotách (kolem 25 °C). Kultivační náročnost odpovídá běžným enterobakteriím roste v rozmezí teplot od - 2 °C do 45 °C. Z biochemických vlastností je charakteristické štěpení močoviny. V diagnostice se používá půda CIN. K dourčení lze využít biochemických metod nebo můžeme použít aglutinaci. Běžné je i sérologické vyšetření protilátek proti O- antigenům. Jsou původci střevního onemocnění. *Yersinia enterocolitica* invazivně postihuje celou

střevní stěnu a díky šíření do mezenteriálních uzlin často imituje apendicitidu (Votava, 2003).

#### **1.2.4 Rod *Shigella***

Jde o gramnegativní, nepohyblivé tyčky. Kultivačně je náročnější, pro záchyt je vhodný deoxycholát-citrátový agar. Nápadná je disociace z S do R fáze. Tvoří kyseliny z glukosy bez tvorby plynu, netvoří sirovodík, nehydrolyzují močovinu, neutralizují citrát jako zdroj uhlíku (Bednář, 1999).

Tvoří kyseliny z glukosy bez tvorby plynu, netvoří sirovodík, nehydrolyzují močovinu, neutralizují citrát jako zdroj uhlíku (Bednář, 1999).

Jedná se o čistě lidský patogen na rozdíl od salmonely. Shigely se vyznačují schopností invadovat do buněk tlustého střeva, přičemž se intracelulárně množí a buňky jsou poškozeny za vzniku nekrózy a vředu (Votava, 2003).

Shigely mohou být přítomny ve fekálně znečištěné vodě, a také se mohou dostat i do potravin (Klaban, 2005).

#### **1.2.5 Rod *Staphylococcus***

*Staphylococcus aureus* řadíme mezi grampozitivní koky velikosti asi 1  $\mu\text{m}$ , které se mohou se vyskytovat v nepravidelných shlucích tvaru typických hroznů. Není pohyblivý, ale některé kmeny mohou tvořit pouzdra. (Bednář, 1994).

Stafylokokové infekce se dělí do dvou skupin a to podle koagulázy (schopnost koagulovat plazmu). První skupinou jsou koaguláza pozitivní stafylokoky a druhou jsou koaguláza negativní. (Beneš, 2009).

Kolonie *Staphylococcus aureus* jsou ve většině případů na kultivačních médiích barevné, mohou mít smetanovou, žlutou či oranžovou barvu a to díky karotenovým pigmentům. Na krevním agaru vytváří typickou zónu hemolýzy (Votava, 2003).

Způsobuje onemocnění, která jsou často hnisavá, případně s celkovými toxickými případy. Patogenita se vyznačuje produkcí extracelulárních proteinů (toxiny, enzymy). Toxiny patří mezi superantigeny (Votava, 2003).

Toxin syndromu toxického šoku 1 (TSST-1) je superantigen, který v malých koncentracích zvyšuje permeabilitu endotelií, přímo se napojuje na vazebná místa makrofágů a lymfocytů a vede k nadprodukci cytokinů, následně může vyústit v šokový stav, kdy hrozí až multiorgánové selhání (Votava, 2003).

### ***1.3 Preanalytická část mikrobiologického vyšetření***

#### ***1.3.1 Odběr vzorku***

Pro vyšetření bakteriologické se používá rektální výtěr. Pacient stojí (klečí) a opírá se o ruce (lokty) nebo leží (Koukalová, 2013). Provádíme pomocí tamponu napuštěného deoxychlolátcitrátovým agarem. Šroubovým pohybem zavedeme tampon do ampuly rekta tak, aby se povrch tamponu zbarvil stolicí (Mikšová, 2006).

Není vhodné používat suché tampony, transportované pouze v igelitovém sáčku bez transportního média dochází tak k vysušení vzorku (Kramář, 2007).

Pro účely parazitologického vyšetření se odebírá kousek stolice (zhruba velikosti lískového ořechu) umělohmotnou lopatičkou, která je součástí speciálního plastového kontejneru. Pro průraz nákazy roupem dětským se provádí stěr análních řas Schüffnerovou tyčinkou nebo jejich otisk lepicí páskou (Koukalová, 2013).

#### ***1.3.2 Transport materiálu***

Transport materiálu k mikrobiologickému vyšetření by měl být co nejrychlejší. Každé zdržení snižuje možnost úspěšné diagnostiky, zejména v případě náročných bakterií. Relativně nejlépe vydrží mikroorganismy podmínky a dobu transportu v tekutém materiálu a hemokulturách. Tuhý materiál a tkáně, které mohou zaschnout, je vhodné transportovat ve fyziologickém roztoku nebo bujónu. Nejméně vhodné pro déletrvající transport je použití suchého vatového tamponu bez transportního media (Koukalová, 2013).

Transportní půdy umožňují přežití mikrobů ve stejném počtu v době mezi odběrem klinického materiálu a jeho zpracováním v laboratoři. Bývají tekuté nebo polotuhé, místo



živin obvykle obsahují látky omezující metabolismus a látky absorbující toxické produkty metabolismu (např. aktivní uhlí). Příkladem je půda Stuartova nebo Amiesova (Koukalová, 2013).

### **Amiesovo transportní médium**

Amiesovo transportní médium obsahuje anorganické soli, thioglykolát sodný, 1 % agaru a ve většině modifikací i aktivní uhlí. Hodí se k transportu i těch nejchoulostivějších mikrobů (Votava, 2010).

### **1.3.3 Příjem materiálu**

Nezbytnou tj. minimální jednoznačnou identifikaci biologického materiálu na žádance a vzorku před přidělením laboratorního čísla tvoří jméno a příjmení pacienta a rodné číslo (číslo pojištění) a oba parametry se musí shodovat, jinak je nutné materiál odmítnout. Pokud je nádoba s biologickým materiálem označena pouze jménem a chybí další povinné identifikační údaje, může ji laboratoř přijmout pouze za předpokladu, že je jednoznačně připojen k žádance s komplexní identifikací pacienta (Ambrožová, 2018).

### **1.3.4 Kritéria pro odmítnutí vzorku**

Odmítnout lze:

- Žádanku s biologickým materiálem, na které chybí nebo jsou nečitelné základní údaje pro styk se zdravotní pojišťovnou (číslo pojištění, příjmení a jméno, typ zdravotní pojišťovny, IČZ odesílajícího lékaře nebo pracoviště, základní diagnóza) a není možné je doplnit na základě dotazu lékaře,
- žádanku dospělého pacienta od zdravotnického subjektu s odborností pediatrie (kromě indikace lékaře s odborností lékařská genetika),
- žádanku muže od zdravotnického subjektu s odborností gynekologie, žádanku ambulantního pacienta od subjektu s odborností lůžkového oddělení,
- žádanku nebo odběrovou nádobu znečištěnou biologickým materiálem,
- nádobu s biologickým materiálem, kde není způsob identifikace materiálu z hlediska nezaměnitelnosti dostatečný, za dostatečnou identifikaci materiálu se

považuje splnění uvedených pokynů o nezbytné identifikaci biologického materiálu,

- nádobu s biologickým materiálem, kde zjevně došlo k porušení doporučení o preanalytické fázi,
- neoznačenou nádobu s biologickým materiálem,
- biologický materiál bez žádanky (Ambrožová, 2018).

## **1.4 Analytická část mikrobiologického vyšetření**

### **1.4.1 Kultivace**

Cílem kultivace je získat mikroba z klinického materiálu v čisté kultuře, identifikovat ho biochemickými nebo jinými vybranými metodami, provést případně i jeho antigenní analýzu a určit citlivost k antimikrobním přípravkům (Koukalová, 2013). Kultivace je nejdůležitější diagnostickou metodou přímého průkazu v bakteriologii. Bakterie kultivujeme v tekutých nebo na tuhých půdách (Votava, 2010).

#### **Vhodné podmínky kultivace**

##### **1. Dostatečná vlhkost prostředí**

Dostatečná vlhkost prostředí je nezbytná pro bakteriální metabolismus. Nejlepší podmínky poskytují tekuté půdy, neboť živiny jsou přijímány celý povrchem těla. V tuhých půdách je asi 97 % obsahu vody vázáno v agaru. Při nutnosti prodloužit kultivaci je nutné umístit misky s naočkovanými kulturami do uzavřených nádob se zvýšenou tenzí vodních par (Koukalová, 2013).

##### **2. Optimální teplota**

Pro většinu bakterií patogenních pro člověka je optimální teplota 37°C (bakterie mezofilní, teplotní optimum mezi 20 - 40°C). Některé druhy snášejí teplotu nižší (psyrofilní, 0 - 20°C) nebo vyšší - termofilní, nad 40°C - (Koukalová, 2013).

##### **3. Optimální pH půdy**

Většina bakterií roste v neutrálním nebo slabě alkalickém prostředí. Extrémní pH může organismy usmrtit (Čechová a Janalíková, 2007). Optimální pH se pohybuje v rozmezí 7,2 - 7,4. Půdy kyselější jsou určeny pro kultivaci laktobacilů, alkalické půdy vyžadují vibria (Koukalová, 2013).

##### **4. Vhodná izotonie média**

Odpovídá obsahu 0,5 - 1 % NaCl. Stafylokoky a enterokoky jsou schopny snášet vyšší koncentraci NaCl, tato skutečnost je využívána pro přípravu selektivních půd (Koukalová, 2013).

## 5. Dostatek vhodných živin

Autotrofním bakteriím stačí kultivační půdy obsahující pouze anorganické látky jako zdroje uhlíku a dusíku. Heterotrofní bakterie, mezi které patří i všechny bakterie patogenní pro člověka, potřebují jako zdroje uhlíku a dusíku organické látky. Kromě nich musí kultivační médium obsahovat růstové faktory (krev, sérum, kvasniční extrakt), zdroje energie (cukry), pufrů, vitamíny, soli a ionty kovů, které tvoří součást bakteriálních enzymů. Součástí selektivních půdy mohou být i antibiotika, barviva a různé chemikálie. Půdy diagnostické obsahují navíc různé indikátory, např. pH (Koukalová, 2013).

## 6. Vhodné plynné prostředí

Podle vztahu ke kyslíku jsou bakterie děleny na :

- **striktně aerobní** - potřebují ke svému růstu a množení kyslík (např. rod *Pseudomonas*, *Mycobacterium*),
- **fakultativně anaerobní** - jsou schopny růst a množit se v kyslíkaté i bezkyslíkaté atmosféře (většina lékařsky významných bakterií, např. stafylokoky, escherichie),
- **striktně anaerobní** - rostou a množí se pouze v prostředí bez kyslíku (např. většina druhů rodu *Clostridium*),
- **anaerobní aerotolerantní** - mají anaerobní metabolismus, ale snášejí přítomnost kyslíku (např. laktobacily),
- **mikroaerofilní** - rostou v prostředí s redukovanou koncentrací kyslíku přibližně na 2 % (např. kampylobaktery),
- **kapnofilní** - potřebují prostředí se zvýšenou tenzí CO<sub>2</sub> (patogenní neisserie) (Koukalová, 2013).

### 1.4.2 Kultivační půdy

Kultivační půdy neboli média se dělí podle složení, konzistence a účelu na celou řadu druhů, Podle složení se rozeznávají půdy přirozené a syntetické, podle konzistence tekuté a pevné a podle účelu se půdy dělí na základní, obohacené, diagnostické, selektivní a

selektivně diagnostické, dále mj. půdy k antibiotickým zkouškám a ke stanovení účinných látek, půdy k uchování kultur a půdy transportní (Votava, 2010).

### **Tekuté půdy**

Tekuté půdy slouží k pomnožování bakterií, ale neumožňují rozlišit, zda se jedná o čistou kulturu nebo směs bakterií. Mikrobi rostou v tekutých půdách ve formě blanky na hladině, difuzního zákalu nebo sedimentu, případně kombinace uvedených možností (Koukalová, 2013).

Příkladem tekutých půd jsou nerozmanitější druhy bujonů, dále tzv. cukrové půdy založené na peptonové vodě nebo půda Šulova k pěstování mykobakterií. Bujony se rozplňují zhruba po 10 ml do bakteriologických zkumavek, cukrové půdy většinou do zkumavek zvaných cukrovky. Zkumavky se uzavírají kovovou nebo vatovou, vzácně pryžovou zátkou (Votava, 2010).

Půdy polotuhé jsou odvozeny z tekutých přidáním menšího procenta agarů, např. půda s 0,6 % agarů pro sledování pohybu (Koukalová, 2013).

### **Pevné (agarové) půdy**

Pevné (agarové) půdy jsou určeny k diagnostice bakterií, připravují se z tekutých přidáním 1 - 2 % agarové řasy. Bakterie rostou na pevných půdách v koloniích, někdy charakteristických pro určitý druh mikroba (Koukalová, 2013).

Agarové půdy se vlévají do Petriho misek v množství 25 ml na standardní misku o průměru 9 cm. Pokud se agarová půda rozplní do zkumavek a ty se ponechají v šikmé poloze, dostaneme po ztuhnutí tzv. šikmé agary (Votava, 2010).

#### ***1.4.3 Druhy kultivačních půd***

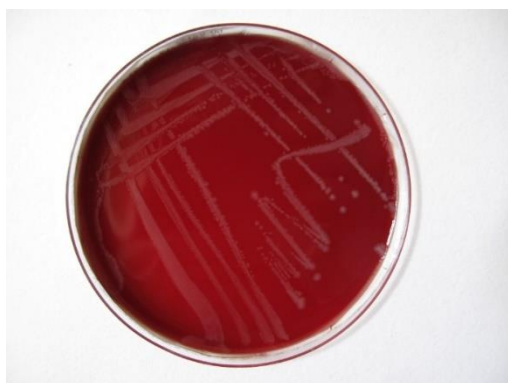
##### **Půdy základní**

Půdy základní umožňují růst většiny bakterií. Patří k nim např. masopeptonový bujón i agar méně náročné bakterie, krevní agar pro náročné druhy (Koukalová, 2013).

### **Půdy diagnostické**

Půdy diagnostické obohacující látky, které se mění vlivem metabolismu mikroba. Změna se projevuje rozdílnou morfologií, jinou barvou kolonie nebo půdy (např. půdy pro zjišťování zkvašování cukrů, deaminace nebo dekarboxylace aminokyselin, štěpení močoviny a další). Mezi půdy diagnostické patří i krevní agar, na kterém lze popisovat různé druhy hemolýzy (Koukalová, 2013).

**Obrázek 1.** Krevní agar



**Zdroj:** Labmediaservis

### **Chromogenní agar**

Kolonie vybraných mikrobů jsou na nich typicky zbarveny. Často se užívají k vyšetření moči. Například na jedné z nich roste *E.coli* v koloniích červených, enterokoky v modrozelených, proteové v nahnědlých atd. Mnohá chromogenní média obsahují ještě inhibitory růstu nežádoucích mikrobů, a proto je řadíme mezi selektivně diagnostické (Votava, 2010).

**Obrázek 2.** Chromogenní agar



**Zdroj:** Labmediaservis

### **Půdy selektivní**

Selektivní půdy jsou určeny k vybranému růstu patogenů. Jejich součástí jsou látky, které potlačují růst nežádoucích mikrobů (např. antibiotika, barviva, žluč, vysoká koncentrace soli). Typickou selektivní půdou je Sabouraudův agar umožňující růst kvasinek a plísní, inhibice růstu bakterií je zajištěna chloramfenikolem. Dalším příkladem je půdy s 10 % NaCl, která je vysoce selektivní pro stafylokoky (Koukalová, 2013).

**Obrázek 3.** Sabouraudův agar



**Zdroj:** Labmediaservis

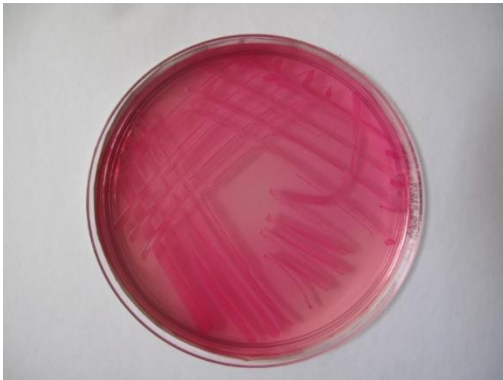
### **Půdy selektivně diagnostické**

Kombinují principy selektivních a diagnostických médií. Obsahují živný agarový základ, dále inhibitor růstu nežádoucích mikrobů, vhodný substrát a indikátor jeho změny. Příkladem selektivně diagnostických půd pro gramnegativní bakterie jsou Endova půda (selekce a diagnostika především enterobakterií), deoxycholát-citrátový agar (enterobakterie), Wilsonova-Blairova půda (*Salmonella typhi*) (Koukalová, 2013).

#### **Endova půda**

Endova půda je selektivně diagnostická pro gramnegativní tyčinky, růžové barvy. Inhibitorem růstu grampozitivních mikrobů je bazický fuchsin. Pro diagnostické účely obsahuje laktosu a indikátor její fermentace na aldehydy - Schiffovo reagens (bazický fuchsin odbarvený siřičitanem sodným). Bakterie rychle štěpící laktosu rostou v červených koloniích, laktosu nefermentující (obligátní střevní patogeny) jsou růžové. V dnešní době je půda Endova často nahrazována McConkeyovou, která má podobné vlastnosti (Koukalová, 2013).

**Obrázek 4.** Endův agar



**Zdroj:** Labmediaservis



**Obrázek 5.**MacConkeyův agar



**Zdroj:** Labmediaservis

### **DCA agar**

Deoxycholát-citrátový agar je rovněž selektivně diagnostický pro gramnegativní tyčinky, oranžovo-žluté barvy. Obsahuje deoxycholan, citrát železitý, thiosíran (zajišťují inhibici růstu gram pozitivních mikrobů), laktosu a neutrální červen jako pH indikátor. Bakterie fermentující laktosu tvoří růžové kolonie, někdy i s precipitátem v okolí, nefermentující rostou v bezbarvých transparentních koloniích. Současně je možné detekovat tvorbu sirovodíku, která se projevuje přítomností černě zbarveného středu kolonii (Koukalová, 2013).

**Obrázek 6.** Deoxycholát-citrátový agar



**Zdroj:** Labmediaservis

## **Půdy pomnožovací**

Jsou tekuté konzistence a slouží k pomnožení bakterií ve vzorku, kde je předpokládán malý počet mikrobů (např. masopeptonový bujón, selenitový bujón k selektivnímu pomnožení salmonel) (Koukalová, 2013).

### **Selenitový bujón**

Bujón má růžovo – oranžovou barvu. Je důležitý pro selektivní pomnožení např. salmonel a růst jiných bakterií je částečně potlačen nebo úplně. Bujón se inkubuje 24 hodin a po 24 hodinách kultivace se rozočkuje na Deoxycholátový agar a nechá se opět kultivovat 24 – 48 hodin. Nejčastěji se používá pro záchyt střevních patogenů u dětí a dospělých (Votava, 2000).

**Obrázek 7.** Selenitový bujón



**Zdroj:** Biovendor, 2013

## **1.5 Antibiotika**

Častými producenty antibiotik jsou plísně, z bakterií pak zejména streptomycety. Jsou schopny zabít nebo pozastavovat růst jiných mikroorganismů. Rozdělují se na baktericidní (usmrcují mikrobiální buňku) a bakteriostatická (pouze reverzibilně zastavují růst a množení mikrobů) (Votava, 2005).

Mezi baktericidní antibiotika řadíme  $\beta$ -laktamy, aminoglykosidy, polypeptidy, glykopeptidy. Naproti tomu mezi bakteriostatická patří tetracykliny, makrolidy a linkosamidy (Lüllmann, Mohr, Wehling, 2004).

Antibiotika nejsou vůbec účinná při virových onemocněních, mezi které řadíme běžné a velmi časté záněty horních či dolních cest dýchacích, zánět nosohltanu, hrtanu, průdušek či průdušnice (Sandoz, 2018).

### **1.5.1 Rozdělení antibiotik podle spektra účinnosti**

Podle množství druhů citlivých bakterií rozlišujeme ATB s úzkým, středně širokým a širokým spektrem účinku. ATB s úzkým spektrem účinku působí pouze na malé množství bakterií. Jako příklad středně širokospektrého ATB můžeme uvést penicilín. Ten je účinný na grampozitivní bakterie, ale na většinu gramnegativních bakterií je neúčinný. Širokospektrá ATB jsou obvykle účinná na grampozitivní i gramnegativní bakterie (Votava, 2010).

#### **Mechanismy účinku antibiotik:**

- zásah do tvorby buněčné stěny
- zásah do syntézy nukleových kyselin
- funkce buněčné membrány
- syntéza bílkovin
- kompetitivní inhibice (Kramář, 2007).

### **1.5.2 Beta-laktamová antibiotika**

Skupina  $\beta$  - laktamových antibiotik s podobnou chemickou strukturou zahrnuje peniciliny, cefalosporiny, karbapenemy, monobaktamy a inhibitory  $\beta$  - laktamáz. Jejich antibakteriální působení spočívá v inhibici syntézy bakteriální stěny, ve hře však mohou být i další mechanismy. Beta-laktamová antibiotika se specificky vážou na některé enzymy nezbytné pro syntézu bakteriální stěny (PBPs – *penicillin binding proteins*).

Beta- laktamová antibiotika jsou baktericidní, působí nejlépe na množící se bakterie. Po jejich antibakteriální aktivitě je rozhodující doba, po kterou koncentrace antibiotika převyšuje MIC (Beneš, 2009).

Beta-laktamová antibiotika patří mezi klinicky nejužitečnější antimikrobiálních látek používaných v lékařství. Alergické reakce patří mezi nejčastější nežádoucí účinky, po podání  $\beta$  – laktamových antibioticích. Hlášené míra alergie na penicilin se pohybuje mezi 1 a 10% (Lagacé a Rubinstein, 2019).

### 1.5.2.1 Peniciliny

Peniciliny jsou vysoce účinná antibiotika s extrémně nízkou toxicitou. Získávají z kultury plísně *Penicillium chrysogenum* a dalších, které produkují kyselinu 6-aminopenicilanovou. V její molekule je beta- laktamový kruh konjugován s pětičlenným kruhem thiazolidinovým (Votava, 2010).

Farmakokinetika - absorpce z GIT závisí na jejich odolnosti vůči HCl. Jejich absorpce může být snížena současně požitou potravu, proto se doporučují nejméně 1 hodinu před jídlem nebo 1-2 hodiny po jídle. Distribuují se do extracelulární tekutiny, do buněk nevstupují. Koncentrace v CNS jsou nízké, zvyšují se však se zánětlivými změnami mening. Vylučují se ledvinami (10 % glomerulární filtrací, 90 % tubulární sekrecí), pronikají také do mléka a do sputa (Martínková, 2007).

Peniciliny dělíme na úzkospektré (penicilin G, penicilin V a antistafylokokové peniciliny) a širokospektré (Martínková, 2007).

#### Nežádoucí účinky penicilinů:

- **Alergie:** jakýkoliv zdroj i velmi malého množství penicilinů (kosmetické přípravky, mléko krav léčených pro mastitidu) může hostitele alergizovat. Alergie zkříženého typu I-IV je vyvolána biodegradačními produkty penicilinu. Bývá u 10-15 % nemocných s penicilinovou léčbou v anamnéze. Nejzávažnější průběh (anafylaktický šok) je vyvolán parenterálním podáním.
- **Hoigného syndrom:** projevuje se dechovou tísní, kolapsovým stavem, výrazná bývá psychická alterace (strach ze smrti), agitovanost. Za příčinu se považuje technicky chybné podání penicilinové suspenze intravenózně (mikroembolizace). Vzácnější je Nicolauův syndrom, pronikne-li suspenze intraarteriálně. V tomto případě symptomy záleží na postiženém orgánu. Tyto syndromy nejsou kontraindikací pro další aplikaci léčiva.
- Zvracení, dyspeptické potíže, průjemy jsou způsobeny širokospektrými peniciliny

následkem vyhubení saprofytické flóry ve střevním traktu.

- Kolpitydy a průjmy (enteritidy) mohou být vyvolány rezistentními kmeny, např. kvasinkami (Martínková, 2007).

### **Acidolabní peniciliny**

Penicilin G (benzylpenicilin). Pro svou nestálost při nízkém pH v žaludku se podávají pouze parenterálně. Spektrum zahrnuje grampozitivní koky i tyčinky, gramnegativní koky a gramnegativní mikroby spirálovitého tvaru, přitom citlivost zlatých stafylokoků, pneumokoků a také gonokoků může být regionálně velmi odlišná (Votava, 2005).

### **Acidostabilní peniciliny**

Penicilin V (phenoxymethylpenicilin). Odolává účinku žaludeční šťávy, a proto tvoří účinnou složku perorálních penicilínových preparátů. Jeho spektrum je totožné se spektrem benzylpenicilinu (Votava, 2005).

### **Aminopeniciliny**

Mají poměrně široké indikační spektrum v monoterapii i v kombinaci s jinými antibiotiky, především aminoglykosidy. Používají se v léčbě infekcí respiračního traktu, močových infekcí, purulentních meningitid a bakteriálních enterokolitid vyvolaných citlivými mikroorganismy (Beneš, 2009). Především aminopeniciliny účinkují na řadu gramnegativních tyčinek, jako jsou *Escherichia Coli*, *Proteus mirabilis*, bordetely, salmonely, shigely, hemofily, helikobaktery a jiné, pokud ovšem tyto mikroorganismy netvoří beta-laktamasy (Votava, 2010).

#### **1.5.2.2 Cefalosporiny**

Cefalosporiny účinkují stejně jako beta- laktamy inhibují syntézu buněčné stěny vazbu na specifické proteiny. Slouží jako alternativa léčby pro pacienty, kteří jsou citliví na penicilín (Cefalosporiny, 2016).

Jejich spektrum je široké (nepůsobí však vůbec na enterokoky) a toxicita malá (alergická kožní reakce a bolestivost při nitrosvalovém podání). U závažných infekcí se

dají s výhodou kombinovat např. s aminoglykosidy nebo s fluorochinolony (Votava, 2010).

### **1. generace**

Zahrnuje antibiotika velmi účinná vůči grampozitivním kokům (*Staphylococcus aureus*) i některým gramnegativním (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*). Perorální formy se používají u infekcí slabší intenzity (Martínková, 2007).

### **2. generace**

Vyznačuje se nižší aktivitou vůči grampozitivním mikrobům za rozšířeného spektra vůči gramnegativním mikrobům (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*). Z perorálních forem je zástupcem např. cefaklor k léčbě sinusitid a otitid u nemocných alergických na peniciliny nebo s nedostatečnou odpovědí na penicilinovou léčbu. Cefuroxim (i.v.) proniká přes hematoencefalickou bariéru a může být použit pro léčbu meningitid (Martínková, 2007).

### **3. generace**

Nejvýznamnější vlastností je účinek vůči gramnegativním mikrobům (*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Providencia*). Podány intravenózně se distribuují do CNS. Indikovány jsou u meningitid, u sepsí neznámého původu. Jsou-li podávány imunokompetentním nemocným (febrilní neutropenic), pak se pro aditivní účinky obvykle kombinují s aminoglykosidy (Martínková, 2007).

### **4. generace**

Působí proti grampozitivním i gramnegativním mikrobům, včetně *Pseudomonas aeruginosa*. Intravenózní podání je indikováno u sepsé, meningitid, těžkých infekcí dolních cest dýchacích a komplikovaných infekcí močových cest, u neutropenických nemocných v kombinaci s aminoglykosidy, při rezistenci na cefalosporiny 3. generace (Martínková, 2007).

### **Nežádoucí účinky cefalosporinů:**

- **Alergie:** podobně jako peniciliny mohou vyvolat alergické reakce typu I-IV.
- **Superinfekce:** může se vyvinout u cefalosporinů 2. a 3. generace, které nejsou účinné vůči stafylokokům a enterokokům. Houby a kvasinky mohou rovněž proliferovat.
- Rezistence na cefalosporiny narůstá, proto je třeba zvýšeně dbát na správnou indikaci pro tato antibiotika (Martínková, 2007).

### **1.5.3 Glykopeptidová antibiotika**

Glykopeptidy jsou peptidy s navázanou cukernou složkou. Zasahuje do syntézy bakteriální stěny, a proto nemá smysl je kombinovat s beta – laktamy. Glykopeptidy působí baktericidně a podávají se parenterálně (Votava, 2010).

Klasický glykopeptidem je vankomycin původně izolovaný ze *Streptomyces orientalis*. Jeho spektrum je omezeno jen na některé grampozitivní mikroorganismy a na spirochety. Do buněk ostatních gramnegativních bakterií se jeho poměrně velká molekula nedostane. Důležité je, že vankomycin působí i na jinak rezistentní kmeny *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus faecalis* a na většinu kmenů *Enterococcus faecium*. Perorálně podaný účinkuje na *Clostridium difficile* (Votava, 2005).

Toxicita je značná. Vankomycin postihuje ucho, ledviny a CNS. Podává se v pomalé intravenózní infuzi, což zabrání uvolnění histaminu a vzniku tzv. syndromu rudého muže. Teikoplanin je přirozená směs několika látek příbuzných vankomycinu. Je méně toxický než vankomycin a dá se podávat v jediné denní dávce. Jeho spektrum působnosti je prakticky stejné, ale existují však kmeny enterokoků s odlišnou získanou rezistencí na vankomycin a teikoplanin (Votava, 2005).

### **1.5.4 Aminoglykosidová antibiotika**

Většina aminoglykosidů jsou trisacharidy, které obsahují neobvyklé aminocukry. Základem molekuly těchto antibiotik je aminocyklitolový kruh, struktura odvozená od

inositolu substituovaného různými aminoskupinami. K tomuto kruhu jsou pak glykosidickou vazbou připojeny další dva aminocukry (Votava, 2005).

Antibiotické spektrum je poměrně široké. Zahrnuje gramnegativní mikroby (enterobakte, citrobakter, pseudomonády, klebsiely, salmonely, shigely) i grampozitivní původce (*Staphylococcus aureus*). Méně citlivé až necitlivé jsou streptokoky, enterokoky. Necitlivé jsou anaeroby (aby aminoglykosidy pronikly do vnitřního prostředí mikroba, potřebují O<sub>2</sub>) (Martínková, 2007).

### **1.5.5 Polypeptidová antibiotika**

Polypeptidová antibiotika jsou rozvětvené cyklické polypeptidy. Nejdůležitější z nich jsou polymyxiny, produkty *Bacillus polymyxa*, složené z 10 aminokyselin. Polymyxiny působí díky svým volným aminoskupinám jako kationické detergenty rozrušující tak fosfolipidovou vrstvu cytoplazmatické membrány (Votava, 2005).

Působí rychle baktericidně na gramnegativní tyčky, zejména pseudomonády a koliformní mikroorganismy. Z GIT se nevstřebávají, mohou se projevit neurotoxicky a nefrotoxicky, i vyvolat alergické reakce. Polymyxin B je užíván místně, spektrum podobné Polymyxinu E. Polymyxin E (nositel nižšího rizika toxicity) je v parenterální lékové formě indikován u systémových infekcí vyvolaných gramnegativními bakteriemi (*E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* aj.) (Martínková, 2007).

### **1.5.6 Vliv antibiotik na gastrointestinální trakt**

Téměř všechna antibiotika mohou vyvolávat gastrointestinální nežádoucí účinky, nejčastěji dyspepii s nauzeou a zvracením nebo průjem. Nauzea a zvracení bývají nespecifické, jen zřídka závažnějšího charakteru. Postantibiotický průjem je většinou vyvolán střevní dysmikrobií (Urbánek, 2003).

Změny mikrobiomu vyvolané antibiotiky mohou také dlouhodobě ovlivnit zdraví. Vzájemné mikroby v lidském těle interagují s mnoha fyziologickými procesy a účastní se regulace imunitní a metabolické homeostázy. Expozice antibiotiky proto může změnit základní fyziologickou rovnováhu, což podporuje dlouhodobé onemocnění.



Jednou z nejvýznamnějších hrozeb změn střevní mikroflóry je zvýšená citlivost na střevní infekce, která může vycházet z nově získaných patogenů, z náhlého přerůstání a nebo z patogenního chování oportunních organismů již přítomných v mikrobiotě (Francino, 2016).

## **2. Cíl práce a výzkumné otázky**

### **Cíle bakalářské práce:**

1. Osvojení mikrobiologické diagnostiky vyšetření výtěru z rekta nebo stolice.
2. Zjistit bakteriologické nálezy ve vzorku stolice.
3. Porovnat střevní flóru u batolat před a po aplikaci antibiotik.

### **Výzkumná otázka:**

1. Jak se změní střevní flóra po aplikaci antibiotik?

## **3. Metodika**

### **3.1 Charakteristika souboru**

Vzorky potřebné k vypracování mé bakalářské práce byly odebrány od pacientů z pediatrické ordinace. Bylo vyšetřeno 38 batolat ve věku od 1 až do 3 let. Pacientům byl odebrán výtěr z rekta před a po antibiotické léčbě. Vzorky byly odebírány pacientům během října až prosince 2018. Všechny 76 vzorků bylo dále zpracováno v mikrobiologické laboratoři Stafila k.s. A. Barcala 404/38, 370 05 České Budějovice. Výzkumné práce byly prováděny pod odborným dohledem.

### **3.2 Postup mikrobiologického vyšetření**

#### **3.2.1 Příjem vzorku**

Biologický materiál uložen v transportním boxu, který obsahuje teploměr pro správné udržení podmínek. Z pracoviště je transportní box převezen vozidlem do laboratoře Stafila k.s. A. Barcala 404/38, 370 05 České Budějovice.

Vzorky jsou roztríděny na jednotlivá oddělení a je provedena kontrola údajů na žádance i příslušném vzorku (jméno pacienta, č. pojištěnce, datum a hodina odběru, diagnóza, pojišťovna, požadované vyšetření a materiál, dosavadní léčba antibiotiky). Výtěr z rekta je uchován v Amiesově transportní půdě, aby nedocházelo k vysušení vzorku na rozdíl při použití výtěrového tamponu.

#### **3.2.2 Kultivace**

Při kultivaci udržujeme mikroorganismy v uměle vytvořených laboratorních podmínkách a podporujeme jejich růst. Aby byl jejich růst optimální, musíme dodržet podmínky pro kultivaci.

#### **Postup**

1. Nejprve si kultivační půdy popíšeme čísly. Číslo bylo totožné se vzorkem a také se žádankou. Petriho misky popíšeme na dně ploten z důvodů, aby nedošlo k prohození víček více ploten a nezaměnil se materiál.

2. Výtěr z dětského rekta naočkujeme přímo výtěrovým tamponem na Endův agar, deoxycholátcitrátový agar, karmaliho agar, manitol salt agar a do selenitové pomnožovací půdy.
3. Tamponem se nejprve udělá inokulum, které se následně rozočkuje bakteriologickou kličkou.
4. Deoxycholátcitrátový agar, Endův agar, manitol salt agar a selenitovou pomnožovací půdu inkubujeme v termostatu při 37°C 18 – 24 hodin.
5. Karmaliho agar se inkubuje při teplotě 43°C 4 – 8 hodin.
6. Druhý den se vyočkuje selenitová pomnožovací půda kvůli možnému pomnožení salmonel na ½ DCA a rozočkujeme.
7. Opět vyočkovanou selenitovou pomnožovací půdu inkubujeme při 37°C 18 – 24 hodin
8. Po odečtení ploten vysokoškolským pracovníkem se dle nárůstu udělají dourčovací testy.

**Obrázek 8.** Karmaliho půda - *Campylobacter jejuni*



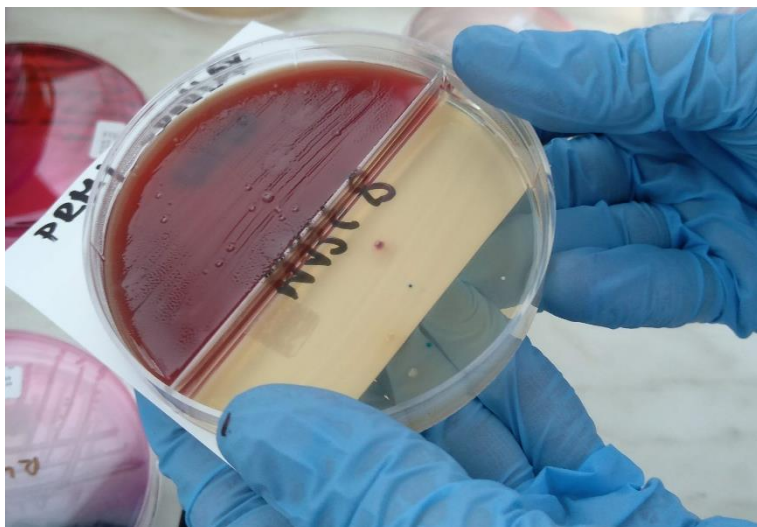
**Zdroj:** Vlastní

**Obrázek 9.** ENDO /DCA - *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*



**Zdroj:** Vlastní

**Obrázek 10.** CHAU/KAC - *Proteus mirabilis*



**Zdroj:** Vlastní

### 3.2.3 Dourčovací testy

Po kultivaci je důležité bližší určení jednotlivých bakterií k tomu využíváme různé druhy biochemických testů.

#### 3.2.3.1 Krátká biochemická řada

Izolační plotna

Očkování se provádí na izolační půdu neboli Švejarovu plotnu, která je složena z Endovy půdy a šikmo je nalita půda modrozelené barvy, kterou označujeme jako biochemický klín.

#### Postup

1. Vybranou kolonii bakterií nabere mikrobiologickou kličkou a přeneseme jí na Švejarovu plotnu a následně rozočkujeme po povrchu plotny.
2. Do klínu se udělají vpichy.
3. Na klín se sterilní pinzetou položí sklíčko pro určení tvorby plynu.
4. Nakonec na Endovu půdu položíme doprostřed tabletu sacharosy a pod ní tabletu manitolu.

**Obrázek 11.** Izolační půda- *Enterobacter cloacae*



**Zdroj:** Vlastní

**Obrázek 12.** Izolační půda - *Escherichia coli*



**Zdroj:** Vlastní

**Obrázek 13.** Izolační půda - *Escherichia coli* laktosa negativní



**Zdroj:** Vlastní

**Obrázek 14.** Izolační půda - *Citrobacter freundii*



**Zdroj:** Vlastní

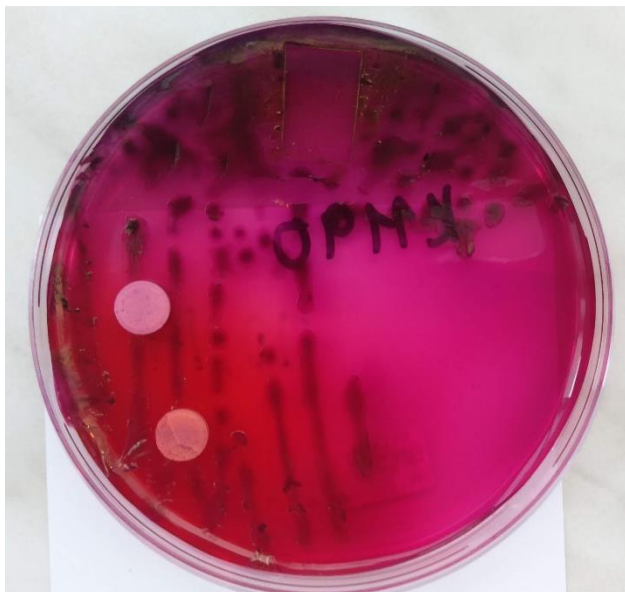
**Obrázek 15.** Izolační půda - *Klebsiella pneumoniae*



**Zdroj:** Vlastní



**Obrázek 16.** Izolační půda - *Pseudomonas aeruginosa*



**Zdroj:** Vlastní

### 3.2.3.2 Dlouhá biochemická řada

#### ENTEROTEST 24

Souprava ENTEROTest 24 je určena pro rutinní identifikaci významných druhů střevních bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*. Souprava umožňuje provést identifikaci čtyřiceti kmenů, pomocí dvaceti čtyř biochemických testů. Testy jsou umístěny v jamkách mikrotitrační destičky, vždy tři řady po osmi jamkách obsahují testy pro identifikaci jednoho kmene. Identifikaci je možné doplnit testy, dodávanými ve formě diagnostických proužků: OXItest, PYRAtest.

#### Postup

1. Do fyziologického roztoku suspendujeme čistou bakteriální kulturu.
2. Důkladně promícháme na vortexu a vytvoříme suspenzi o zákalu 1 McF.
3. Označíme mikrotitrační destičku testu laboratorním číslem.
4. Tuto suspenzi pipetujeme po 100  $\mu$ l do jamek mikrotitrační destičky.
5. Jamky C1 až H1 zakapeme 2 kapkami parafinového oleje.

6. Inkubujeme 24 hodin při teplotě 37°C.
7. Po inkubaci zakapeme indol jamku činidlem pro indol. Jamku VPT činidlem acetoinin a jamku PHE činidlem pro fenylalanin.
8. Odečítáme v počítačovém programu podle pozitivní nebo negativní reakce.

### Clumping faktor

Tento test slouží k odlišení bakterie *Staphylococcus aureus* a stafylokoků koaguláza negativních. Používáme ho k souběžné detekci fibrinogen afinitního faktoru (vázaná koaguláza), proteinu A vykazujícího afinitu k IgG a kapsulárních polysacharidů *Staphylococcus aureus*. Reagencie obsahují latexové částice, které jsou senzibilizované fibrinogenem, IgG a specifickou protilátkou namířenou proti kapsulárním polysacharidům *Staphylococcus aureus*.

### Postup

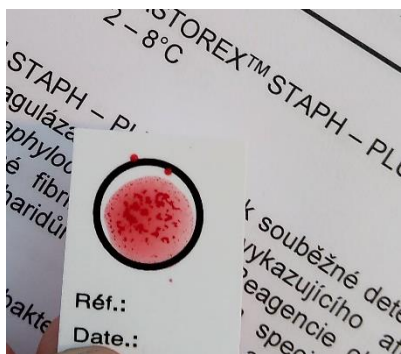
1. Latexovou reagencii důkladně promícháme.
2. Na testovací kartu kápneme kapku testovací latexové suspenze.
3. Bakteriologickou kličkou nanese do kapky latexové suspenze 1 – 3 čerstvé testované kolonie a emulgujeme je v ní po dobu 10 sekund.
4. Jemně otáčíme kartou a sledujeme vznik aglutinace.
5. Výsledek je nutné vyhodnotit do 30 sekund od zahájení otáčení karty.

### Vyhodnocení

Pozitivní reakce (+) – do 30 sekund od zahájení otáčení kartou se začne tvořit jasně zřetelná aglutinace

Negativní reakce (-) – nedojde k vytvoření aglutinace

**Obrázek 17.** Clumping faktor - *Staphylococcus aureus*



**Zdroj:** Vlastní

#### Předběžná sérotypizace kmenů salmonel - Wellcolex

Jedná se kvalitativní latexový test sloužící ke sceeningu, detekci a předběžné sérotypizaci kmenů salmonely. Testovací činidla obsahují suspenze červených, modrých a zelených latexových částic. Každá latexová částice je potažena specifickou protilátkou proti jednotlivým sérotypům salmonely. V přítomnosti homologního antigenu dochází ke vzniku aglutinace jedné z barev. Antigen se identifikuje podle barvy agregátů a změnou barvy v pozadí. Test používáme k orientaci a předběžnému odlišení sirovodíkových kolonií salmonel od kolonií *Proteus mirabilis* a *Citrobacter freundii*. V případě záchytu salmonely ji dokáže velmi hrubě a předběžně sérotypizovat.

#### Postup

1. Do RIA zkumavky dáme kapátkem ze soupravy po rysku fyziologického roztoku.
2. Do fyziologického roztoku suspendujeme podezřelou čistou bakteriologickou kulturu a důkladně promícháme.
3. Reakční kartičku označíme číslem materiálu a kápneme do reakčního kroužku na reakční kartičce kapku suspenze a kapku latexového činidla 1, pod tento reakční kroužek kapku latexového činidla 2 a kapku suspenze.
4. Promícháme párátkem ze setu.
5. S kroužením reakční kartičky sledujeme aglutinace v obou reakčních kroužcích.

## Vyhodnocení

Sledujeme barevnou změnu aglutinace v reakčních kroužcích.

Dle tabulky přiložené k setu určíme skupinu salmonel.

**Obrázek 18.** Pozitivní aglutinace v reagenii 1. - *Salmonella* skupiny D



**Zdroj:** Vlastní

## Vyhodnocení

Pro hodnocení barevných reakcí použijeme barevnou srovnávací stupnici a výsledky testů zapisujeme do přiložených identifikačních protokolů.

## OXI test

Jedná se o individuální test, který využíváme pro stanovení přítomnosti cytochromoxidázy, jejíž aktivita je detekována barevnou změnou identifikačního proužku.

## Postup

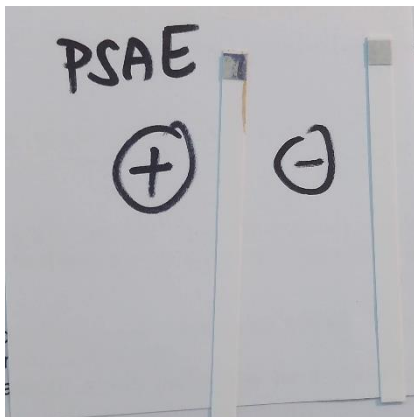
1. Dobře izolovanou kolonii nabereme kličkou a rozetřeme na reakční zónu proužku.
2. Odečtení barevné změny provedeme do 1 minuty (později je možná falešná pozitivita).

## Vyhodnocení

Pozitivní reakce (+) – proužek se zbarví modře (vzniká indolfenolová modř)

Negativní reakce (-) – proužek se zbarví šedě

**Obrázek 19.** OXI test - pozitivní reakce přítomnost *Pseudomonas aeruginosa*



**Zdroj:** Vlastní

## Test hydrolýzy hippurátu

Hippurát sodný je štěpen enzymem hippurát hydrolázou na glycin a kyselinu benzoovou. Glycin je detekován barevnou reakcí s roztokem ninhydrinu, který je obsažen v činidle hippurát. Test je vhodný pro identifikaci bakterií, které dokážou hydrolyzovat hippurát sodný je doporučován pro presumptivní diagnostiku *Campylobacter jejuni*.

## Postup

1. K přípravě suspenze použije čistou 24 hodinovou kulturu.
2. Do RIA zkumavky dáme po rýsku 0,5 ml fyziologického roztoku.

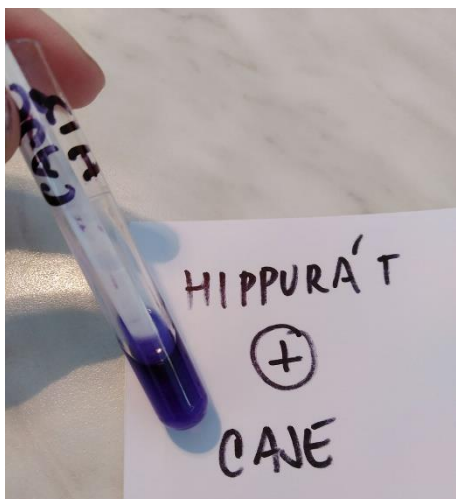
3. Vytvoříme suspenzi testovaného kmene o zákalu 2 McFarland.
4. Vložíme do suspenze proužek (tak, aby testovací zóna byla ponořená).
5. Kultivujeme při 37°C 22-24 hodin.
6. Po inkubaci přidejte 4 kapky činidla pro hippurát.
7. Odečteme po 5-10 minutách při pokojové teplotě.

### Vyhodnocení

Pozitivní reakce (+) – modrý a modrofialový prsteneček

Negativní reakce (-) – bezbarvá až slabě modrá reakce

**Obrázek 20.** Test hydrolyzy hippurátu - *Campylobacter jejuni*



**Zdroj:** Vlastní

Odlišení indol pozitivních a indol negativních kmenů bakterií

Test umožňuje rychlé orientační rozlišení některých enterobakterií (*E.coli*, *Shigella sonnei*). Používáme ho jako pomocný test k biochemickému klínu. Principem testu je detekce indolu, která vzniká enzymatickým štěpením tryptofanu. Přítomnost indolu se prokazuje přidáním paradimethylaminobenzaldehydu.

## Postup

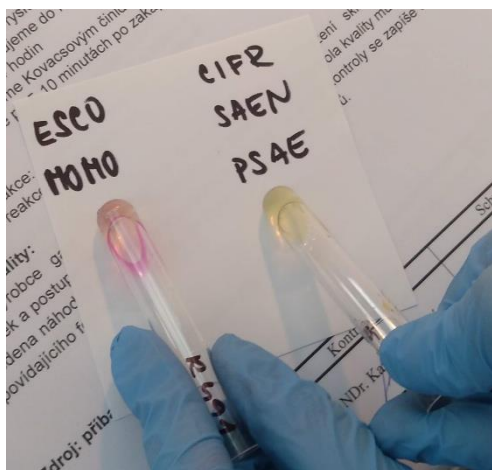
1. Do RIA zkumavky dáme po rysku tryptonovou vodu.
2. Testovanou kolonii inokulujeme do RIA zkumavky s tryptovou vodou.
3. Kultivujeme při 37°C 24 hodin.
4. Po inkubaci zakápneme Kovacsovým činidlem.
5. Výsledek Odečteme po 5-10 minutách po zakápnutí.

## Vyhodnocení

Pozitivní reakce (+) – červený prsteneček

Negativní reakce (-) – žlutý prsteneček

**Obrázek 21.** Odlišení indol pozitivních a indol negativních kmenů bakterií



**Zdroj:** Vlastní

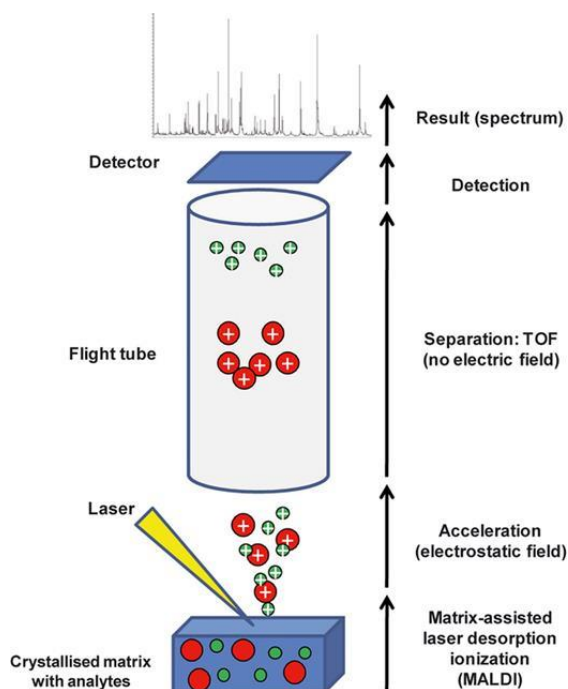
### 3.2.4 MALDI – TOF

Jedná se o identifikační metodu, která se používá k přesnému rozlišení bakterií, kvasinek a plísní, založená na odlišnosti struktury proteinů v rámci rodů, druhů a kmenů. Metoda je vysoce přesná, aplikovatelná pro široké spektrum mikroorganismů mnohem rychlejší ve srovnání s tradičními metodami (provedení samotné analýzy v řádu minut) a ekonomicky efektivní (Státní veterinární ústav Jihlava, 2019 ).

Základním principem všech metod hmotnostní spektrometrie je ionizace neutrální molekuly a následné přesné stanovení výsledných primárních iontů a jejich produktů rozpadu ve vysokém vakuu. Typický hmotnostní spektrometr se skládá ze tří složek: iontového zdroje, hmotnostního analyzátoru a detektoru (Pavlovic, 2013).

V laboratoři Stafila k.s. není k dispozici přístroj MALDI TOF. Pokud je v laboratoři potřeba dourčit kmen pomocí metody MALDI TOF má laboratoř možnost zaslat vzorek do spolupracující laboratoře.

**Obrázek 22.** Schématické znázornění metody MALDI TOF



**Zdroj:** Croxatto, 2012



### 3.2.5 Vyšetření citlivosti na antibiotika

#### Diskový difuzní test (DDT)

Standardizované inokulum testované bakterie je natřeno na agar. Papírové disky napuštěné určitou koncentrací antibiotika jsou umístěny na agar s rozetřeným inokulem. Po inkubaci přes noc jsou změřeny průměry inhibičních zón kolem každého disku. Inhibiční zóny jsou vyhodnoceny porovnáním s EUCAST breakpointy. Výsledkem vyšetření je citlivost či rezistence ke konkrétnímu antibiotiku.

#### Postup

1. Z čisté kultury testovaného kmene připravíme ve zkumavce se sterilním fyziologickým roztokem suspenzi o zákalu 0,5 McFarland.
2. Do suspenze ponoříme sterilní vatový tampon a vymačkáme přebytečnou tekutinu
3. Rozetřeme inokulum na agar ve třech různých směrech (do 15 minut od přípravy zákalu)
4. Zvolíme vhodný agar podle druhu testované bakterie
5. Položíme ATB disky
6. Inkubujeme za odpovídajících podmínek

**Obrázek 23.** Muller-Hinton agar - Diskový difúzní test na citlivost antibiotik



**Zdroj:** Vlastní

## 4. Výsledky

Pro vyhodnocení výsledků jsem vytvořila tabulky a grafy, které nám ukazují počet zastoupení jednotlivých bakterií.

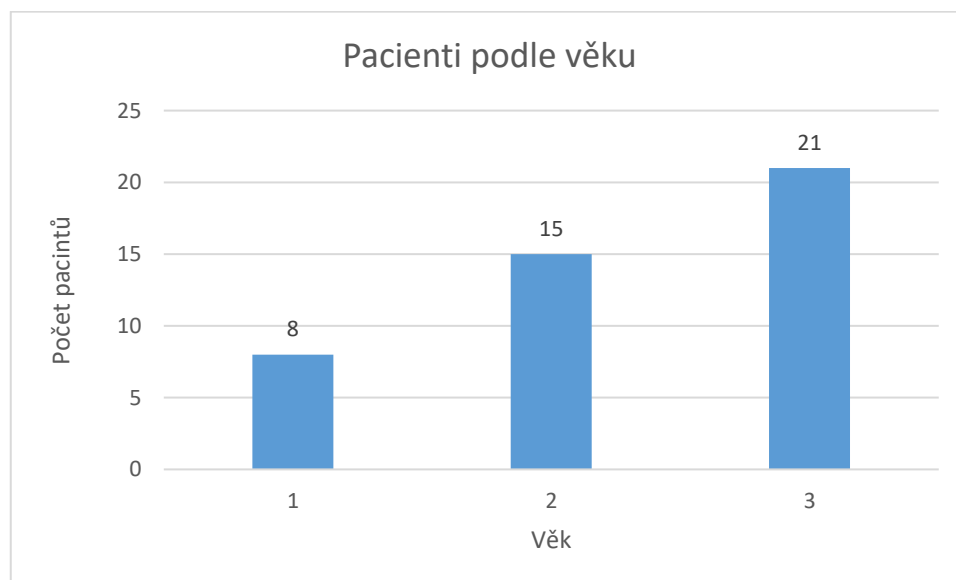
Bylo zpracováno 40 mikrobiologických výsledků. Z toho bylo 27 od dívek, 13 od chlapců ve věku od 1 do 3 let.

Pacienti trpěli respiračním onemocněním a současně i průjmy z toho důvodu jim bylo podáno antibiotikum Klacid a zároveň byla podána probiotika.

Ze zpracovaných dat byly prokázány bakterie, které jsou součástí běžné střevní flóry. Zachyceny byly: *Escherichia coli*, *Escherichia coli* laktosa negativní, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia stuartii*, *Enterobacter cloacae*. Dále jsme identifikovali patogenní bakterie *Hafnia alvei*, *Styphyllococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Campylobacter jejuni*.

Výsledky jsou zpracovány za období od října do prosince roku 2018.

**Tabulka 2.** Počet pacientů v závislosti na věku



**Zdroj:** Vlastní

**Tabulka 3.** Rozdělení pacientů podle pohlaví v %

Pohlaví	Počet	Procenta
Chlapec	14	37 %
Dívka	24	63 %

**Zdroj:** Vlastní**Tabulka 4.** Výsledky mikrobiologického vyšetření

Č. pacienta	Před ATB	Po ATB
1.	<i>E.coli</i> <i>E.coli (laktosa neg.)</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Campylobacter jejuni</i>	<i>E.coli</i> <i>E.coli (laktosa neg.)</i>
2.	<i>Salmonella eneteritidis</i>	<i>E.coli</i>
3.	<i>E.coli</i> <i>Campylobacter jejuni</i>	<i>E.coli</i>
4.	<i>E.coli</i> <i>E.coli (laktosa neg.)</i>	<i>E.coli (laktosa neg.)</i>
5.	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>
6.	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>E.coli</i>
7.	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>E.coli</i>
8.	<i>E.coli (laktosa neg.)</i> <i>Salmonella enteritidis</i>	<i>E.coli</i> <i>E.coli (laktosa neg.)</i>
9.	<i>E.coli</i> <i>E.coli (laktosa neg.)</i>	<i>E.coli</i> <i>E.coli (laktosa neg.)</i>
10.	<i>E.coli</i> <i>Hafnia alvei</i>	<i>E.coli</i>
11.	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>

	<i>E.coli (laktosa neg.)</i>	<i>E.coli (laktosa neg.)</i>
12.	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>E.coli</i>
13.	<i>E.coli</i> <i>Proteus mirabilis</i>	<i>E.coli</i>
14.	<i>E.coli (laktosa neg.)</i> <i>Proteus mirabilis</i>	<i>E.coli</i> <i>E.coli (laktosa neg.)</i>
15.	<i>E.coli</i> <i>E.coli (laktosa neg.)</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>E.coli</i> <i>E.coli (laktosa neg.)</i>
16.	<i>E.coli</i> <i>Proteus mirabilis</i>	<i>E.coli</i>
17.	<i>E.coli (laktosa neg.)</i>	<i>E.coli</i> <i>E.coli (laktosa neg.)</i>
18.	<i>E.coli</i> <i>E.coli (laktosa neg.)</i>	<i>E.coli (laktosa neg.)</i> ,
19.	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Proteus mirabilis</i>	<i>E.coli</i>
20.	<i>E.coli ( ESBL poz.)</i>	<i>E.coli</i>
21.	<i>E.coli</i> <i>Proteus mirabilis</i>	<i>E.coli</i>
22.	<i>E.coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Campylobacter jejuni</i>	<i>E.coli</i>
23.	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E.coli</i>
24.	<i>E.coli</i> <i>Enterobacter cloacae</i>	<i>E.coli</i>

25.	<i>E.coli</i> <i>Campylobacter jejuni</i>	<i>E.coli</i>
26.	<i>E.coli</i> <i>Providencia stuartii</i>	<i>E.coli</i>
27.	<i>E.coli</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>E.coli (laktosa neg.)</i>	<i>E.coli (laktosa neg.)</i>
28.	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>E.coli</i>
29.	<i>E.coli</i> <i>Enterobacter cloacae</i>	<i>E.coli</i>
30.	<i>E.coli</i> <i>Enterobacter cloacae</i>	<i>E.coli</i>
31.	<i>E.coli</i> <i>Providencia stuartii</i>	<i>E.coli</i>
32.	<i>E.coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>
33.	<i>E.coli</i> <i>Enterobacter cloacae</i>	<i>E.coli</i>
34.	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>E.coli</i>
35.	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
36.	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>
37.	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>E.coli</i>
38.	<i>E.coli</i> <i>Styphylococcus aureus</i>	<i>E.coli</i>

**Zdroj:** Vlastní

**Tabulka 5.** Zastoupení oportunních bakterií střevní flóry

Oportunní bakterie střevní flóry	Počet	Procenta
<i>E.coli</i>	73	56%
<i>E.coli (laktosa neg.)</i>	20	15%
<i>Citrobacter freundii</i>	12	9%
<i>Proteus mirabilis</i>	7	5%
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	4%
<i>Providencia stuartii</i>	2	2%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1%

**Zdroj:** Vlastní**Tabulka 6.** Zastoupení patogenních bakterií střevní flóry

Patogenní bakterie střevní flóry	Počet	Procenta
<i>Campylobacter jejuni</i>	6	5%
<i>Hafnia alvei</i>	1	1%
<i>Styphilococcus aureus</i>	1	1%
<i>Salmonella enteritidis</i>	1	1%

**Zdroj:** Vlastní

Tabulky s výskytem střevních bakterií u batolat od 1 do 3 let z období říjen až prosince 2018 ukázal, že se nejvíce vyskytovala *Escherichia coli* 56%, která nebyla enteropatogenní, a tudíž byla pouze běžnou střevní flórou. V jednom vzorku byla zjištěna *Escherichia coli* ESBL pozitivní. *Escherichia coli* laktosa negativní 15%. Dále *Citrobacter freundii* 18%. *Proteus mirabilis* 5%, který tvoří běžnou střevní flóru. Další bakterií je *Campylobacter jejuni* 5 %, který je patogenem a způsobuje různá onemocnění. *Enterobacter cloacae* 4% plní funkci běžné flóry ve střevě. *Providencia stuartii* 2%. *Hafnia alvei* 1%. *Salmonella enteritidis* 1%. Je patogenem a způsobuje střevní onemocnění. *Pseudomonas aeruginosa* 1% často způsobuje nozokomiální nákazy. *Klebsiella pneumoniae* 1% také způsobuje nozokomiální nákazy, ale nezpůsobuje střevní

onemocnění. *Styphylococcus aureus* 1%, který způsobuje infekce u oslabeného organismu.

**Tabulka 7.** Zastoupení bakterií střevní flóry před léčbou antibiotiky

Druh bakterie	Procenta
Oportunní bakterie střevní flóry	92%
Patogenní bakterie střevní flóry	8%

**Zdroj:** Vlastní

## 5. Diskuse

Při užívání antibiotik dochází k přeměně mikrobiomu a to napomáhá kolonizaci patogenními organismy. Z běžných bakterií se mohou stát oportunní. Při narušení vzájemného vztahu mezi člověkem a mikroby může vzniknout infekční onemocnění, které by mohlo být provázeno průjmy a diskomfortem v dutině břišní.

Ve spolupráci s dětským lékařem byly získány výsledky. Dětský lékař podal antibiotikum makrolid Klacid na základě respiračního onemocnění. Pacienti zároveň trpěli průjmy. Pacientům byl proveden výtěr z rektu a to dětským lékařem nebo zdravotní sestrou. Druhý výtěr z rektu byl proveden po skončení antibiotické léčby.

Všem pacientům jako součást léčby byla podána probiotika, která přinášejí příznivé účinky na zdraví. Podání probiotik vedlo ke správnému fungování střevní flóry a nedošlo k jejímu narušení.

Probiotika jsou vhodná terapie po léčbě antibiotiky. Lidské střevo je po jejich léčbě velmi oslabeno a mikroflóra výrazně redukována. Konzumace probiotik je přínosem pro naše zdraví, mohou ovlivňovat: ustálení či obnovení vyvážené mikroflóry tlustého střeva, zvýšení odolnosti proti osídlení tlustého střeva mikroorganismy, které vyvolávají průjmy, snížení pH. Probiotika mohou být v různých podobách a formách. Nejčastěji se setkáváme s probiotiky obsažených v mléce a mléčných výrobcích. Další formou jsou potravinové doplňky ve formě kapslí, tablet a prášku.

Střevní mikroflóru podporují i prebiotika. Jsou součástí potravy a nejsou natravné enzymy, naopak se stávají substráty pro mikrobiální enzymy. Selektivně podporují růst a aktivitu bakterií tlustého střeva, které mohou zlepšit zdravotní stav pacienta. Mezi prebiotika řadíme vlákninu nebo inulin (rostlinný polysacharid), který můžeme nalézt v rostlinných zdrojích potravy.

Podle vyhodnocení výsledků v závislosti na věku se prokázalo nejvíce pacientů ve věku 3 let. V tomto věku dochází ke kontaktu s ostatními dětmi a důsledkem toho můžou trpět různými infekcemi.

Při mikrobiologickém vyšetření může nastat problém při kultivaci, který je způsoben nesprávním provedením preanalytické fáze, špatně zvoleným kultivačním médiem nebo teplotou.

Nedoporučuje se podávat antibiotika na manifestní infekce střevního typu vyvolané oportunními kmeny bakterií. Pokud vyvolají septický stav, pak je nutné antibiotika podat. Při nálezů *Salmonelly* a *Campylobacter* se nedoporučuje léčba antibiotiky, pokud se projevují pouze zažívací obtíže. V našem případě došlo k vyhubení těchto kmenů. Makrolid Klacid neovlivnil střevní flóru.



## **6. Závěr**

Cílem mé bakalářské práce bylo zjistit, zda se změni střevní mikroflóra po aplikaci antibiotik.

Vyšetřila jsem vzorky od batolat, kterým bylo podáno antibiotikum makrolid Klacid. Při této práci jsem si osvojila mikrobiologickou diagnostiku na 76 vzorků výtěru z rektu. Seznámila jsem se s preanalytickou fází mikrobiologického vyšetření jako je odběr a transport vzorku. Popsala jsem využívané mikrobiologické metody jako je kultivace na různých druzích kultivačních půd. Velmi využívanou metodou jsou biochemické testy, kde na základě biochemických vlastností můžeme identifikovat příslušné mikroorganismy.

Zjistila jsem, že v 76 % dochází k nevýznamné změně oportunních bakterií po antibiotické léčbě, dalších 24 % došlo k ústupu patogenní flóry. Tato změna nebyla ovlivněna užíváním antibiotik a současně probiotik. Střevní flóra se po antibiotické léčbě nezměnila.

## 7. Seznam použitých zdrojů

1. AMBOROŽOVÁ, J., 2018. Laboratorní příručka STAFILA k.s. A. Barcala 404/38, 370 05 České Budějovice: Verze: 8 [online]. [cit. 2018-09-18]. Dostupné z: [https://www.stafila.cz/resources/files/clanky/lp-laboratorni\\_prirucka\\_v8.pdf](https://www.stafila.cz/resources/files/clanky/lp-laboratorni_prirucka_v8.pdf)
2. BEDNÁŘ, M., 1999. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. 560 s. Praha: Marvil ISBN 80-238-0297-6
3. BENEŠ, J., 2009. *Infekční lékařství*. 651s. 1. vyd. Praha: Galén. ISBN 978- 807-2626-441.
4. *ENTEROtest 24* [online]. Erba Lachema s.r.o [cit. 2018-10-03]. Dostupné z: [https://www.erbalachema.com/attachments/ENTEROtest%2024\\_CZ\\_SK\\_EN\\_RU\\_PL\\_S.pdf](https://www.erbalachema.com/attachments/ENTEROtest%2024_CZ_SK_EN_RU_PL_S.pdf)
5. FRANCINO, M. P., 2016. *Antibiotics and the Human Gut Microbiome: Dysbioses and Accumulation of Resistances*. *Frontiers in Microbiology* [online]. [cit. 2019-05-01]. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01543. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2015.01543/abstract>
6. KLABAN, V., 2011. *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*. 654 s. Praha: Galén. ISBN 80-7262-341-9.
7. KUSHVAKA, K., BABU, D., JUNEJA, V. K. 2014. *Encyklopedia of Food Microbiology*. 2. vyd. Amsterdam: Academic Press, 3248 s. ISBN 978-0-12-384733-1.
8. KOUKALOVÁ, D., 2013. *Praktická cvičení z lékařské mikrobiologie I*. 94s. 3., nezměn. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. ISBN 978-80-244-3395-0.
9. KRAMÁŘ, R., 2007. *Lékařská mikrobiologie*. 72s. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Zdravotně sociální fakulta. ISBN 978-80-7394-021-8.
10. LATA, J., 2011. Střevní mikroflóra, slizniční bariéra a probiotika u některých interních chorob. *Interní medicína pro praxi* [online]. Olomouc: Solen, (13), 63 - 69 [cit. 2018-10-11]. ISSN 1803-5256. Dostupné z: <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2011/02/02.pdf>

11. LÜLLMANN, Heinz, Klaus MOHR a Martin WEHLING, 2004 *Farmakologie a toxikologie*. Vyd. 2. české. Praha: Grada, ISBN 80-247-0836-1.
12. MARTÍNKOVÁ, J., 2007. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. 520 s. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-1356-4.
13. MIKŠOVÁ, Zdeňka, Marie FROŇKOVÁ a Marie ZAJÍČKOVÁ, 2006. *Kapitoly z ošetrovatelské péče II*. 176 s. 2., aktualiz. a dopl. vyd. Praha: Grada Publishing. Sestra. ISBN 80-247-1443-4.
14. SANDOZ, 2018 *Antibiotika* [online]. Praha: Sandoz [cit. 2018-09-25]. Dostupné z: <https://www.sandoz.cz/o-spolecnosti-sandoz/nase-terapeuticke-oblasti/antibiotika>
15. URBÁNEK, K., 2003. *Nežádoucí účinky antibiotik na gastrointestinální trakt*. [www.klinickafarmakologie.cz](http://www.klinickafarmakologie.cz)[online]. Olomouc: Solen [cit. 2019-05-01]. Dostupné z:<https://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2003/02/06.pdf>
16. VOTAVA, M., 2003. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 495 s. Brno: Neptun. ISBN 80-902896-6-5.
17. VOTAVA, M., 2005. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 351 s. 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun. ISBN 80-86850-00-5.
18. VOTAVA, M., 2010. *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. 504s. Brno: Neptun. ISBN 978-80-86850-04-7.
19. ZBOŘIL, V., 2005. *Mikroflóra trávicího traktu: klinické souvislosti*. 153 s. Praha: Grada. ISBN 80-247-0584-2.
20. *Žádanka na bakteriologické vyšetření: Oddělení mikrobiologie Stafila K.S. České Budějovice* [online].[cit.2018-10-03]. Dostupné z: [https://stafila.cz/resources/files/clanky/zadankamikrobiol\\_cb\\_verze6\\_web.pdf](https://stafila.cz/resources/files/clanky/zadankamikrobiol_cb_verze6_web.pdf)
21. ŠVESTKA, T., 2007. *Mikroflóra trávicího traktu a probiotika. Pediatrie pro praxi* [online]. Olomouc: Solen, 2007 [cit. 2018-12-03]. Dostupné z: <https://www.pediatriepropraxi.cz/pdfs/ped/2007/04/06.pdf>
22. IBRAHIM, J, E EGHNATIOS, A ROZ, T FARDOUN a G GHSSEIN, 2019. *Prevalence, antimicrobial resistance and risk factors for campylobacteriosis in*

- Lebanon* [online]. 2019 [cit. 2019-04-07]. Dostupné z:  
<https://www.jidc.org/index.php/journal/article/view/10729>
23. LAGACÉ-WIENS, Philippe a Ethan RUBINSTEIN ,2019. Adverse reactions to  $\beta$ -lactam antimicrobials. *Expert Opinion on Drug Safety*. 2012, 11(3), 381-399. DOI: 10.1517/14740338.2012.643866. ISSN 1474-0338. Dostupné také z:  
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14740338.2012.643866>
24. ČECHOVÁ, L. a JANALÍKOVÁ, M., 2007. *Obecná mikrobiologie*. 190 s. 1. vydání, Zlín: UTB ve Zlíně, Academia Centrum, ISBN 978-80-7318-516-9.
25. Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Subkomise pro antibiotickou politiku (SKAP), 2016. *Cefalosporiny*. Praktický lékař; 96 (1):32- 50.
26. PAVLOVIC, M. 2013. *The Open Microbiology Journal* [online]. 2013, 7(1) [cit. 2019-04-15]. ISSN 18742858. Dostupné z:  
<http://benthamopen.com/ABSTRACT/TOMICROJ-7-135>
27. *Druhá identifikace mikroorganismů hmotnostní spektrometrií MALDITOF: Státní veterinární ústav Jihlava* [online]. [cit. 2019-04-15]. Dostupné z:  
<https://www.svujihlava.cz/229-maldi-tof.html>
28. GARCÍA-CASTILLO, Valeria, Enrique SANHUEZA, Eileen MCNERNEY, Sergio A. ONATE a Apolinaria GARCÍA. 2016. Microbiota dysbiosis: a new piece in the understanding of the carcinogenesis puzzle. *Journal of Medical Microbiology* [online]. 65(12), 1347-1362 [cit. 2019-04-21]. DOI: 10.1099/jmm.0.000371. ISSN 0022-2615. Dostupné z:  
<http://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.000371>
29. AZAD, M. B., T. KONYA, H. MAUGHAN, et al. 2013. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *Canadian Medical Association Journal* [online]. 2013, 185(5), 385-394 [cit. 2019-04-21]. DOI: 10.1503/cmaj.121189. ISSN 0820-3946. Dostupné z:  
<http://www.cmaj.ca/cgi/doi/10.1503/cmaj.121189>
30. CROXATTO, Antony, Guy PROD'HOM a Gilbert GREUB. 2012. *Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology*. FEMS

- Microbiology Reviews* [online]. 36(2), 380-407 [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2011.00298.x. ISSN 1574-6976. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femsre/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6976.2011.00298.x>
31. SONG, S. J., M. G. DOMINGUEZ-BELLO a R. KNIGHT. 2013 *How delivery mode and feeding can shape the bacterial community in the infant gut. Canadian Medical Association Journal* [online]. 185(5), 373-374 [cit. 2019-04-28]. DOI: 10.1503/cmaj.130147. ISSN 0820-3946. Dostupné z: <http://www.cmaj.ca/cgi/doi/10.1503/cmaj.130147>
32. GORKIEWICZ, Gregor a Alexander MOSCHEN. 2018 Gut microbiome: a new player in gastrointestinal disease. *Virchows Archiv* [online]. 2018, 472(1), 159-172 [cit. 2019-04-28]. DOI: 10.1007/s00428-017-2277-x. ISSN 0945-6317. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00428-017-2277-x>
33. THURSBY, Elizabeth a Nathalie JUGE. 2017 Introduction to the human gut microbiota: a new player in gastrointestinal disease. *Biochemical Journal* [online]. 474(11), 1823-1836 [cit. 2019-04-28]. DOI: 10.1042/BCJ20160510. ISSN 0264-6021. Dostupné z: <http://www.biochemj.org/cgi/doi/10.1042/BCJ20160510>
34. *IKEM Transplantace střeva 2019* [online]. [cit. 2019-04-28]. Dostupné z: [https://www.ikem.cz/cs/transplantcentrum/klinika-transplantacni-chirurgie/co-unas-lecime/transplantace/transplantace-streva-a-multivisceralni/a-2472/?fbclid=IwAR34\\_UpoIev6swgwafj4N0cfMA4jokB6-bzYKu0atGR8wZ4s-vZxVOpGYTI](https://www.ikem.cz/cs/transplantcentrum/klinika-transplantacni-chirurgie/co-unas-lecime/transplantace/transplantace-streva-a-multivisceralni/a-2472/?fbclid=IwAR34_UpoIev6swgwafj4N0cfMA4jokB6-bzYKu0atGR8wZ4s-vZxVOpGYTI)
35. *Pevná média v petriho miskách* [online]. [cit. 2019-04-28]. Dostupné z: <http://labmediaservis.cz/>
36. *Kultivační půdy* [online]. 2013 [cit. 2019-04-28]. Dostupné z: <https://www.biovendor.cz/>
37. MAREJKOVÁ, M., BLÁHOVÁ, K., DUŠEK, J., PETRÁŠ P. 2010 *Rodinný výskyt enterohemoragického Escherichia coli O145:H28. ZPRÁVY EPIDEMIOLOGIE A MIKROBIOLOGIE (SZÚ, PRAHA)* [online]. [cit. 2019-

05-01]. ISSN 1804 – 8676. Dostupné z:  
[http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/ecoli/publikace/Enterohemorigicke\\_E\\_coli\\_O145H28\\_rodina.pdf](http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/ecoli/publikace/Enterohemorigicke_E_coli_O145H28_rodina.pdf)

## 8. Seznam obrázků

<b>Obrázek 1.</b> Krevní agar.....	22
<b>Obrázek 2.</b> Chromogenní agar.....	23
<b>Obrázek 3.</b> Sabouraudův agar.....	23
<b>Obrázek 4.</b> Endův agar .....	24
<b>Obrázek 5.</b> MacConkeyův agar .....	25
<b>Obrázek 6.</b> Deoxycholát-citrátový agar.....	25
<b>Obrázek 7.</b> Selenitový bujón .....	26
<b>Obrázek 8.</b> Karmaliho půda - <i>Campylobacter jejuni</i> .....	36
<b>Obrázek 9.</b> ENDO /DCA - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> .....	37
<b>Obrázek 10.</b> CHAU/KAC - <i>Proteus mirabilis</i> .....	37
<b>Obrázek 11.</b> Izolační půda- <i>Enterobacter cloacae</i> .....	38
<b>Obrázek 12.</b> Izolační půda - <i>Escherichia coli</i> .....	39
<b>Obrázek 13.</b> Izolační půda - <i>Escherichia coli</i> laktosa negativní .....	39
<b>Obrázek 14.</b> Izolační půda - <i>Citrobacter freundii</i> .....	40
<b>Obrázek 15.</b> Izolační půda - <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	40
<b>Obrázek 16.</b> Izolační půda - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	41
<b>Obrázek 17.</b> Clumping faktor - <i>Staphylococcus aureus</i> .....	43
<b>Obrázek 18.</b> Pozitivní aglutinace v reagenii 1. - <i>Salmonella</i> skupiny D .....	44
<b>Obrázek 19.</b> OXI test - pozitivní reakce přítomnost <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	45
<b>Obrázek 20.</b> Test hydrolýzy hippurátu - <i>Campylobacter jejuni</i> .....	46
<b>Obrázek 21.</b> Odlišení indol pozitivních a indol negativních kmenů bakterií .....	47
<b>Obrázek 22.</b> Schématické znázornění metody MALDI TOF .....	48
<b>Obrázek 23.</b> Muller-Hinton agar - Diskový difúzní test na citlivost antibiotik.....	49

## 9. Seznam tabulek

<b>Tabulka 1:</b> Složení mikroflóry lidského GIT .....	10
<b>Tabulka 2:</b> Počet pacientů v závislosti na věku .....	50
<b>Tabulka 3:</b> Rozdělení pacientů podle pohlaví v % .....	51
<b>Tabulka 4:</b> Výsledky mikrobiologického vyšetření.....	51
<b>Tabulka 5:</b> Zastoupení oportunních bakterií střevní flóry .....	54
<b>Tabulka 6:</b> Zastoupení patogenních bakterií střevní flóry.....	54
<b>Tabulka 7:</b> Zastoupení bakterií střevní flóry před léčbou antibiotiky .....	55



## Přílohy

**Obrázek 1.** Transportní box



**Zdroj:** Vlastní

**Obrázek 2.** Teploměr uvnitř transportního boxu



**Zdroj:** Vlastní

**Obrázek 3.** Amiesovo transportní médium



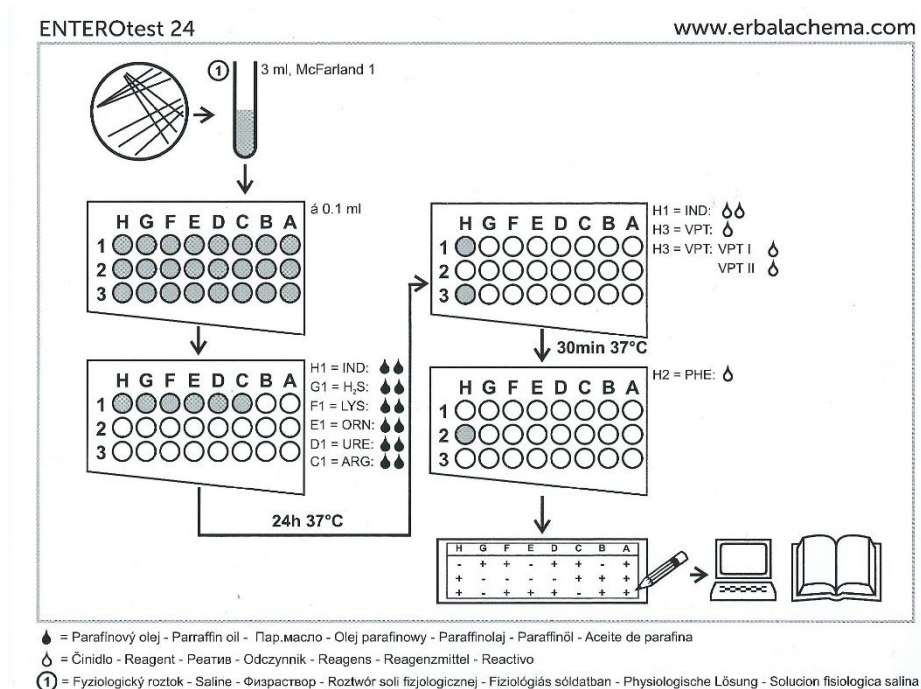
**Zdroj:** Vlastní

**Obrázek 4.** Výtěrový tampón



**Zdroj:** Vlastní

**Obrázek 5.** Schéma biochemického testu ENTERO test 24



**Zdroj:** Příbalový leták ENTEROtest 24

**Obrázek 6.** Barevná škála pro vyhodnocení ENTERO testu 24

ENTEROtest 24 MIKROLATEST®

Barevná škála / Farebná stupnica / Colour scale / Цветная шкала / Porównawcza skala barw / Színskála / Farbskala / Escala de colores

1	H	G	F	E	D	C	B	A
	IND	H <sub>2</sub> S	LYS	ORN	URE	ARG	SCI	MAL
(+)								
(-)								

2	H	G	F	E	D	C	B	A
	PHE	ONP	INO	ADO	CEL	SUC	TRE	MAN
(+)								
(-)								

3	H	G	F	E	D	C	B	A
	VPT	ESL	SOR	RHA	MLB	RAF	DUL	GLU
(+)								
(-)								



www.erbalachema.com

**Zdroj:** Příbalový leták ENTEROtest 24

Obrázek 7. Žádanka na mikrobiologické vyšetření

**ŽÁDANKA NA MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ**

**STAFILA k.s.**  
 sídlo: Evropská 2589/33b, 160 00 Praha 6  
 laboratoř: A. Barcala 404/38, 370 05 Česká Budějovice  
 tel.: 800 103 030, 385 340 228, 724 322 743  
 www.stafila.cz info@stafila.cz

Příjmení: .....  
 Jméno: ..... Datum narození: .....  
 Č. pojištění: .....  
 Diagnóza: ..... Pohlaví:  žena  muž  
 Pojišťovna: ..... Samoplátce:     
 Datum, hodina odběru: .....  
 Kontakt: ..... Klinické údaje: .....  
 ATB terapie: .....  Autovakcína: perorální, nazální, subkutánní  
 Předoperační vyšetření  Potravinářský průkaz

Razítko:

Vyplňte, pokud tyto údaje nejsou na razítku  
 IČZ: .....  
 Odbornost: .....

Respirace	Urologie + Gynekologie	Ostatní
Výtěr z krku	Moč (K+C) – střední proud	Výtěr z rány
Výtěr z nosu	– z jednoráz. cévkování	Stěr z kůže
Výtěr z nosohltanu	– z perm. moč. katetru (PMK)	Hnis z
Výtěr z nosohltanu + pertuse (*)	Urikult – střední proud (**)	Absces
Výtěr z dutiny ústní, jazyk	– z jednoráz. cévkování	Akné
Sputum	– z perm. moč. katetru (PMK)	Impetigo
Výtěr ze zev. zvukovodu L P	Str. pneumoniac (Ag v moči)	Dekubitus
Sekret středouší L P	Stěr z uretry (běžné patogeny)	Bércový vřed
Výtěr ze spoj. vaku L P	Gravidita prev. GBS – pochva	Jiné:
Jiné:	Gravidita prev. GBS – cervix	
Rektum	Výtěr z pochvy	Další vyšetření
Výtěr z rektu (běžné patogeny vč. Campyl. spp.)	Výtěr z cervixu	Screening polyrezist. kmenů (MRSA, ESBL...)
Cílená kultivace:	Stěr z vulvy	nos, perineum, rána, moč...
.....	MOP (nátěr na 2 skla)	Hemokultura (**)
.....	Gonokultivace (*)	Anaerobní kultivace
.....	Mycoplasma/Ureaplasma, (**) (cervix, uretra)	Mykologická kultivace
Stolice	Jiné:	
Průkaz antigenu adeno/rotaviry	PCR (**)	Jiný požadavek:
Průkaz antigenu noroviry	Chlamydia trachomatis (ženy cervix, muži moč, spojivkový vak,.....)	
Clostridium difficile (GDH+toxiny)	HPV	
Průkaz antigenu H. pylori	Jiné:	
Kalprotektin (kvantitativně)		
Parazitologie		
Stolice na parazity		
Enterobióza (perianální otisk)		
CAT (kult. Trichomonas vaginalis)		

(\*) Po předchozí konzultaci s laboratoří  
 (\*\*) Pro tato vyšetření je nutná speciální odběrová souprava – v laboratoři na vyžádání

verze 6, 16.01.2018

**Zdroj:** Oddělení mikrobiologie Stafila k.s.

## Seznam zkratek

CNS	centrální nervová soustava
DCA	Deoxycholát – citrátový agar
CHAU	Chromogenní agar
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ENDO	Endův agar
GIT	gastrointestinální trakt
KAC	krvní agar
MIC	minimální inhibiční koncentrace
O	somatický antigen
<i>S. Aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
°C	stupeň Calsia
μl	mikrolitr
μm	mikrometr