



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

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

Epidemiologická situace v lékárně

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program:

**SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ/ZDRAVOTNÍ
LABORANT**

Autor: Kateřina Schneiderová

Vedoucí práce: Ing. Tomáš Nix, Ph.D.

České Budějovice 2019

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem *Epidemiologická situace v lékárně*, jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47 b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích 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 bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 2. 5. 2019

.....
Kateřina Schneiderová

Poděkování

Tímto děkuji vedoucímu mé bakalářské práce, Ing. Tomáši Nixovi, Ph.D., za pomoc a odborné vedení a Zdravotně sociální fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích za poskytnutí laboratoře k realizaci praktické části.

Epidemiologická situace v lékárně

Abstrakt

Mezi nejčastější onemocnění patří respirační nákazy přenášené vzdušnou cestou. Postihují děti i dospělé, potenciálně nebezpečné však mohou být pro osoby oslabené primárním onemocněním nebo poruchou imunity. Patogeny bývají do okolí vylučovány nemocným člověkem pomocí kapének či biologického aerosolu při kašlání, kýchání nebo mluvení. Tyto způsoby přenosu představují riziko v šíření nozokomiálních nákaz ve zdravotnickém zařízení.

Cílem bakalářské práce bylo zjistit výši mikrobiálního znečištění ovzduší vnitřního prostředí a vyhodnotit případný negativní vliv bakteriální kontaminace na zdraví pacientů přítomných v lékárně.

Laboratorní část práce byla zaměřena na odběr, zpracování a identifikaci infekčního agens šířeného vzdušnou cestou ve zdravotnickém zařízení (lékárně) v období 5/2018–2/2019. K odběru vzorku byla použita metoda pasivního sběru (plotnová sedimentační metoda). Její podstatou je usazování mikroorganismů přítomných ve vzduchu na krevní agar v Petriho misce. Na výši mikrobiálního znečištění vnitřního ovzduší byl posuzován také vliv teploty a vlhkosti vzduchu v lékárně a počet osob přítomných v době odběru vzorku.

Dle Vyhlášky č. 6/2003 Sb., která stanovuje hygienické limity biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností ve zdravotnickém zařízení, je maximální hranice 500 CFU/m³ (CFU je jednotka používaná k odhadu počtu životaschopných bakterií). Této hranice nebylo ve zkoumaném období dosaženo. Naměřené hodnoty dokázaly, že teplota, vlhkost a počet CFU/miska mají mezi sebou určitou mírnou pozitivní závislost. Porovnáním počtu pacientů a počtu CFU/misku se prokázalo, že tyto dvě veličiny nemají vzájemnou výraznou korelaci.

Co se týče zastoupení jednotlivých skupin identifikovaných mikroorganismů ve vzorcích, převažující podíly má většinou skupina G+ *Staphylococcus spp.*, která často tvoří více než 50 % mikroorganismů ve vzorku, někde dokonce až 75 %. Následují G- tyčky, jejichž podíl tvoří až 46 %, dále poté G+ diplokoky a tetrakoky, jejichž podíl dosahuje až 43 %. Z hledaných patogenů byl potvrzen výskyt *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pyogenes*.

Výsledky bakalářské práce nepotvrdily překročení limitu mikrobiálního znečištění ovzduší v lékárně ani významný výskyt původců bakteriálních respiračních nákaz. Lze tedy považovat vnitřní ovzduší v lékárně z hlediska možnosti bakteriální nákazy za málo rizikové.

Klíčová slova

Bakterie; epidemiologie; infekce přenášené vzduchem; kapénky; kvalita vnitřního ovzduší.

Epidemiological Situation at a Pharmacy

Abstract

Airborne respiratory infections are among the most frequent diseases. Airborne respiratory infections afflict both children and adults; they can pose a potential threat to persons already suffering from another primary illness or those with impaired immunity. A disease-carrying person transpires pathogens through droplets or biological aerosol when coughing, sneezing or talking. Such ways of illness transmission pose a risk of nosocomial infection dissemination in medical facilities.

The objective of this Bachelor's thesis is to quantify microbiological pollution in the indoor environment and evaluate the negative influence, if any, of bacterial contamination on the health of patients occurring at the pharmacy.

The laboratory work part of the thesis aimed at the sampling, processing and identification of airborne infection agents at a medical facility (pharmacy) in the period of May 2018 to February 2019. The sampling method used was the method of passive collection (platform settling method). The principle of this method is that microorganisms present in the air settle over blood agar in a Petri dish. The factors evaluated in analyzing microbiological pollution of indoor air included the influences of air temperature and humidity at the pharmacy, as well as the number of persons present at the time of taking the sample.

Pursuant to Decree n. 6/2003, which sets hygienic limits for biological indicators in indoor environments of frequented premises in medical facilities, the maximum limit is 500 CFU/m³ (CFU is a unit used to estimate the count of viable bacteria). The counts found during the review period have never reached the limit. The values measured showed that there is a certain degree of positive correlation between the air temperature, air humidity and CFU count per dish. Comparisons between the number of patients and the CFU count per dish demonstrated no distinct cross-correlation between the two factors.

As far as the representations of individual groups of identified microorganisms in the samples are concerned, the G+ *Staphylococcus spp.* group takes a prevalent share, counting for more than 50 % of microorganisms in the samples, and as much as 75 % in some samples. G-rods follow, with a share of as much as 46 %, further followed by G+

diplococcus and tetracoccus bacteria with a share of as much as 43 %. Of the focus pathogens, the occurrence of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes* were confirmed.

The results of my bachelor's thesis did not confirm any overlimit microbiological pollution of the pharmacy indoor air or a significant occurrence of bacterial respiration infection agents. In conclusion, in terms of bacterial contagion, indoor air at pharmacies can be seen as a low risk.

Key Words

Bacteria; Epidemiology; Airborne Infection; Droplets; Indoor Air Quality.

Obsah

ÚVOD.....	10
TEORETICKÁ ČÁST	11
1 Epidemiologie.....	11
1.1 Proces šíření nákazy	11
1.1.1 Zdroj původce nákazy.....	12
1.1.2 Přenos a cesta šíření původce nákazy	12
1.1.3 Vnímavý hostitel.....	14
1.1.4 Specifické vlastnosti původce nákazy	14
1.2 Respirační nákazy šířené vzdušnou cestou	15
1.2.1 Bakteriální infekce horních cest dýchacích	15
1.2.2 Bakteriální infekce dolních cest dýchacích	17
1.3 Epidemiologická opatření zaměřená na přerušení přenosu nákazy	18
1.3.1 Dezinfekce a sterilizace	18
2 Mikrobiologie	20
2.1 Speciální bakteriologie.....	20
2.1.1 Patogenní gram-pozitivní bakterie.....	20
2.1.2 Patogenní gram-negativní bakterie	22
2.2 Způsoby identifikace patogenů	24
2.2.1 Kultivace	24
2.2.2 Barvení dle Grama	24
2.2.3 Mikroskopický průkaz	25
2.2.4 Biochemické testy.....	25
2.3 Antibiotika.....	26
2.3.1 Klasifikace antibiotik.....	26
2.3.2 Problematika rezistence bakterií k antibiotikům	28
PRAKTICKÁ ČÁST	29
3 Cíle práce a hypotézy	29
3.1 Cíle práce	29
3.2 Hypotézy	29

4	Metodika výzkumu	30
4.1	Preanalytická fáze	32
4.1.1	Mimolaboratorní fáze	32
4.2	Analytická fáze.....	33
4.2.1	Laboratorní fáze	34
4.3	Postanalytická fáze.....	39
5	Výsledky.....	40
6	Diskuze	46
7	Závěr.....	51
8	Seznam literatury	53
9	Seznam příloh	
10	Seznam zkratk	

ÚVOD

CAUSARUM ENIM COGNITIO COGNITIONEM EVENTORUM FACIT (Cicero)

Rozpoznání příčin přináší poznání výsledků (Pfeiffer, 1975, s. 154)

Mikroorganismy se vyskytují všude kolem nás. Na jejich přítomnost ve vzduchu je člověk dlouhodobě adaptován a jejich vdechnutí mu většinou nezpůsobuje žádné větší potíže. Pokud se ale v aerosolu vnitřního prostředí vyskytují patogenní bakterie, mohou se po jejich inhalaci u lidí rozvinout závažné nemoci, které tyto bakterie způsobují (Klánová, 2002).

Nákazy přenášené kapénkami nebo vzdušnou cestou mají vysokou frekvenci výskytu. Každý rok onemocní respirační infekcí vysoké procento lidí, někteří i opakovaně. Tím se tyto nákazy řadí mezi nejčastější onemocnění a také přispívají ke vzniku nozokomiálních respiračních nákaz. V České republice se počet případů respiračních nákaz pohybuje ve statisících ročně. Většinou onemocní děti a staří lidé. Pro svou vysokou incidenci představují vážný zdravotnický a ekonomický problém v zemích mírného pásma (Hamplová et al., 2015).

Zdravotnických služeb lékárny využívá mnoho lidí trpících různými nemocemi. První skupinou jsou pacienti s chronickým onemocněním, kteří si vyzvedávají své předepsané léky na lékařský předpis. Druhou skupinou jsou pacienti s akutním onemocněním, kteří se snaží počáteční fázi nemoci zvládnout volně prodejnými léky. Pokud se po určité době jejich stav nezlepší, navštěvují svého lékaře a po vyšetření se vrací do lékárny s receptem na předepsané léky, např. antibiotika na léčbu bakteriálních infekcí.

Pacienti s respiračním onemocněním při mluvení, kýchání nebo kašláním šíří do svého okolí velké množství kapének obsahujících infekční agens. Mikroorganismy se ve formě kapének nebo biologického aerosolu vznášejí v prostorech lékárny a tím pádem se stávají potenciálním nebezpečím nejen pro další pacienty, ale i pro zdravotnický personál. Takto rozšiřované patogeny ohrožují hlavně pacienty s poruchou imunity nebo oslabeným jiným primárním onemocněním. Přidružené infekce ještě více zatěžují jejich organismus a komplikují léčbu základního onemocnění.

TEORETICKÁ ČÁST

1 Epidemiologie

Infekce spojené se zdravotní péčí (HAI)

Infekce spojené se zdravotní péčí jsou definovány jako infekce exogenního či endogenního původu, které mají souvislost s pobytem osob v ambulantní nebo následné zdravotní péči v nemocnici či jiném zdravotnickém zařízení. Tyto infekce nebyly přítomny před začátkem pobytu nemocného ve zdravotnickém zařízení a ani nebyly v inkubační době. HAI ve svém důsledku vedou k vyšší morbiditě a mortalitě, jsou nevíтанou komplikací při léčbě primárního onemocnění. Tito pacienti jsou již oslabeni svým základním onemocněním a k původcům nákazy jsou tak vnímavější. V průměru je touto infekcí postiženo 5-10 % hospitalizovaných pacientů. Ambulantně ošetřovaní jsou ohroženi HAI méně často. Dle průzkumů nespecifické HAI nákazy odráží epidemiologickou situaci ve spádové oblasti zdravotnického zařízení. V EU postihují ročně odhadem 4,2 milionu pacientů. Jejich léčba je obtížná, protože původci nákazy bývají často odolní vůči antibiotické léčbě. Nejčastějšími původci HAI jsou *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Klebsiella pneumoniae*. Zdravotnický personál v procesu přenosu HAI hraje důležitou roli, proto je nutné dodržovat zásady hygienicko-epidemiologického režimu (např. dezinfekce rukou) (Hamplová et al., 2015).

1.1 Proces šíření nákazy

V epidemiologii infekčních nemocí dáváme do souvislosti vztahy mezi vyvolávajícími faktory, prostředím a hostitelem. Proces šíření nákazy je podmíněn splněním těchto tří následujících podmínek:

- 1/ přítomnost zdroje původce nákazy,
- 2/ uskutečnění přenosu původce nákazy,
- 3/ přítomnost vnímavého hostitele (Hamplová et al., 2015).

1.1.1 Zdroj původce nákazy

Hlavní podmínkou pro vznik epidemiologického procesu je přítomnost zdroje původce nákazy. Ve zdravotnických zařízeních to bývá většinou lidský zdroj. Období vylučování původce nákazy je u různých nálezů různě dlouhé a nazývá se obdobím nakažlivosti. U bakteriálních nálezů se největší množství zárodků vylučuje většinou v prvních dnech nemoci. S ústupem klinických příznaků se množství vylučovaných patogenů snižuje. U člověka rozeznáváme dvě formy zdrojů nálezů: osoby s klinickým průběhem onemocnění (aparentní infekci) a nosiče. *Aporentní infekce* jsou z hlediska šíření méně nebezpečné, protože tito nemocní jsou včas diagnostikováni, izolováni a léčeni (uplatňujeme cílená protiepidemiologická opatření). *Nosiči* přechovávají a vylučují infekční agens bez zjevných příznaků onemocnění. Z hlediska šíření infekce jsou nosiči nebezpečným zdrojem, protože ani oni sami, ani jejich okolí si není vědomo nakažlivosti (Hamplová et al., 2015).

1.1.2 Přenos a cesta šíření původce nálezů

Přenosem nálezů rozumíme přenos infekčního agens ze zdroje nálezů na vnímavého hostitele. Vlastní cesta přenosu bývá různá. Rozpoznáváme ji podle toho, ve kterých orgánech je infekční proces lokalizován a jakou cestou infekční agens opouští svého hostitele (zdroj) nebo vstupuje do vnímavého hostitele. Místem vstupu často bývá epitel kůže a sliznice respiračního a alimentárního traktu, poté také oční spojivka a urogenitální ústrojí. Nazýváme je vstupní branou infekce. V mnoha případech zůstává mikrobiální infekce omezena na buňky epitelu. Jindy se infekční agens může šířit po prostupu epitelem v organismu hostitele lymfatickou cestou do krve a orgánů (Hamplová et al., 2015).

Známe čtyři druhy přenosu původců nálezů:

- 1/ přenos stykem,
- 2/ *přenos vzduchem*,
- 3/ přenos vodou a potravinami,
- 4/ přenos vektorem (např. hmyzem, členovci) (Horažďovský et al., 2001).

1.1.2.1 Přenos původce nákazy vzduchem

Vzduchem se šíří celá řada původců běžně se vyskytujících nakažlivých nemocí, které tvoří skupinu tzv. respiračních nákaz. Přenos infekčního agens vzduchem se uskutečňuje *kapénkami, biologickým aerosolem a kontaminovaným prachem* (Šerý et al., 1966).

Kapénky

Respirační sekrety od pacienta s infekcí dýchacího ústrojí jsou vypuzovány z úst nebo nosu při mluvení, ale hlavně při kašlání, kýchání, plivání. Malé kapky mají různé velikosti od 1-1000 μm a jejich jádro často obsahuje patogenní, ale i neškodné zárodky. Drobná kapénková jádra se odpařují a dle své velikosti se vznášejí určitou dobu ve vzduchu nebo klesají k zemi. Mohou se zachytit na různých předmětech, které poté nazýváme kontaminované a tím pádem mohou následně vyvolat nákazu u lidí. Nebezpečí tkví v rozptylování kapének v uzavřených prostorách a následném šíření respiračních nákaz (Riley, 1974).

V přenosu patogenů mezi prostory je důležitá velikost kapének a jejich rychlost. Malé kapénky se po uvolnění odpařují a mění tak svou velikost. Výsledkem jsou jádra kapének, která jsou dostatečně malá tak, aby zůstávala ve vzduchu dlouho suspendována a stále infekční. Velké kapénky (větší než 100 μm) se mohou usadit na zemi dříve, než se stanou jádry kapének. Přežívání patogenů ve vzduchu závisí na mnoha faktorech, včetně doby pobytu ve vzduchu, hladině vlhkosti (která částečně závisí na teplotě), atmosférických znečišťujících látkách a UV záření. Jak teplota, tak vlhkost působí na lipidovou obálku a bílkovinový plášť, což ovlivňuje dobu přežití patogenů (Eames et al., 2009).

Biologický aerosol

Kapénky menší než 100 μm rychle vysychají a jejich mikrobiální jádra se pak vznášejí ve vzduchu velmi dlouho. Takto vzniká ve vzduchu biologický aerosol, jehož nepatrné rozměry umožňují nejen rychlé proniknutí částic do dýchacích cest a odtud do plicních sklípků, ale i zasažení velkého počtu osob. Při proudění vzduchu může být biologický aerosol zanesen i na větší vzdálenosti (Šerý et al., 1966).

Kontaminovaný prach

Na zemi a na předmětech kapénky vysychají a vzniká kontaminovaný prach, v němž patogenní zárodky přežívají různě dlouho podle stupně odolnosti. Při jeho zvíření se opět dostávají do vzduchu a může docházet k přenosu infekce (Šerý et al., 1966).

Dále rozeznáváme přímý a nepřímý přenos původce nákazy. Pro *přímý přenos* je důležitá současná přítomnost zdroje původce nákazy a vnímavého hostitele. Je to přímý a bezprostřední přenos infekčního agens z brány výstupu infikovaného jedince do brány vstupu nového hostitele. Pro *nepřímý přenos* je charakteristické, že k němu dochází nezávisle na přítomnosti zdroje a vnímavé osoby a bývá něčím zprostředkovan (Hamplová et al., 2015).

1.1.3 Vnímavý hostitel

Vnímavý organismus je poslední ze tří článků šíření nákazy. Po expozici infekčního agens nemusí vždy dojít k infekci. A infekce pak ještě neznamena onemocnění. Vše záleží na odolnosti exponovaného člověka. Individuální odolnost ovlivňují tyto faktory: např. věk, stav imunitního systému, výživový stav hostitele, fyzická kondice, současná jiná onemocnění (Hamplová et al., 2015).

1.1.4 Specifické vlastnosti původce nákazy

Infekčnost je schopnost patogenu způsobit infekci. Vznik a průběh nákazy závisí na velikosti infekční dávky. *Patogenita* je schopnost mikroorganismu vyvolat onemocnění. *Virulence* je definována jako míra závažnosti onemocnění (Nelson a Williams, 2013).

Invazivita je schopnost mikroorganismu proniknout do tkání, udržet se v nich a pomnožovat se. *Toxicita* je schopnost patogenu poškozovat hostitelský organismus produkcí toxinů. *Inkubační doba* je doba od proniknutí patogenu do organismu do vzniku prvních příznaků nemoci (Horažďovský et al., 2001).

1.2 Respirační nákazy šířené vzdušnou cestou

Skupina nákaz přenášených kapénkami, biologickým aerosolem a kontaminovaným prachem je charakterizována těmito parametry: typická vstupní brána infekce je sliznice dýchacích cest, zdroj nákazy je obvykle člověk a typ přenosu je nejčastěji uskutečňován vyschlými kapénkami, respektive jejich hlenovým jádrem obsahujícím mikroorganismy adsorbované na prašných částicích. Etiologicky se jedná o skupinu zahrnující mnoho původců bakteriálních a virových (Hamplová et al., 2015).

Tyto nákazy se liší od jiných nákaz tím, že jejich přenosu není možno úplně zamezit. Dezinfekční opatření mohou snížit množství patogenů na různých předmětech, ale jen velmi těžce se dá ovlivnit jejich přítomnost ve vzduchu. Ani včasná izolace nemocného nebývá často účinná. Diagnostiku obvykle ztěžuje počáteční necharakteristický průběh onemocnění. A právě na počátku onemocnění je původce nákazy vylučován v největším množství. Vzdušné nákazy jsou závažné pro své rychlé a snadné šíření v místech zvýšené kumulace osob, např. nemocnice a zdravotnická zařízení. Boj proti nákazám šířených vzdušnou cestou je obtížný a zaměřuje se hlavně na preventivní opatření, které působí aktivně proti vzniku a šíření nakažlivé nemoci zvyšováním odolnosti osob, např. očkováním a dodržováním hygienických opatření (Šerý et al., 1966).

1.2.1 Bakteriální infekce horních cest dýchacích

Akutní rinofaryngitida

Jedná se o časté onemocnění postihující všechny věkové skupiny, jehož příčinou je virová infekce s případnou bakteriální superinfekcí. Ta je způsobena potencionálně patogenními bakteriemi, které kolonizují nosohltan i exogenními patogeny. Bakteriální etiologii nejčastěji zastupují *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis*. Onemocnění probíhá v epidemiích formou kapénkové infekce nebo kontaminací, s velmi častou incidencí v zimních, podzimních a jarních měsících (Jablonický, 2003).

Akutní tonzilitida

Je to zánět postihující lymfatickou tkáň patrové mandle a známe ho pod pojmem angína. Etiologie je dána bakteriální infekcí, nejvíce (90 %) zastoupenou β -hemolytickým streptokokem skupiny A (*Streptococcus pyogenes*). Akutní tonzilitida patří mezi onemocnění přenášená vzdušnou cestou a kontaktní nákazou. Nemoc má sezónní i kolektivní výskyt. Vrchol incidence je ve věku od pěti do patnácti let (Jablonický, 2003).

Akutní sinusitida

Akutní sinusitida je infekce jedné nebo více paranazálních dutin. Mezi bakteriální původce patří *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* a *Enterobacter*. Vzniká jako častá komplikace virového zánětu horních cest dýchacích (HCD), vyskytuje se převážně v zimních měsících (Jablonický, 2003).

Akutní epiglottitida

Jde o zánět s extrémním otokem hrtanové příklopky, častěji u dětí než u dospělých. Onemocnění může mít velmi závažný průběh až s ohrožením života. Onemocnění je u dětí vyvoláno bakterií *Haemophilus influenzae* typu B, u dospělých může být vyvolavatelem i jiná bakteriální flóra. Epidemiologicky se jedná o respirační infekci přenášenou kapénkami. Akutní epiglottitida je život ohrožující onemocnění s možnou smrtelnou komplikací vzniklou z úplné uzavírky dýchacích cest hlavně v dětském věku. K méně častým komplikacím patří bronchopneumonie a meningitida (Jablonický, 2003).

Akutní subglotická laryngitida

Tato samostatná forma laryngitidy navazuje na běžnou respirační virovou infekci, v malém procentu se vyskytují mezi vyvolavateli bakterie *Haemophilus influenzae* a *Streptococcus pyogenes*. Je přenášená kapénkami a postihuje nejvíce děti v prvních pěti letech života. Možnou komplikací je bronchopneumonie (Jablonický, 2003).

1.2.2 Bakteriální infekce dolních cest dýchacích

Akutní tracheobronchitida

Akutní zánět průdušnice a průdušek je akutní onemocnění postihující tracheobronchiální strom. Etiologie je nejčastěji virová, na kterou následně může nasedat bakteriální superinfekce, jejíž původci jsou *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae* a *Moraxella catarrhalis*. Stafylokoky se vyskytují zřídka. Výskyt je v jarních a zimních měsících. Nejvíce ohroženou skupinou jsou děti, ve skupině dospělých bývá onemocnění časté u kuřáků (Žurková, 2012).

Akutní exacerbace chronické bronchitidy (CB) nebo chronické obstrukční plicní nemoci (CHOPN)

Etiologie je infekční, běžnými patogeny jsou *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae* a *Moraxella catarrhalis*. Infekce se vyskytuje spíše u starších osob a kuřáků, komplikuje jejich základní onemocnění (Žurková, 2012).

Pneumonie

Pneumonie je nejčastější infekční onemocnění dolních cest dýchacích (DCD) a podílí se významnou měrou na celosvětové mortalitě. Definované kategorie jsou komunitní pneumonie, nozokomiální pneumonie a pneumonie imunokompromitovaných nemocných. Komunitní pneumonie tvoří 80–90 % případů, jedná se o onemocnění získané v běžné populaci – nejčastějšími patogeny jsou *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Legionella pneumoniae* a *Staphylococcus aureus*. Častější výskyt pneumonie bývá v dětství do 5 let a dále u osob starých, u kuřáků a zvýšené riziko je u nemocných s chronickým onemocněním srdce a plic, u diabetiků, nemocných s malignitou a imunodeficitem a nemocných s chronickým selháním ledvin (Žurková, 2012).

Mezi další patogenní bakterie přenášené vzdušnou cestou a způsobující respirační onemocnění patří např: *Bordetella parapertussis* (původce parapertusse), *Corynebacterium diphtheriae* (původce záškrtu), *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa* (Bednář et al., 1996).

Léčba těchto výše uvedených bakteriálních infekcí probíhá (dle stavu nemocného) podáváním antibiotik, kortikoidů, antihistaminik, vitaminů, antipyretik/analgetik, lokálních dezinficiencí, vazokonstrikčních léků s lokálním působením (ve formě nosních kapek), mukolytik a expektorancií na vlhký kašel, dráždivý kašel se tlumí antitusiky. Důležitý je klid na lůžku a dostatek tekutin.

Respiračním nákazám lze také předcházet účinnou prevencí, např. očkováním, dodržováním hygienických zásad a zdravým životním stylem s podporou imunity.

1.3 Epidemiologická opatření zaměřená na přerušeni přenosu nákazy

1.3.1 Dezinfekce a sterilizace

Dezinfekce znamená odstranění původců infekce nebo patogenních mikrobů z předmětů či povrchů. Zahrnuje chemické a fyzikální postupy nebo jejich kombinaci. Není tak účinná jako sterilizace. *Sterilizace* je proces vedoucí k usmrcení všech mikroorganismů a jejich spor z předmětů nebo prostředí postupy fyzikální či chemické povahy (Kramář, 2007).

Provádění dezinfekce a sterilizace je nedílnou součástí protiepidemiologického režimu a provozního řádu ve zdravotnickém zařízení. Tato opatření zamezují přežívání mikroorganismů na předmětech, plochách, na pokožce. Správné provádění dezinfekce předmětů, dezinfekce rukou, sterilizace, aseptický postup práce mohou významně omezit šíření infekčních nemocí. Sterilizaci a dezinfekci ve zdravotnickém zařízení provádějí proškolení pracovníci (Hamplová et al., 2015).

Z důvodu ochrany před šířením nozokomiálních nákaz probíhají v lékárně úředně schválené sanitační programy. Jsou to postupy, které nařizují v pravidelných intervalech

používání a střídání účinných dezinfekčních prostředků s atestem. Spektrum účinnosti takového prostředku musí zahrnovat bakterie, houby a viry.

Důležité je také správné provádění hygieny rukou zdravotnických pracovníků. Tato činnost zabraňuje šíření infekcí ve zdravotnickém zařízení, ale ne vždy je tento postup dodržován. Doporučuje se kromě tradičního mytí rukou mýdlem i používání dezinfekčních přípravků na ruce na bázi alkoholu, které působí rychleji a méně dráždí pokožku. Toto opatření významně přispívá k trvalému zlepšování procesu spojeného s omezením přenosu infekce ve zdravotnickém zařízení (Pittet, 2001).

Je nutné také snižovat množství patogenů přítomných ve vzduchu uvnitř zdravotnického zařízení. K tomuto účelu slouží germicidní lampy s přímým krátkovlnným UV zářením, které dezinfikuje jak vzduch, tak i povrchy.

Nyní se testují přístroje, které k dezinfekci vzduchu využívají světlo o vlnové délce 405 nm produkované LED diodami. Výsledky ukazují, že gram-pozitivní i gram-negativní bakterie jsou tímto světlem inaktivovány, přičemž gram-pozitivní byly na toto světlo citlivější než gram-negativní (Maclean et al., 2009).

2 Mikrobiologie

Z důvodu zvolené metodiky sběru infekčního agens (pasivní sběr na krevní agar v Petriho misce) musí zkoumané patogenní bakterie splňovat následující kritéria:

- 1/ barvitelnost dle Grama (+/-),
- 2/ růst na krevním agaru,
- 3/ přenos od zdroje původce nákazy vzdušnou cestou, a to ve formě kapének, biologického aerosolu, nebo je přenos zprostředkován kontaminovaným prachem,
- 4/ růst za přítomnosti kyslíku.

2.1 Speciální bakteriologie

2.1.1 Patogenní gram-pozitivní bakterie

a/ gram-pozitivní fakultativně anaerobní koky

Staphylococcus aureus je gram-pozitivní, fakultativně anaerobní, nesporulující, nepohyblivý sférický kok o průměru asi 1 μm , vyskytuje se v hroznovitých koloniích. Na krevním agaru roste v pigmentovaných koloniích (zlatožlutých) s β -hemolýzou v okolí. *S. aureus* jako komenzál kolonizuje kůži, sliznici HCD (20-50 % nosičů) i zažívací trakt. Zdrojem infekce je člověk, přenos se děje vzdušnou cestou, přímým stykem i nepřímo. Patří mezi původce nozokomiálních infekcí, kmeny mají multirezistenci k antibiotikům. Při testování biochemické aktivity je charakteristická tvorba plasmakoagulázy, test katalázy je pozitivní, test oxidázy negativní (Bednář et al., 1996).

V běžné praxi se k léčbě předepisuje amoxicilin s inhibitorem beta-laktamáz (kyselina klavulanová), klindamycin a makrolidy (klarithromycin, azithromycin) (Turnidge et al., 2008).

Streptococcus pyogenes je gram-pozitivní, fakultativně anaerobní, nesporulující, nepohyblivý kulatý nebo ovoidní kok do velikosti 1 μm , vyskytuje se v řetězcích. Na krevním agaru roste v drobných koloniích obklopených zónou úplné β -hemolýzy. Je

primárně patogenní pro člověka, který je také jediným zdrojem infekce. Přenos se uskutečňuje kapénkami. Při identifikaci je PYR test pozitivní, test katalázy negativní a test oxidázy také negativní (Bednář et al., 1996).

V praxi se k léčbě používá penicilin, amoxicilin s inhibítorem beta-laktamáz (kyselina klavulanová), klindamycin a makrolidy (klarithromycin, azithromycin) (Patterson, 1996).

Streptococcus pneumoniae je gram-pozitivní, fakultativně anaerobní, nesporulující, nepohyblivý diplokok protáhlého lancetovitého tvaru, z diplokoků se mohou tvořit řetízky. Pokud je vytvořeno pouzdro, tak obklopuje celou dvojici. Na krevním agaru bývají kolonie hlenovité s propadlým středem obklopeny zónou α -hemolýzy (viridace). Bakterie běžně kolonizuje sliznice HCD a hlavním důvodem patogenity je pouzdro, které brání fagocytóze. Pro odlišení od jiných viridujících streptokoků používáme optochinový test a test rozpustnosti ve žluči (průkaz autolysinu), oba testy jsou pozitivní (Bednář et al., 1996).

Patogen je citlivý na penicilin, amoxicilin a makrolidy (klarithromycin, azithromycin) (Patterson, 1996).

b/ gram-pozitivní fakultativně anaerobní tyčky

Corynebacterium diphtheriae je gram-pozitivní, fakultativně anaerobní, nesporulující, nepohyblivá tyčka kyjovitého tvaru, kolonie bakterií mohou mít pod mikroskopem charakteristický tvar písmene V, nebo jsou uskupeny v palisádách či mají formu „čínského písmena“. Bakterie obsahují metachromatická granula. Kultivačně jsou nenáročné, na krevním agaru rostou šedobílé až šedostříbrné kolonie se zónou β -hemolýzy. Prokazujeme ji testem katalázy, který je pozitivní a testem oxidázy, jenž je negativní (Schindler, 2014).

Patogen se nachází v HCD a na kůži, přenáší se vzduchem. Lékem volby je penicilin G a makrolidy (Kramář, 2007).

2.1.2 Patogenní gram-negativní bakterie

a/ gram-negativní striktně aerobní tyčky

Pseudomonas aeruginosa je gram-negativní, striktně aerobní, nesporulující, pohyblivá, nefermentující, rovná až lehce zahnutá tyčka uspořádaná jednotlivě, po dvojicích nebo krátkých řetězcích. Na krevním agaru roste v plochých perleťově lesklých koloniích s nepravidelnými okraji, které voní po jasmínu a jsou obklopeny výraznou zónou úplné hemolýzy. 5-20 % bakterií může produkovat pigment (žlutozelený pyoverdin a modrozelený pyocyanin). Bakterie je častým původcem nozokomiálních nákaz a osidluje hlavně sliznice imunodeficientních pacientů. Biochemicky ji diagnostikujeme testem kataláza, který je pozitivní a testem oxidáza, jenž je také pozitivní. Patogen je vysoce rezistentní vůči antibiotické léčbě, lze použít cefalosporiny II. generace (cefuroxim) (Mosio, 2012).

b/ gram-negativní striktně aerobní kokobacily až tyčky

Bordetella parapertussis je gram-negativní, striktně aerobní, nepohyblivý, nefermentující kokobacil až tyčka uspořádaná jednotlivě nebo ve dvojicích. Na krevním agaru jsou kolonie větší, perleťové se zónou hemolýzy. Patogena prokazujeme testy, kataláza je pozitivní a oxidáza negativní (Mosio, 2012).

K přenosu dochází ve formě kapének infekčního aerosolu při úzkém kontaktu s nemocným, nepřímou vzdušnou cestou nebo kontaminovanými předměty (Hamplová et al., 2015).

Při terapii jsou nejčastěji podávány amoxiciliny nebo makrolidy (Kramář, 2007).

Haemophilus influenzae je gram-negativní, fakultativně anaerobní, nepohyblivý, nesporulující kokobacil až tyčka. Na krevním agaru roste v drobných koloniích pouze v blízkosti kolonií hemolytických druhů, zejména *S. aureus*. Tyto bakterie uvolňují lýzou erytrocytů faktor X a zároveň produkují faktor V (tzv. fenomén satelitního růstu) (Mosio, 2012).

K přenosu původce dochází pomocí kapének nebo kontaktem s nemocným (Hamplová et al., 2015).

Bakterii identifikujeme pomocí biochemických testů: kataláza je pozitivní a oxidáza také pozitivní (Slack, 2012).

K léčbě onemocnění se používá amoxicilin s inhibitorem beta-laktamáz (kyselina klavulanová), cefuroxim a makrolidy (azithromycin) (Buensalido, 2018).

c/ gram-negativní striktně aerobní koky

Moraxella catarrhalis je gram-negativní, aerobní, nepohyblivý, nesporulující diplokok. Kolonie na krevním agaru jsou bez hemolýzy. Testy průkazu kataláza i oxidáza jsou pozitivní. Bakterie způsobuje časté bronchopulmonální infekce a pneumonie imunokompromitovaných pacientů (podmíněný patogen) (Bednář et al., 1996).

Patogen je citlivý na léčbu amoxicilinem s inhibitorem beta-laktamáz (kyselina klavulanová) a cefalosporiny II. generace (cefuroxim) (Mikucka et al., 2000).

d/ gram-negativní fakultativně anaerobní tyčky

Klebsiella pneumoniae je gram-negativní, fakultativně anaerobní, nepohyblivá, nesporulující zapouzdřená tyčka. Bakterii nalézáme v normální flóře respiračního a zažívacího traktu a je původcem pneumonie jako nozokomiální infekce u lidí s poškozenou imunitou. Přenos nastává kontaktem a vzdušnou cestou. Terapie je cefalosporiny II. generace (cefuroxim), makrolidy (azithromycin) a amoxicilin s inhibitorem beta-laktamáz (kyselina klavulanová) (Paterson et al., 2010-2014).

Na krevním agaru roste ve velkých mukózních koloniích bez hemolýzy. Prokazujeme ji testy kataláza pozitivní a oxidáza negativní (Mosio, 2012).

2.2 Způsoby identifikace patogenů

K identifikaci patogenů jsou používány zavedené a ověřené postupy přímého průkazu:

- 1/ kultivace,
- 2/ barvení dle Grama,
- 3/ mikroskopie,
- 4/ biochemické testy (Zima, 2013).

2.2.1 Kultivace

Metoda kultivace umožňuje pomnožení mikroorganismů ve vhodném médiu, k tomu se využívají pevné nebo tekuté půdy. V bakteriologii patří kultivační metody k základním vyšetřovacím postupům laboratorní diagnostiky, lze takto prokázat většinu lékařsky významných bakterií. Makroskopická forma růstu na agaru se označuje jako kolonie. Hodnotí se velikost, tvar, barva, zápach, okraje a další specifika. Kultivační metody jsou rovněž základem stanovení citlivosti bakterií k antimikrobním látkám (Zima, 2013).

2.2.2 Barvení dle Grama

Pro záchyt skupin bakterií nebo bakteriálních struktur využíváme tzv. diagnostické barvení, zde barvení dle Grama, které patří mezi základní barvení. Bakterie poté dělíme na gram-pozitivní bakterie a gram-negativní bakterie (Zima, 2013).

Gramovo barvení nám rozděluje bakterie do dvou základních druhů. Bakterii, která si zachová počáteční barvení krystalovou violetí (purpurovou), se říká gram-pozitivní. Zatímco bakterii, která se odbarví acetonem a poté získá červenou barvu pomocí barvení karbolfuchsinem, se říká gram-negativní. Tato reakce barvení je založena na chemické a strukturální stavbě buněčných stěn obou druhů bakterií. Gram-pozitivní mají hustou, relativně nepropustnou stěnu, která odolává odbarvování a je složena z peptidoglykanových a sekundárních polymerů. Gram-negativní mají tenkou vrstvu peptidoglykanu, kterou překrývá lipid-proteinová dvojvrstva (známá jako vnější membrána) a může být narušena odbarvováním (Beveridge, 2009).

Postup při barvení dle Grama:

- 1/ Kolonie patogena se suspenduje v kapce vody na podložním sklíčku.
- 2/ Preparát se zafixuje plamenem.
- 3/ Sklíčko ve vodorovné poloze se pokryje roztokem krystalové violeti po dobu 1 minuty.
- 4/ Do krystalové violeti se nalije na 1 minutu Lugolův roztok.
- 5/ Barvivo se poté opláchne acetonem.
- 6/ Preparát se dobarví karbolfuchsinem a na závěr opláchne vodou (Kramář, 2007).

2.2.3 Mikroskopický průkaz

Mikroskopické vyšetření dává přímý průkaz infekčního agens v určitém materiálu. Sledují se objekty, které jsou specificky obarveny. Tato rychlá orientační diagnostika umožňuje stanovení předběžné diagnózy při znalosti klinických příznaků nemoci a možnost doporučení vhodné antibakteriální léčby (Zima, 2013).

2.2.4 Biochemické testy

Při biochemické identifikaci bakterií se využívá poznatku, že každá bakterie produkuje enzymy, které jsou pro ni charakteristické. Tyto enzymy jsou potřebné ke štěpení živin či ke stavbě buněčných struktur. A proto je určení biochemických vlastností základem k třídění bakterií k jednotlivým rodům a druhům. Hlavní zásadou je práce s čistou kulturou. Testy se provádějí buď pomocí komerčně vyráběných setů, nebo kultivací na diagnostických půdách.

Test katalázy: Několik kapek 3 % peroxidu vodíku se kápne přímo na kolonii, produkce bublin indikuje vznik kyslíku u kataláza pozitivních bakterií (Koneman, 2006).

Mezi takto identifikovatelné patogeny patří *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella parapertussis*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* a *Klebsiella pneumoniae*.

Test rozpustnost ve žluči: Pár kapek 10 % roztoku deoxycholátu sodného se kápne na kolonii patpgena. Pozitivita testu prokáže přítomnost *Streptococcus pneumoniae* (Koneman, 2006).

PYR test: Detekuje pyrrolidonylpeptidázovou (PYRázovou) aktivitu. Po přidání reakčního činidla N, N-methylaminocinnamaldehydu k bakteriím produkujícím L-pyrrolidonyl- β -naphtylamid vznikne červená barva (*Streptococcus pyogenes*) (Koneman, 2006).

Test oxidázy: Část kolonie se aplikuje na testovací proužek, který při pozitivitě zmodrá, což indikuje aktivitu cytochrom oxidázy (Koneman, 2006).

Tento test je pozitivní u *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* a *Moraxella catarrhalis*.

Optochinový test: Na agar s kolonií se položí disk s optochinem. *Streptococcus pneumoniae* v jeho okolí neroste, je na něj citlivý (ITEST plus, 2018).

2.3 Antibiotika

Antibiotika jsou látky biologického nebo syntetického původu, které inhibují růst bakterií (při nižší koncentraci mají bakteriostatické působení) či destruuji mikroorganismy (při vyšší koncentraci jsou baktericidní). Antibiotika se dělí podle své chemické struktury a mechanismu účinku na další podskupiny (Kramář, 2007).

2.3.1 Klasifikace antibiotik

a/ beta-laktamová antibiotika

Po vazbě na specifické struktury na buněčné bakteriální stěně narušují její stavbu a působí baktericidně. *Peniciliny* jsou vhodné k léčbě streptokokových infekcí, jsou bezpečné (včetně těhotných) a dobře snášeny. Dělí se na *základní peniciliny* (benzylpenicilin, prokain-benzylpenicilin, benzathin-fenoxymethylpenicilin) a *peniciliny s rozšířeným spektrem účinku v kombinaci s inhibitory beta-laktamáz* (ampicilin a amoxicilin + kyselina klavulanová). *Cefalosporiny* představují léčiva druhé volby, mají antibakteriální

spektrum jako penicilin, a navíc roste jejich účinnost proti gram-negativním bakteriím. Jsou také dobře snášeny, ale vyskytují se alergické reakce. Rozeznáváme čtyři generace cefalosporinů, do kterých patří cefalexin, cefalotin (I.), cefuroxim, cefaklor (II.), cefotaxim, cefixim (III.) a cefepim (IV.). *Monobaktamy* (aztreonam) a *karbapenemy* působí na gram-negativní aeroby, karbapenemy navíc na enterobakterie, streptokoky a anaeroby (ertapenem, meropenem, imipenem) (Slíva a Votava, 2010).

b/ látky inhibující tvorbu nukleových kyselin

Jedná se o širokospektrá bakteriostatická chemoterapeutika zabraňující v prokaryotických buňkách syntéze nukleových kyselin. Jsou vhodná na léčbu infekcí dýchacích a močových cest, nejčastěji se užívá kombinace sulfamethoxazolu a trimetoprimu pod názvem kotrimoxazol. Mezi možné nežádoucí účinky patří exantém a krystalurie (Slíva a Votava, 2010).

c/ látky ovlivňující bakteriální proteosyntézu

Tetracykliny (doxycyklin) působí bakteriostaticky, častými nežádoucími účinky jsou zažívací potíže a fototoxicita. Musí být podávány nalačno a z důvodu vzniku deformit je kontraindikován u dětí, těhotných a kojících (Kramář, 2007).

Makrolidy (klaritromycin, roxitromycin, azitromycin) inhibují peptidyltransferázu, čímž zamezují translaci, tedy i proteosyntéze. Účinky makrolidů jsou bakteriostatické až bakteriocidní, spektrem účinku jsou podobné penicilinům, dobře působí na intracelulární patogeny. Častým nežádoucím účinkem jsou zažívací potíže, mají interakce s jinými léčivy (statiny, warfarin, digoxin). *Aminoglikosidy* (streptomycin, gentamicin, amikacin) účinkují na gram-pozitivní i gram-negativní bakterie. Nevstřebávají se ze zažívacího traktu, aplikace je obvykle intramuskulární nebo intravenózní. Mezi nejvýznamnější nežádoucí účinky patří ototoxicita a nefrotoxicita. *Amfenikoly* (chloramfenikol) mají širokospektrý bakteriostatický účinek. Dále existují *streptograminy* a *oxalidionony* (Slíva a Votava, 2010).

Linkosamidy (klindamycin) působí proti gram-pozitivním kokům a anaerobům (Kramář, 2007).

d/ látky blokující topoisomérázu II

Inhibicí topoisomérázy II (DNA-gyrázy) zabraňují tyto látky syntéze bakteriální DNA. Dnes jsou využívány pouze *fluorochinolony* (ciprofloxacin, ofloxacin) zejména u infekcí močových a dýchacích cest. Svým inhibičním působením na cytochrom P450 mohou vést ke zvýšení plazmatických koncentrací současně podaných léčiv (theofylin, klozapin). V graviditě jsou kontraindikovány z důvodu postižení kloubní chrupavky plodu. Mezi ostatní antibakteriální látky se řadí daptomycin, nitrofurantoin, vankomycin (Slíva a Votava, 2010).

2.3.2 Problematika rezistence bakterií k antibiotikům

Po objevení antibiotik, která selektivně působí na mikroorganismy, se zdálo, že lidé budou mít infekční choroby pod kontrolou. Ale brzy vznikl fenomén rezistence bakterií k určitým antibiotikům. Tato odolnost je způsobena několika faktory. Získaná rezistence znamená, že antibiotikum působí inhibičně na většinu bakterií, ale ty rezistentní se dále množí a předávají tuto schopnost dál. To je také důvod, proč se naordinovaná antibiotika lékařem musí dobrat až do konce a v přesném časovém intervalu a pacient nesmí přerušit léčbu po ústupu potíží. Důležitým faktorem je také tzv. zkřížená rezistence (mikroorganismus rezistentní na jeden druh antibiotika bývá rezistentní i na jiná antibiotika se stejným mechanismem účinku). Genetický základ rezistence je založen na přítomnosti plazmidů, které obsahují informaci o odolnosti a jejich vzájemné výměně mezi bakteriemi. Často rezistentní jsou zástupci rodu *Staphylococcus*, *Escherichia* a *Salmonella* a bakterie *Pseudomonas aeruginosa*. Při dnešním nadužívání antibiotik se zvyšuje počet rezistentních mikroorganismů. Pokud se budou nově zavedená antibiotika regulovat, pomůže to zachránit mnoho životů a zabránit šíření rezistentních organismů (Lakhva et al., 2013).

Geny rezistence se objevují i v populacích mikroorganismů bez selekčního tlaku (Schindler, 2014).

PRAKTICKÁ ČÁST

3 Cíle práce a hypotézy

3.1 Cíle práce

1/ Zpracovat rešerši o epidemiologii respiračních onemocnění, objasnit cestu přenosu infekčního agens od zdroje nákazy k vnímavému hostiteli, specifikovat patogenní původce respiračních nákaz přenášených vzdušnou cestou.

2/ Popsat metody sběru, kultivace, kvantitativního a kvalitativního rozboru kolonií mikroorganismů způsobujících respirační onemocnění šířených vzdušnou cestou a toto aplikovat v praktické části bakalářské práce.

3/ Statisticky vyhodnotit získané výsledky ve sledovaném období (tabulky, grafy).

3.2 Hypotézy

1/ Předpokládám, že počet CFU/miska závisí přímo úměrně na vlhkosti vzduchu vnitřního prostředí ve sledovaném období.

2/ Předpokládám, že počet CFU/miska závisí přímo úměrně na počtu pacientů v lékárně ve sledovaném období.

3/ Předpokládám vzestup respiračních nákaz v období epidemiologicky příhodném (podzim, zima, jaro) oproti období klidu (léto) na základě počtu vydaných antibiotik ve sledovaném období.

4 Metodika výzkumu

Výzkumná strategie

Výzkum bude zaměřen na odběr, zpracování a identifikaci infekčního agens šířeného vzdušnou cestou ve zdravotnickém zařízení (lékárně) v období 5/2018–2/2019. Bude také zkoumáno mikrobiální znečištění ovzduší vnitřního prostředí a zda na jeho výši má vliv teplota a vlhkost v místnosti a počet lidí přítomných v době odběru vzorku.

V preanalytické fázi bude k odběru vzorku použita metoda pasivního sběru (plotnová sedimentační metoda). Její podstatou je usazování mikroorganismů přítomných ve vzduchu na krevní agar v Petriho misce po dobu 4 hodin, která bude umístěna v oficíně lékárny (výdejní místnost) na specifickém místě na táře (výdejní pult).

Analytická fáze bude probíhat v laboratoři ZSF JU.

Vzorek v Petriho misce bude inkubován v termostatu při 37 °C po dobu 48 hodin (Jandová a Kotoučková, 1996).

Poté bude proveden kvantitativní rozbor (počet CFU/miska a počet CFU/m³ ovzduší ve vnitřním prostředí) a kvalitativní rozbor kolonií (barvení dle Grama, mikroskopování, biochemické testy).

V postanalytické fázi budou statisticky vyhodnoceny získané výsledky v daném období. Data budou zpracována ve formě tabulek a grafů. Formulované hypotézy budou potvrzeny nebo vyvráceny.

Výzkumný soubor

Ve výzkumném souboru budou zahrnuty odběry vzorků, které budou probíhat v lékárně v období 5/2018-2/2019 a to ve frekvenci 1x měsíčně. Ze statistického hlediska bude pokryto období deseti měsíců.

Zkoumané mikroorganismy musí splňovat následující kritéria: barvitelnost dle Grama (+/-), růst na krevním agaru, přenos od zdroje původce nákazy vzdušnou cestou, a to ve

formě kapének, biologického aerosolu, nebo je přenos zprostředkován kontaminovaným prachem, růst za přítomnosti kyslíku.

Bakalářská práce je zaměřena na potvrzení výskytu patogenních původců respiračních nákaz přenášených vzdušnou cestou ve zdravotnickém zařízení (lékárně) a to konkrétně *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella parapertussis*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarhallis* a *Klebsiella pneumoniae*.

Z výzkumného souboru budou vyřazeny mikroorganismy, které patří mezi normální mikroflóru lidského organismu a za normálních okolností nejsou patogeny. Z podstaty bakalářské práce jsou to bakterie, které osidlují kůži, HCD a dutinu ústní.

Na kůži se vyskytují z gram-pozitivních koků především stafylokoky (např. *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis* a *Staphylococcus capitis*), dále je častý *Micrococcus luteus*. Gram-pozitivní tyčky jsou zastoupeny rody *Corynebacterium*, *Propionibacterium* a *Brevibacterium*. K méně obvyklým zástupcům fyziologické mikroflóry se řadí také *Acinetobacter calcoaceticus* (gram-negativní tyčka), *Demodex folliculorum* a *Pytirosporum spp.* (Tannock, 1995).

V HCD se z nepatogenních bakterií nachází *Staphylococcus epidermidis*, ve velkém množství streptokoky (např. *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus intermedius* a *Streptococcus mutans*) a dále také *Neisseria spp.* V dutině ústní dominují z gram-pozitivních bakterií zástupci rodů *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, z gram-negativních bakterií jsou to pak rody *Prevotella*, *Fusobacterium* a *Veillonella* (Tannock, 2012).

Z výzkumného souboru je nutno také vyřadit plísně. I když jsou potenciálně patogenní pro pacienty se sníženou imunitou nebo pro pacienty oslabené jejich primárním onemocněním a způsobují onemocnění dýchacích cest a závažné pneumonie, výzkum je zaměřen pouze na bakteriální původce respiračních nákaz.

Spory plísňí jsou svým tvarem přizpůsobeny k tomu, aby se snadno přenášely vzduchem. Z důvodu své malé velikosti jsou snadno inhalovány hluboko do dýchacích cest. Plísně jsou také nebezpečné tím, že produkují mykotoxiny. Na výskyt plísňí uvnitř budov má vliv zejména vnitřní vlhkost a také stáří a konstrukce stavby (Yang a Heinsohn, 2007).

4.1 Preanalytická fáze

4.1.1 Mimolaboratorní fáze

Preanalytická část proběhla v lékárně ve zdravotnickém zařízení poliklinického typu v období 5/2018-2/2019.

Místo odběru vzorku bylo na stabilním místě v oficičně lékárně (158 m³ ovzduší ve vnitřním prostředí) na táře, 1 metr nad zemí a 1,5 metru od každého výdejního místa bez jakékoliv překážky, která by znemožňovala přirozené proudění vzduchu.

K odběru vzorku byl použit krevní agar v Petriho misce, vzorek byl získán metodou pasivního sběru.

Prostory se zvýšeným požadavkem na čistotu mají dobu expozice otevřených agarových misek při sedimentační metodě 4 hodiny. U zdravotnického zařízení, které nepoužívá klimatizační jednotku k nucené cirkulaci vzduchu, je tato metoda vhodná k posouzení mikrobiálního znečištění ovzduší ve vnitřním prostředí (Klánová, 2002).

Frekvence odběru vzorku byla stanovena 1x měsíčně po dobu 4 hodin od 8,00 do 12,00 hodin (z důvodu zvýšeného výskytu pacientů v lékárně a ordinačních hodin lékařů). Počet pacientů vyskytujících se v lékárně v průběhu odběru vzorku, teplota a vlhkost byly zaznamenány do tabulek.

Na přežití vzdušných patogenů ve vzduchu a tím i na úspěšný přenos infekcí způsobených těmito bakteriemi má vliv zejména teplota a vlhkost vzduchu ve vnitřním prostředí (Tang, 2009).

Metoda pasivního sběru (plotnová sedimentační metoda)

Pro měření kontaminace ovzduší uvnitř budov je popsán standardní index mikrobiální kontaminace vzduchu (IMA), který je založen na počtu mikrobiálních spadů na živnou půdu v Petriho miskách ponechaných na předem definovaných místech po určitou dobu. Ukázalo se, že je užitečným nástrojem pro sledování mikrobiální kontaminace vzduchu ve vnitřním prostředí budov (Pasquarella et al., 2000).

Metoda pasivního sběru může být použita ke kvalitativnímu a kvantitativnímu vyhodnocení IMA. Lze při každém odběru vzorku zaznamenat i počet osob v místnosti s cílem vyhodnotit možný vztah k mikrobiálnímu znečištění (Di Giulio et al., 2010).

Po skončení odběru byla Petriho miska okamžitě uzavřena a řádně označený vzorek neprodleně transportován do laboratoře ZSF JU.

4.2 Analytická fáze

Analytická část výzkumu probíhala v laboratoři ZSF JU.

K identifikaci patogenů byly použity zavedené a ověřené postupy přímého průkazu:

- 1/ kultivace,
- 2/ barvení dle Grama,
- 3/ mikroskopie,
- 4/ biochemické testy.

Při práci v laboratoři byl kladen důraz na dodržování bezpečnosti práce a bylo postupováno dle provozního řádu a interních předpisů.

4.2.1 Laboratorní fáze

1/ kultivace

Označený vzorek v Petriho misce byl inkubován v termostatu OP30-U při teplotě 37 °C po dobu 48 hodin, dnem vzhůru.

Krevní agar

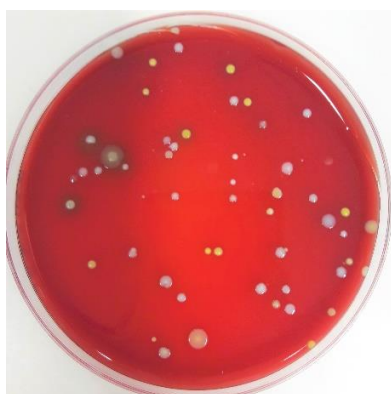
Je to médium pro kultivaci různých typů vzorků. Patří mezi nejpoužívanější půdy, roste na ní většina bakterií, připravuje se přidáním 5–10 % defibrinované zvířecí krve k vhodnému základu (např. masopeptonový agar), tím pádem lze také odečítat hemolýzu. Pokud bakterie tvoří hemolýziny, vznikne úplné projasnění, u neúplné hemolýzy není projasnění úplné. Medium se uchovává při teplotě od 4 do 8 °C v lednici tak, aby nevysychalo (dnem vzhůru a zabalené) a to po stanovenou dobu expirace (Kopecká a Rotková, 2017).

Po proběhlé kultivaci vzorku následoval *kvantitativní rozbor* narostlých kolonií na krevním agaru, výpočet CFU/miska a CFU/m³ ovzduší ve vnitřním prostředí byl proveden v postanalytické fázi.

CFU-Colony Forming Units (kolonie tvořící jednotky)

CFU je pouze odhadem počtu přítomných buněk. Protože jediné buňky schopné tvořit kolonie jsou ty, které mohou růst za splnění podmínek testu (např. inkubační médium, teplota, čas, přítomnost kyslíku). Dokonce i ty nepředstavují jednu buňku, ale takové buňky, které se na misce dobře rozdělují, a tak je lze rozlišit podle růstu. Kolonie může vzniknout z jedné buňky nebo několika tisíc buněk. Obecně se za běžných podmínek počítá s počty kolonií na misce 25-250 (CFU/miska). Breed a Dotterer (1916) poznamenávají, že druh bakterií ve zkoumaném materiálu bude mít vliv na velikost kolonií a následně i na počet, který se může na misce vyvíjet. Také zásobování živinami může být problém, kolonie blízko sebe na misce se mohou sloučit a sousední kolonie mohou inhibovat, nebo naopak stimulovat k růstu (Sutton, 2011).

Po *kvantitativním rozboru* narostlých kolonií na krevním agaru následoval *rozbor kvalitativní*. Každá bakterie roste ve specifických koloniích, které mají charakteristickou barvu, velikost, tvar, povrch, někdy i vůni/zápach. Výběr zkoumaných kolonií zahrnoval reprezentativní vzorek ze všech narostlých kolonií (z důvodu obsáhnutí co největšího počtu druhů bakterií, a naopak eliminace opakovaného odběru stejných druhů bakterií). Příklady variability narostlých kolonií jsou viditelné na obrázcích č. 1, 2.



Obrázek č. 1 - Sběr 6/2018 (zdroj: Schneiderová, 2018)



Obrázek č. 2 - Sběr 10/2018 (zdroj: Schneiderová, 2018)

V první fázi *kvalitativního rozboru* bylo použito diagnostické barvení dle Grama k odlišení gram-pozitivních a gram-negativních bakterií.

2/ barvení dle Grama

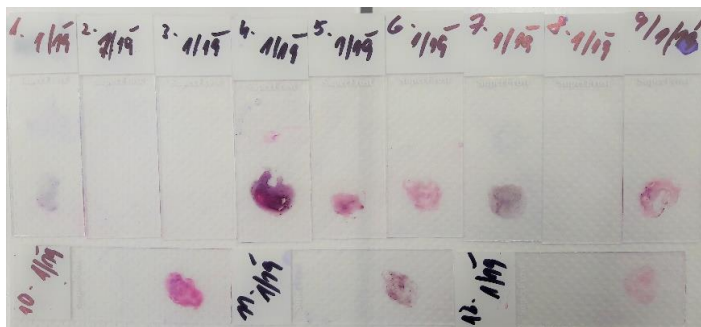
Pomůcky: podložní sklíčka, bakteriologické kličky, kahan, ochranné pomůcky

Chemikálie: destilovaná voda, chemikálie pro Gramovo barvení (krystalová violet, Lugolův roztok, aceton, karbol-fuchsin)

Pracovní postup:

Kolonie patogena se suspenzovala v kapce vody na podložním sklíčku. Preparát se poté zafixoval plamenem. Sklíčko se ve vodorovné poloze pokrylo roztokem krystalové violeti po dobu 1 minuty. Následně se do krystalové violeti nalil na 1 minutu Lugolův roztok. Barvivo se poté opláchlo acetonem. Preparát se dobarvil karbol-fuchsinem a na závěr

opláchl vodou. Ukázkou nabarvených kolonií dle Grama na podložních sklíčkách znázorňuje obrázek č. 3.



Obrázek č. 3 - Sběr 1/2019 (zdroj: Schneiderová, 2019)

Takto zpracované fixní preparáty rozdělily bakterie na gram-pozitivní a gram-negativní a posloužily jako další krok k následné identifikaci zkoumaných bakterií pomocí mikroskopu v druhé fázi *kvalitativního rozboru* kolonií.

3/ mikroskopický průkaz

Obarvené fixní preparáty byly zkoumány mikroskopicky pod imerzním objektivem. Bakterie byly rozříděny na gram-pozitivní a gram-negativní a zároveň řazeny do skupin dle tvaru buňky (koky, kokobacily, tyčky). Také bylo zaznamenáno, zda se bakterie v preparátu vyskytují samostatně nebo ve dvojicích, tetradách, zda tvoří řetězky nebo se shlukují do hroznovitých kolonií. Všechny tyto údaje jsou charakteristické pro určité bakterie a poskytly další indicie k identifikaci hledaných patogenů.

Přístroj: mikroskop Nikon Eclipse E100

Chemikálie: imerzní olej

Pracovní postup:

Před započítím práce je nutné zkontrolovat komplexnost mikroskopu a poté ho zapnout. Fixní preparát se prohlédne pouhým okem ke zjištění polohy, velikosti nebo obarvení objektu (hledá se v obarvené části preparátu). Na podložní sklíčko se kápne imerzní olej a umístí se na stolek pod pérovou sponku a do dráhy světelného paprsku. Při nastavování

objektu v mikroskopu je třeba se dívat do mikroskopu, současně pomocí křížového vodiče pohybovat preparátem na stolku makroposuvem a najít správnou pracovní vzdálenost. Jakmile se v mikroskopu objeví objekt, provede se doostření pomocí mikroposuvu. Také se seřídí osvětlení pomocí regulátoru osvětlení. K systematickému prohlížení preparátu slouží meandrovitý způsob. Vyhledání objektu probíhá nejdříve pod málo zvětšujícím objektivem (10x). Objektivy 40x a 100x nejsou určeny na vyhledávání, ale na detailní prohlížení objektu nalezeného při menším zvětšení. Před vyndáním preparátu z mikroskopu je doporučeno vrátit se k nejméně zvětšujícímu objektivu, takto lze podložní sklíčka bezpečněji vyndat. Před ukončením práce na mikroskopu je velice důležité důkladně očistit objektiv od imerzního oleje alkoholem. Poté lze mikroskop vypnout (Bártová et al., 2014).

Pokud zkoumané bakterie splňovaly charakteristické znaky hledaných patogenů (barva kolonií, gram-pozitivita/gram-negativita, tvar buňky...), bylo přistoupeno k třetí fázi, a to k potvrzení druhu bakterie na bázi biochemického testování.

4/ biochemické testy

Při následném testování vybraných druhů bakterií byly použity níže uvedené druhy biochemických testů.

Pomůcky: podložní sklíčka, bakteriologické kličky, pipeta, ochranné pomůcky

Chemikálie: 3 % peroxid vodíku, chemikálie z komerčně vyráběných diagnostických souprav dle typu biochemického testu

Pracovní postup:

Test katalázy: Několik kapek 3 % peroxidu vodíku se kápne přímo na kolonii (na krevním agaru nebo inokulovanou na sklíčku), produkce bublin indikuje vznik kyslíku u kataláza pozitivních bakterií.

Test průkazu clumping faktoru: Základem je prokázání vázané plazmakoagulázy. Kolonie patogena se smíchá na skličku s králičí plazmou. Pozitivita testu je prokázána vznikem koagula (ITEST plus, 2018).

Test rozpustnost ve žluči: 1 kapka roztoku deoxycholátu sodného se kápne na kolonii patogena na krevním agaru a inkubuje se 30 minut při laboratorní teplotě. Při pozitivitě dojde k rozpuštění kolonií uprostřed zóny viridace (ITEST plus, 2018).

PYR test: Na navlhčený disk na proužku se nanese kolonie testované bakterie a rozetře se. Disk se inkubuje 1-2 minuty při laboratorní teplotě. Poté se na disk aplikuje 1 kapka barevné vývojky, při pozitivitě vznikne během minuty barevná změna (růžová, červená nebo fialovočervená) (ITEST plus, 2018).

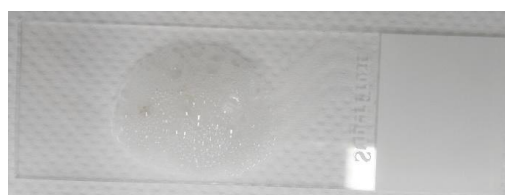
Test oxidázy: Část kolonie se aplikuje ve formě čáry na mírně navlhčený testovací proužek, který při pozitivitě zmodrá až zčerná (to indikuje aktivitu cytochrom oxidázy). Barevná reakce se odečítá za 1 minutu. Při negativní reakci zůstane místo na proužku nezbarveno (ITEST plus, 2018).

Optochinový test: Na krevní agar s kolonií se položí disk s optochinem. Bakterie na něj citlivá v jeho okolí neroste (ITEST plus, 2018).

Pozitivní identifikace *Staphylococcus aureus* je doložena použitými biochemickými testy: oxidáza negativní (obr. č. 4) a kataláza pozitivní (obr. č. 5).

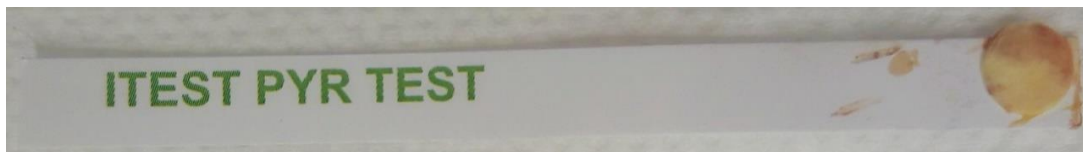


Obrázek č. 4 - Test oxidáza negativní (zdroj: Schneiderová, 2018)



Obrázek č. 5 - Test kataláza pozitivní (zdroj: Schneiderová, 2018)

Pozitivní identifikace *Streptococcus pyogenes* je doložena použitými biochemickými testy: PYR test pozitivní (obr. č. 6), oxidáza negativní a kataláza negativní (obr. č. 7).



Obrázek č. 6 - PYR test pozitivní (zdroj: Schneiderová, 2018)



Obrázek č. 7 - Test kataláza negativní (zdroj: Schneiderová, 2018)

Pozitivní identifikace patogenů *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pyogenes* je podložena také typickým tvarem a barvou kolonií narostlých na krevním agaru, přítomností β -hemolýzy v okolí kolonie a při mikroskopování byly bakterie určeny dle jejich specifického tvaru a barvitelnosti dle Grama.

Naočkované Petriho misky a ostatní použité pomůcky byly zlikvidovány dle provozního řádu laboratoře.

4.3 Postanalytická fáze

V postanalytické fázi byla zpracována zaznamenaná data z každého sběru, který probíhal 1x měsíčně v období 5/2018-2/2019 a to ve formě tabulek a grafů v programu Microsoft Excel 2016.

5 Výsledky

Statistické zpracování dat

Měření teploty a vlhkosti vzduchu vnitřního prostředí: V době sběru byla v 8,00 hodin změřena teplota (°C) a vlhkost (%) vzduchu v ordině z důvodu možného vztahu na výši mikrobiálního znečištění vnitřního ovzduší, a to certifikovaným teploměrem s vlhkoměrem firmy Meros.

Počet pacientů: Po dobu expozice Petriho misky (8,00-12,00 hodin) byl zaznamenán i počet pacientů z důvodu možného vztahu na výši mikrobiálního znečištění vnitřního ovzduší.

Počet CFU/miska: Po kultivaci byly spočítány narostlé kolonie na krevním agaru v Petriho misce.

Počet CFU/m³ ovzduší vnitřního prostředí: Tento údaj se používá pro určení výše mikrobiální kontaminace vnitřního ovzduší. Pro výpočet počtu CFU/m³ ovzduší vnitřního prostředí byl použit polský standard PN 89/Z-04008/08 a to dle vzorce:

$$\text{CFU/m}^3 \text{ vzduchu} = a \cdot 10000 / p \cdot t \cdot 0.2$$

kde:

a = počet kolonií na Petriho misce

p = plocha v cm² Petriho misky (pro rozměr o průměru 9 cm, $S = 3,14 \cdot r^2 = 63,5 \text{ cm}^2$)

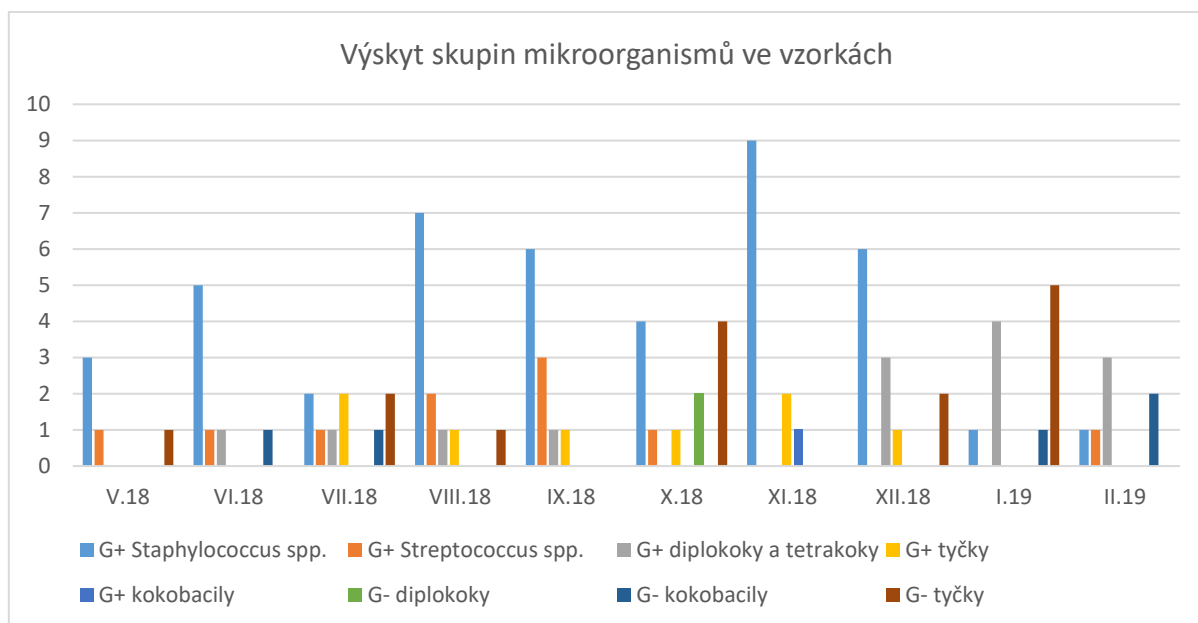
t = doba expozice Petriho misky (min) (Puchianu et al., 2016).

V průběhu deseti pozorování mikrobiálního znečištění ovzduší vnitřního prostředí byly zjištěny údaje o teplotě a vlhkosti vzduchu, počtu CFU/misku a CFU/ m³ a informace o počtu pacientů v období 8,00-12,00 hodin. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce č. 1 (viz Seznam příloh). Teplota za sledované období se pohybovala v rozmezí 22–24 °C (průměrná hodnota 22,3 °C), vlhkost v rozmezí 59-85 % (průměr 72,1 %), počet CFU/misku v rozmezí 41-84 kolonií (průměrně 57,2) a počet CFU/m³ v rozmezí 127,9-

275,6 (průměrně 187,7). Ve sledovaném období byl počet pacientů v rozmezí 73-125 (průměr 96).

Výskyt mikroorganismů ve vzorkách je uveden v tabulce č. 2 (viz Seznam příloh), kde je přehled všech druhů identifikovaných mikroorganismů. Průměrný počet mikroorganismů ve vzorkách byl za sledované období 9,9. V každém vzorku byl přítomen G+ *Staphylococcus spp.* a naopak v žádném nebyly přítomny G+ diplokoky s viridací. V prvních třech a v posledním pozorování byl výrazně menší počet vzorků mikroorganismů než u těch zbylých šesti, kde počet vzorků dosahoval až 12. Co do množství jednoho typu mikroorganismu ve vzorku, tak přehled podílů jednotlivých typů mikroorganismů je v tabulce č. 3 (viz Seznam příloh). Převažující podíly má většinou G+ *Staphylococcus spp.* a G+ *Staphylococcus spp.* s β -hemolýzou, u nichž podíl dosahuje až 60 %, následují je G- tyčky a G+ diplokoky, u kterých podíl ve vzorku dosahuje až 38 %.

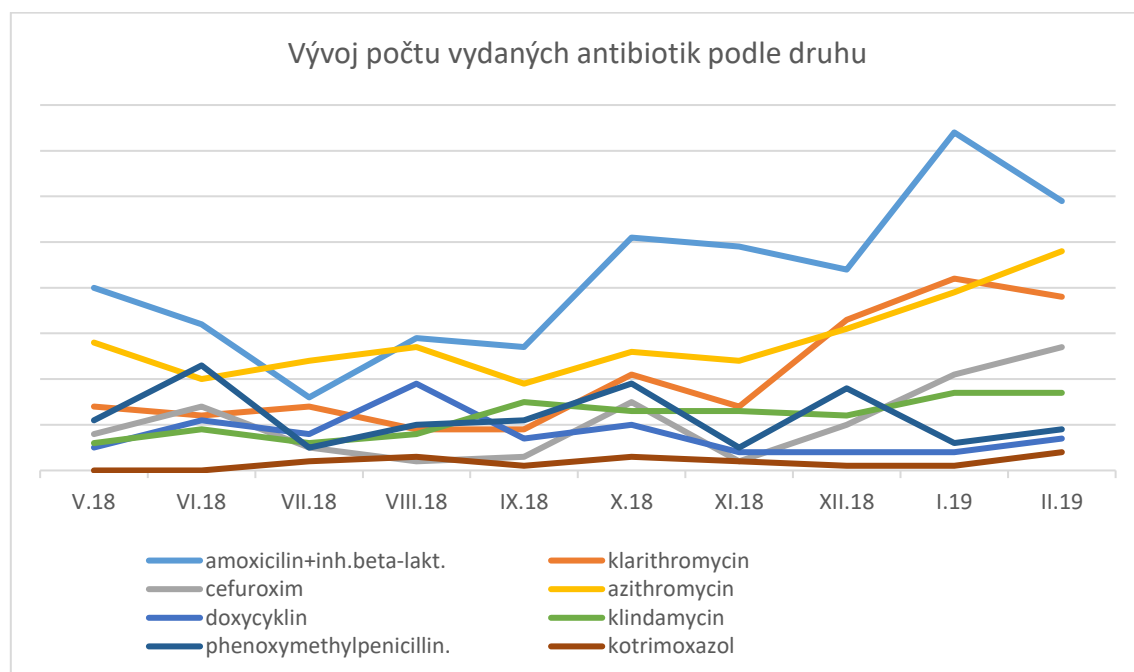
Při vytvoření skupin mikroorganismů, jak je uvedeno v tabulce č. 4 (viz Seznam příloh), tak ve všech vzorkách se objevoval typ G+ *Staphylococcus spp.* a pak téměř ve všech G+ *Streptococcus spp.* a G+ diplokoky a tetrakoky. Často se také vyskytovaly G- tyčky i G+ tyčky. Přehled je vidět v následujícím grafu (obr. č. 8).



Obrázek č. 8 – Výskyt skupin mikroorganismů ve vzorkách (zdroj: Schneiderová, 2019)

Počet vydaných antibiotik na lékařský předpis: Každý měsíc byl zjištěn celkový výdej antibiotik ve formě tablet k vnitřnímu užití, které obsahují následující účinné látky: amoxicilin + inhibitory beta-laktamáz, klarithromycin, cefuroxim, azithromycin, doxycyklin, klindamycin, phenoxymethylpenicillinum a kombinace sulfamethoxazolu a trimetoprimu (kotrimoxazol). Tyto účinné látky byly vybrány z důvodu časté preskripce lékaři určené k léčbě bakteriálních infekcí HCD a DCD (z důvodu dodržení obchodního tajemství jsou všechny číselné údaje týkající se počtu vydaných antibiotik ve sledovaném období dostupné v archivu autorky).

Vývoj počtu vydaných antibiotik na lékařský předpis podle druhu je znázorněn v následujícím grafu (obr. č. 9). Nejvíce se vydávají antibiotika druhu amoxicilin + inhibitory beta-laktamáz, jejichž počet stále roste. Následuje druh azithromycin a klarithromycin, u nichž také počet neustále roste. Naopak druh doxycyklin a kotrimoxazol se stále drží na nejnižších hodnotách v počtu vydaných antibiotik.



Obrázek č. 9 – Vývoj počtu vydaných antibiotik (zdroj: Schneiderová, 2019)

Protože vzorků pozorování je pouhých 10, je třeba pro ověřování statisticky významných rozdílů využít neparametrické testy. V analýzách této práce bylo nutné použít tyto neparametrické testy:

1/ Spearmanův koeficient pořadové korelace

Tento korelační koeficient měří závislost pořadí znaků dané proměnné i její intenzitu. Využívá se pro měření korelace dvou kvantitativních proměnných vyžadující neparametrické testování. Dosahuje hodnot mezi $\langle -1;1 \rangle$, kde krajní hodnoty značí absolutní závislost. Znaménko pak udává směr korelace, plus pro přímou, mínus pro nepřímou závislost. Nižší hodnoty znamenají slabou až středně silnou závislost. Statistickou významnost korelačního koeficientu, tedy i sledované závislosti lze sledovat pomocí testu a jeho příslušné hodnoty signifikance, tzv. P-hodnoty. Pokud je P-hodnota nižší než zvolená hladina významnosti, kterou obvykle volíme jako 5 %, tak je závislost měřená koeficientem považována za statisticky významnou. Hodnota koeficientu pak udává sílu této závislosti (Hebák, 2013).

2/ Mann – Whitney test pro dva nezávislé výběry

Tento test porovnává mediány, resp. celé rozdělení proměnných a funguje na základě vzestupného uspořádání všech zjištěných hodnot dle velikosti. Testovým kritériem U je počet všech případů, kdy v posloupnosti všech pozorování hodnotám jednoho výběru předcházejí hodnoty výběru druhého. Hypotéza se ověřuje porovnáním výsledné P-hodnoty s hladinou významnosti, která je volena obvykle $\alpha = 5 \%$. Pokud je P-hodnota vyšší než 5 %, testovanou hypotézu o shodné úrovni ve skupinách nelze zamítnout. V opačném případě se zamítá a prokázala se tak závislost úrovně na sledovaném faktoru (Pecáková, 2011).

Testování hypotéz

V této práci jsou stanovené tři hypotézy, které je nutné otestovat a potvrdit, či vyvrátit na základě příslušných statistických testů, v případě této práce neparametrických. Pro ověření prvních dvou hypotéz bude využit Spearmanův korelační koeficient a pro třetí bude použit Mann – Whitney test.

Hypotéza 1: Předpokládám, že počet CFU/miska závisí přímo úměrně na vlhkosti vzduchu vnitřního prostředí ve sledovaném období.

Spearmanův koeficient pořadové korelace vyšel 0,383, což by značilo slabou pozitivní závislost sledovaných veličin, avšak tato hodnota není statisticky významná. Na základě testu a jeho příslušné P-hodnoty, která vyšla 0,275 a je větší než 5 %, se zamítla statistická významnost hodnoty koeficientu. Korelace mezi veličinami vlhkost a CFU/miska není statisticky významná a neprokázala se tak sledovaná hypotéza, že by počet CFU/miska závisel přímo úměrně na vlhkosti vzduchu vnitřního prostředí ve sledovaném období.

Hypotéza 2: Předpokládám, že počet CFU/miska závisí přímo úměrně na počtu pacientů v lékárně ve sledovaném období.

Spearmanův koeficient pořadové korelace vyšel -0,079, což by téměř značilo nezávislost sledovaných veličin, a navíc tato hodnota není statisticky významná. Na základě testu a jeho příslušné P-hodnoty, která vyšla 0,829 a je větší než 5 %, se zamítla statistická významnost hodnoty koeficientu. Případná korelace mezi veličinami CFU/miska a počet pacientů v lékárně není statisticky významná a neprokázala se tak sledovaná hypotéza, že by počet CFU/miska závisel přímo úměrně na počtu pacientů v lékárně ve sledovaném období.

Hypotéza 3: Předpokládám vzestup respiračních nákaz v období epidemiologicky příhodném (podzim, zima, jaro) oproti období klidu (léto) na základě počtu vydaných antibiotik ve sledovaném období.

Výskyt respiračních nákaz je v tomto případě měřen na základě počtu vydaných antibiotik, jejichž počet ve sledovaném období od konce jara do začátku zimy neustále

rostl. Počet vydaných antibiotik je podle deseti pozorování v epidemiologicky příhodném období (podzim, zima, jaro) o polovinu vyšší, než je v období klidu (léto). Na základě neparametrického statistického Mann – Whitney testu však tento rozdíl nevyšel statisticky významný. Přesná P-hodnota testu vyšla 0,183, což je více než 5 %, takže nelze zamítnout hypotézu o shodné úrovni ve skupinách. Počet vydaných antibiotik, potažmo výskyt respiračních nákaz, nezávisí na typu období. Neprospěla se tak sledovaná hypotéza, že by byl vzestup respiračních nákaz v období epidemiologicky příhodném (podzim, zima, jaro) oproti období klidu (léto) na základě počtu vydaných antibiotik ve sledovaném období.

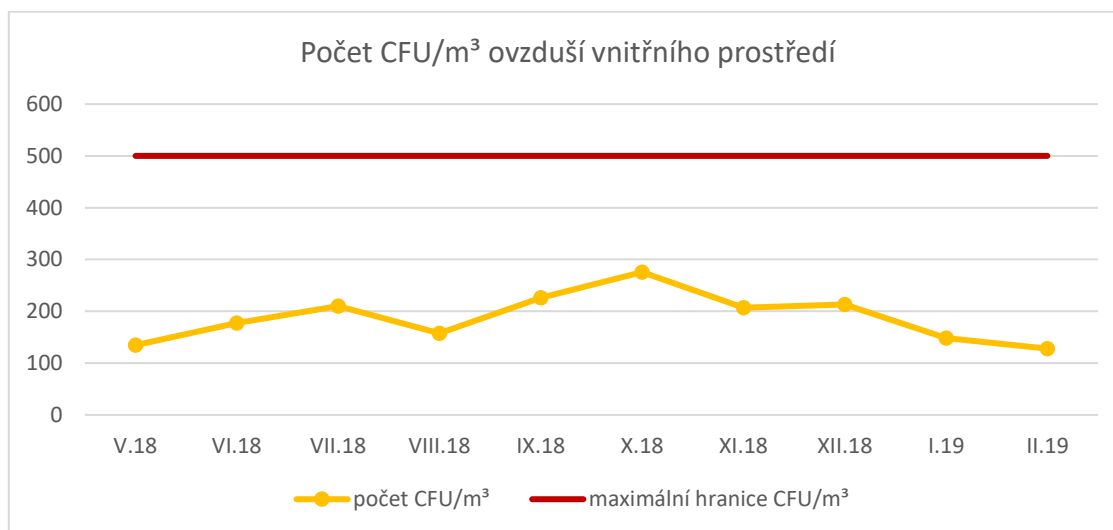
6 Diskuze

Většina studií o mikrobiálním znečištění ovzduší vnitřního prostředí ve zdravotnických zařízeních byla prováděna v místnostech nebo na odděleních, kde je riziko infekce největší. Tato výzkumná práce se zabývala mikrobiální kontaminací vnitřního ovzduší lékárny patogeny přenášenými vzduchem, které jsou původci respiračních onemocnění.

Jak tvrdí Verde et al. (2015), špatná kvalita vnitřního ovzduší ve zdravotnickém zařízení může být příčinou šíření nozokomiálních infekcí a také rizikovým faktorem pro zaměstnance, kteří mohou takto získanou infekci přenášet dále na pacienty. Proto je důležité pravidelně provádět kontrolu mikrobiálního znečištění ovzduší a zavést účinná opatření na snížení patogenů ve vzduchu.

Podle Klánové (2002) je vyšetřování koncentrací bakterií v ovzduší významné nejen v souvislosti s výskytem nemocí, ale i jako vyšetření preventivní. Toto má nezastupitelný význam pro sledování kvality ovzduší vnitřního prostředí u prostor, u kterých je nutno dodržovat nízkou úroveň bakteriálního znečištění.

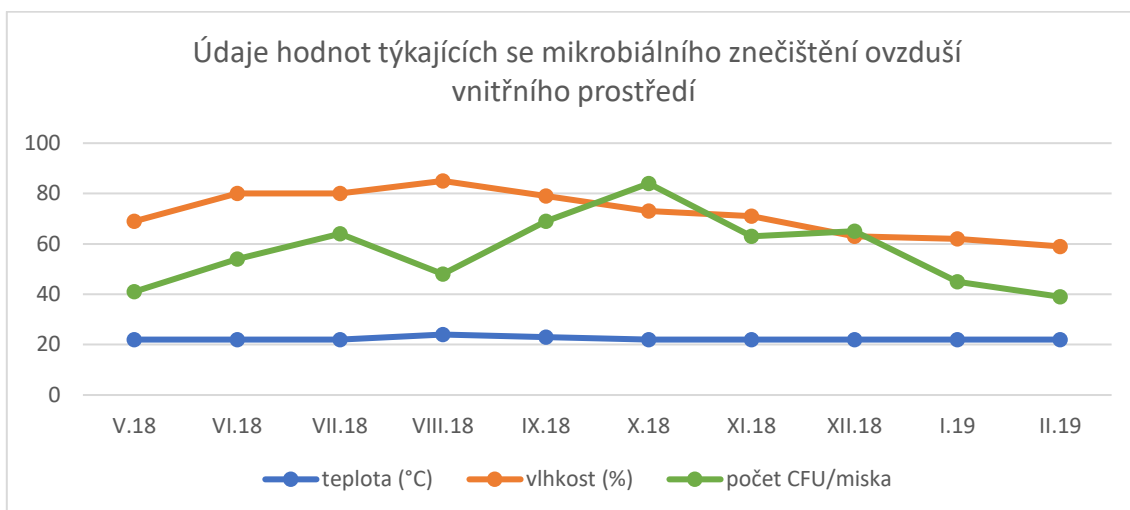
Dle Vyhlášky č. 6/2003 Sb., která stanovuje hygienické limity biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností ve zdravotnickém zařízení, se požadavky pokládají za splněné, nepřekročili-li koncentrace bakterií 500 CFU/m³ ovzduší ve vnitřním prostředí. Z výsledků měření ve sledovaném období je patrné, že tento limit překročen nebyl. Této hranice nebylo dosaženo ani v jednom z deseti pozorování, které bylo nejprve rostoucí a pak klesající, jak je vyznačeno v grafu (obr. č. 10).



Obrázek č. 10 – Počet CFU/m³ ovzduší vnitřního prostředí (zdroj: Schneiderová, 2019)

Vypočtené údaje o mikrobiální koncentraci byly vždy v mezích krajních hodnot definovaných pro toto prostředí, pohybovaly se v rozpětí od 127,9 do 275,6 CFU/m³. Jak je patrné z grafu (obr. č. 10), výsledky měření CFU/m³ ovzduší vnitřního prostředí dosahují vyšších hodnot v měsících letních (červenec) a podzimních (říjen), nižší hodnoty byly naměřeny v zimních měsících (únor). Sezóna může být faktorem, který je významně spojen se vzdušnými hladinami mikroorganismů (Park et al., 2013). Augustowska a Dutkiewicz (2006) ve své studii zaznamenali, že se měsíční koncentrace vzdušných bakterií pohybovaly v rozmezí od 257,1 do 436,3 CFU/m³ s vrcholem hodnoty v podzimních měsících. Nejnižší hodnoty byly od prosince do února. Ve své práci Di Giulio et al. (2010) vykazuje sezónní kolísání vzdušné mikroflóry se zvýšením mikrobiální koncentrace v teplejší sezóně (léto) a v chladnějším období (podzim). Tím pádem lze konstatovat, že se výsledky měření v bakalářské práci a výše uvedených autorů shodují.

Na základě pozorování údajů o teplotě a vlhkosti ovzduší vnitřního prostředí, které jsou znázorněny v grafu níže (obr. č. 11), je zřejmé, že hodnoty teploty jsou víceméně vyrovnané a hodnoty vlhkosti postupně klesají. Zdá se, že teplota a vlhkost spolu lehce pozitivně korelují. Podle údajů o počtu CFU/misků lze usuzovat, že tento údaj nejprve rostl a poté začal klesat, takže i tento údaj lehce pozitivně koreluje s vlhkostí vzduchu. Tyto tři veličiny mají tedy zdánlivě mezi sebou určitou mírnou pozitivní závislost.

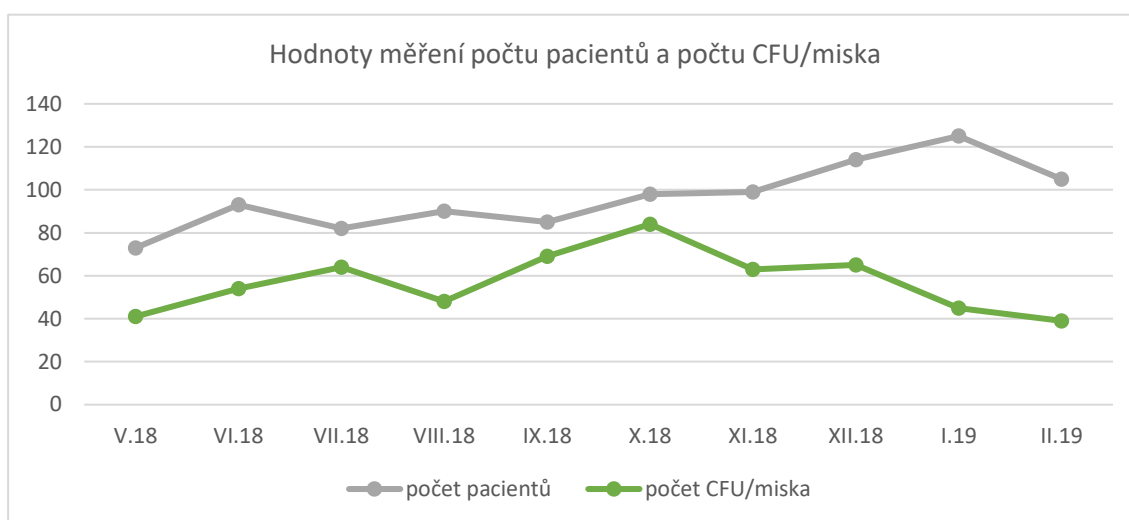


Obrázek č. 11 – Údaje hodnot týkajících se mikrobiálního znečištění ovzduší vnitřního prostředí (zdroj: Schneiderová, 2019)

Tyto údaje se shodují s Tangem (2009), který tvrdí, že na přežití vzdušných patogenů ve vzduchu, tím i na úspěšný přenos infekcí způsobených těmito bakteriemi, má určitý vliv i teplota a vlhkost vzduchu ve vnitřním prostředí.

Dle doporučení Di Giulia et al. (2010) lze při každém odběru vzorku zaznamenat i počet osob v místnosti s cílem vyhodnotit možný vztah k mikrobiálnímu znečištění.

Podle grafického znázornění počtu pacientů v následujícím grafu (obr. č. 12), jejichž počet neustále roste, a pozorování o počtu CFU/misku, jehož hodnoty nejprve rostly a pak klesaly, se jeví, že tyto dvě veličiny nemají vzájemnou výraznou korelaci.

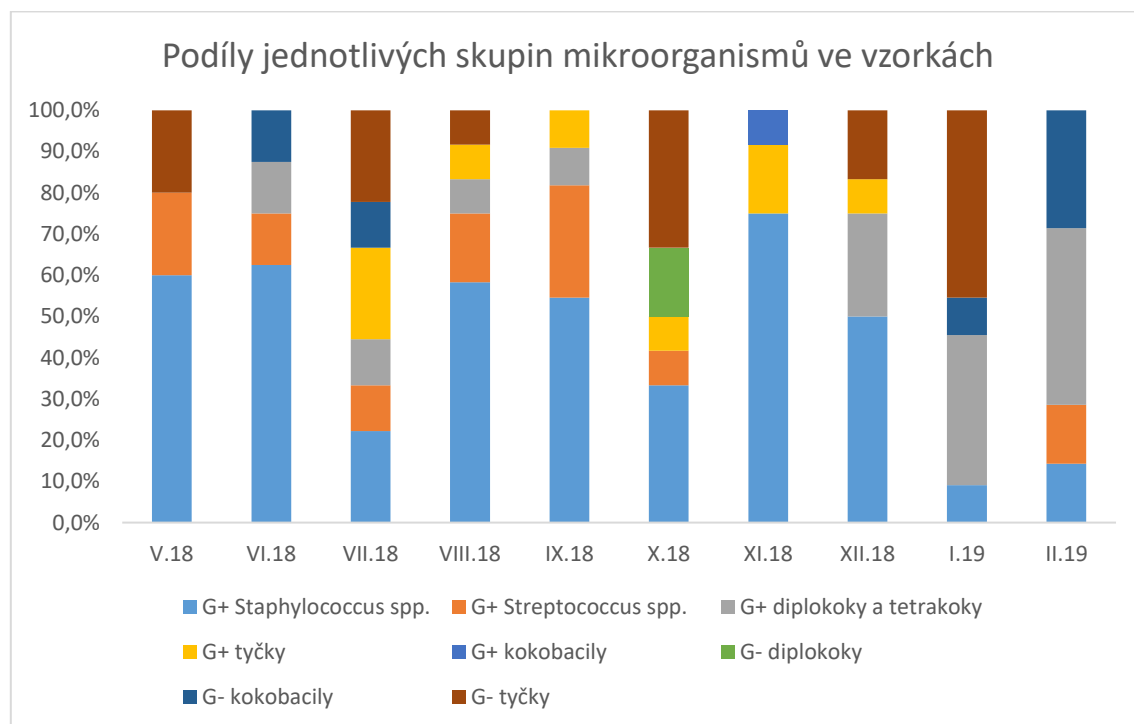


Obrázek č. 12 - Hodnoty měření počtu pacientů a počtu CFU/miska (zdroj: Schneiderová, 2019)

Co do množství jednoho typu mikroorganismu ve vzorku převažující podíly mají většinou G+ *Staphylococcus spp.* a G+ *Staphylococcus spp.* s β -hemolýzou, u nichž podíl dosahuje až 60 %, následují je G- tyčky a G+ diplokoky, u kterých podíl ve vzorku dosahuje až 38 % (viz tabulka č. 3 v Seznamu příloh). Sarica et al. (2002) identifikoval G+ *Staphylococcus spp.* jako nejčastější druh ve všech zkoumaných měsících. V tom se shodují i výsledky této práce, kdy v každém vzorku byl přítomen G+ *Staphylococcus spp.* Také práce Di Giulia et al. (2010) uvádí jako nejběžnější mikroorganismy zjištěné v ovzduší vnitřního prostředí gram-pozitivní bakterie patřící k G+ *Staphylococcus spp.*

Verde et al. (2015) řadí ve své studii skupinu G+ *Staphylococcus spp.* k dominantním bakteriálním rodům (51 %), detekoval ve vzduchu G+ koky v 88 % z naměřené bakteriální populace ve vnitřním prostředí. I výzkumná práce Augustowské a Dutkiewicz (2006) došla k podobným výsledkům. Dále také uvádí, že nejběžnějšími bakteriemi ve vyšetřovaném vzduchu byly G+ koky (31,4 - 46,4 %) a dále gram-negativní bakterie (11,8 – 27,5 %) z celkového počtu. Tato zjištění pozitivně korelují s naměřenými hodnotami v této práci, kdy z přehledu podílů jednotlivých skupin mikroorganismů z tabulky č. 5 (viz Seznam příloh) a grafu (obr. č. 9) je patrné, že vůbec největších podílů dosahuje skupina G+ *Staphylococcus spp.*, která často tvoří více než polovinu

mikroorganismů ve vzorku, a někde dokonce až 75 %, poté následují G- tyčky, jejichž podíl tvoří až 46 % a dále G+ diplokoky a tetrakoky s podílem dosahujícím až 43 %.



Obrázek č. 9 – Podíly jednotlivých skupin mikroorganismů ve vzorkách (zdroj: Schneiderová, 2019)

Bakalářská práce byla také zaměřena na potvrzení výskytu patogenních původců respiračních nákaz přenášených vzdušnou cestou ve zdravotnickém zařízení (lékárně). Z hledaných patogenů *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella parapertussis*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* a *Klebsiella pneumoniae* byl pozitivně potvrzen výskyt pouze *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pyogenes*. Hayleeyesus a Manaye (2014) taktéž ve svém výzkumu mikrobiologické kvality vnitřního ovzduší potvrzují pozitivní nález *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pyogenes*, dále pak přítomnost bakterií rodu *Micrococcus* a *Bacillus*. Nepřítomnost *Corynebacterium diphtheriae* a *Haemophilus influenzae* je možno zdůvodnit i faktem, že proti těmto patogenům je v České republice prováděno povinné očkování platné dle Vyhlášky č. 537/2006 Sb., proti *Streptococcus pneumoniae* probíhá nepovinné očkování.

7 Závěr

Cílem bakalářské práce bylo zjistit výši mikrobiálního znečištění ovzduší vnitřního prostředí a vyhodnotit případný negativní vliv bakteriální kontaminace na zdraví pacientů přítomných v lékárně. Při interpretaci výsledků byl posuzován také vliv teploty a vlhkosti vnitřního prostředí na výši mikrobiálního znečištění vnitřního ovzduší. Byl zaznamenán i počet osob v místnosti s cílem vyhodnotit možný vztah k výši mikrobiálního znečištění. Naměřené hodnoty dokázaly, že teplota, vlhkost a počet CFU/miska mají mezi sebou určitou mírnou pozitivní závislost. Naopak porovnáním údajů o počtu pacientů a počtu CFU/misku se jeví, že tyto dvě veličiny nemají vzájemnou výraznou korelaci.

Výsledky výpočtu CFU/m³ ovzduší vnitřního prostředí nepřekročily mezní hranici 500 CFU/m³ danou Vyhláškou č. 6/2003 Sb., která stanovuje hygienické limity biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností ve zdravotnickém zařízení. Co se týče zastoupení jednotlivých skupin identifikovaných mikroorganismů, vůbec největších podílů dosahuje skupina G+ *Staphylococcus spp.*, která často tvoří více než polovinu mikroorganismů ve vzorku, někde dokonce až 75 %, poté následují G- tyčky, jejichž podíl tvoří až 46 % a dále G+ diplokoky a tetrakoky s podílem dosahujícím až 43 %. Z hledaných patogenů byl potvrzen výskyt *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pyogenes*.

Statistické testování hypotéz prokázalo, že:

1/ korelace mezi veličinami vlhkost a CFU/miska není statisticky významná a neprokázala se tak sledovaná hypotéza, že by počet CFU/miska závisel přímo úměrně na vlhkosti vzduchu vnitřního prostředí ve sledovaném období,

2/ případná korelace mezi veličinami CFU/miska a počet pacientů v lékárně není statisticky významná a neprokázala se tak sledovaná hypotéza, že by počet CFU/miska závisel přímo úměrně na počtu pacientů v lékárně ve sledovaném období,

3/ se neprokázala sledovaná hypotéza, že by byl vzestup respiračních nákaz v období epidemiologicky příhodném (podzim, zima, jaro) oproti období klidu (léto) na základě počtu vydaných antibiotik ve sledovaném období.

Výsledky bakalářské práce nepotvrdily překročení mikrobiálního znečištění ovzduší v lékárně ani významný výskyt původců bakteriálních respiračních nákaz. Lze tedy považovat vnitřní ovzduší v lékárně z hlediska možnosti bakteriální nákazy, zejména pro pacienty s poruchou imunity nebo oslabené jiným primárním onemocněním, za málo rizikové.

8 Seznam literatury

1. AUGUSTOWSKA, M., DUTKIEWICZ, J., 2006. Variability of Airborne Microflora in a Hospital Ward within a Period of One Year [online]. *AAEM*, 13(1), [cit. 2019-1-21], 99-106. ISSN 1232-1966. Dostupné z https://www.researchgate.net/profile/Jacek_Dutkiewicz2/publication/6943595_Variability_of_airborne_mikroflora_in_a_hospital_ward_within_a_period_of_one_year/links/5447fbdb0cf22b3c14e30599/Variability-of-airborne-mikroflora-in-a-hospital-ward-within-a-period-of-one-year.pdf
2. BÁRTOVÁ, E., HALOVÁ, D., PAPOUŠEK, I., 2014. *Biologie a genetika pro bakaláře* [online]. VFU Brno, FVHE, Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, [cit. 2018-11-3]. Dostupné z https://cit.vfu.cz/opvk2014/?title=teorie-mikroskopicka_technika&lang=cz
3. BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J., 1996. *Lékařská mikrobiologie – bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil. 558 s. ISBN 80-238-0297-6.
4. BEVERIDGE, TJ, 2009. Use of the Gram Stain in Microbiology [online]. *Biotechnic&Histochemistry*. 76(3), [cit. 2018-7-23], 111-118, doi: [org/10.1080/bih.76.3.111.118](https://doi.org/10.1080/bih.76.3.111.118). Dostupné z <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/bih.76.3.111.118>
5. BUENSALIDO, J. A. L., 2018. *Haemophilus Influenzae Infections* [online]. Medscape [cit. 2018-10-28]. Dostupné z <https://emedicine.medscape.com/article/218271-overview>
6. DI GIULIO, M., GRANDE, R., DI CAMPLI, E., DI BARTOLOMEO, S., CELLINI, L., 2010. Indoor Air Quality in University Environments [online]. *Environmental Monitoring and Assessment*. 170(1-4), [cit. 2018-8-17], 509-517, doi: [10.1007/s10661-009-1252-7](https://doi.org/10.1007/s10661-009-1252-7). Dostupné z <https://link.springer.com/article/10.1007/s10661-009-1252-7>
7. EAMES, I., TANG, J. W., LI, Y., WILSON, P., 2009. Airborne Transmission of Disease in Hospitals [online]. *Interface*. 6, [cit. 2018-6-28], 697-702, doi: [10.1098/rsif.2009.0407.focus](https://doi.org/10.1098/rsif.2009.0407.focus). Dostupné z <http://www.rsif.royalsocietypublishing.org/content/early/2009/10/13/rsif.2009.0407.focus.short>

8. HAMPLOVÁ, L., GÖPFERTO VÁ, D., PAZDIORA, P., DOHNAL, K., JANOVSKÁ, D., 2015. *Mikrobiologie, Imunologie, Epidemiologie, Hygiene pro bakalářské studium a všechny typy zdravotnických škol*. Praha: Triton. 263 s. ISBN 978-80-7387-934-1.
9. HAYLEYESUS, S. F., MANAYE, A. M., 2014. Microbiological Quality of Indoor Air in University Libraries [online]. *Asian Pac J Trop Biomed*, 4(1), [cit. 2019-2-15], 312-317, doi: 10.12980/APJTB.4.2014C807. Dostupné z <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2518310>
10. HEBÁK, P., 2013. *Statistické myšlení a nástroje analýzy dat*. Praha: Informatorium. 877 s. ISBN 978-80-7333-105-4.
11. HORAŽDOVSKÝ, J., CHMELÍK, V., POTUŽNÍK, V., SVOBODOVÁ, M., ŠNOREK, V., VELEMÍNSKÝ, M., 2001. *Přenosné choroby*. České Budějovice: Jihočeská univerzita. 98 s. ISBN 80-7040-496-5.
12. ITEST plus, s.r.o, 2018 [online]. *Diagnostické prostředky: Itest Stafy-koaguláza, Itest PYR test, Itest Optochin, Itest Oxidáza, Itest Deoxycholát sodný – příbalový leták*, [cit. 2018-11-3]. Dostupné z <https://itest-plus.cz/home.html>
13. JABLONICKÝ, P., 2003. Pohled na problematiku zánětů horních cest dýchacích [online]. *Interní medicína pro praxi*. 12, [cit. 2018-7-2], 592-596. Dostupné z <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2003/12/04.pdf>
14. JANDOVÁ, B., KOTOUČKOVÁ, L., 1996. *Praktikum z mikrobiologie* [online]. Brno: Masarykova univerzita. 67 s. [cit. 2018-11-2]. ISBN 80-210-1374-5. Dostupné z <http://www.sci.muni.cz/mik/wp-content/uploads/mikrobiologiecv.pdf>
15. KLÁNOVÁ, K., 2002. Standardní operační postupy pro vyšetřování mikroorganismů v ovzduší a pro hodnocení mikrobiologického znečištění ovzduší ve vnitřním prostředí [online]. *Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica*. 2002(1), [cit. 2018-8-19], 21 s. ISSN 0862-5956. Dostupné z http://www.szu.cz/uploads/documents/knihovna_SVI/pdf/2002/full_2002_01.pdf
16. KONEMAN, E. W., 2006. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* [online]. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins. [cit. 2018-7-25]. 1535 p. ISBN 978-0781730143. Dostupné z <https://www.books.google.cz/books?id=4gWwsEiMwu8C&printsec=frontcover&dq=koneman+microbiology&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwiWkvOrr7rcAhXLZlAKHY4IAAkQ6AEIJzAA#v=onepage&q=koneman%20microbiology&f=false>

17. KOPECKÁ, J., ROTKOVÁ, G., 2017. *Skripta ke cvičení z obecné mikrobiologie, cytologie a morfologie bakterií* [online]. Brno: Masarykova univerzita [cit. 2018-11-3], ISBN 978-80-210-8787-3. Dostupné z https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/js17/cviceni_mikrobiologie/web/pages/kultivace_mikroorganizmu.html
18. KRAMÁŘ, R., 2007. *Lékařská mikrobiologie*. České Budějovice: Jihočeská univerzita. 72 s. ISBN 978-80-7394-021-8.
19. LAKHVA, D. M., ERESCHENKO, O. A., STRILETS, O. P., STRELNIKOV, L. S., 2013. *Modern Aspects of Microbial Resistance to Antibiotic Therapy* [online]. National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine. [cit. 2018-7-26]. Dostupné z <http://www.dspace.nuph.edu.ua/bitstream/123456789/3618/1/Actual%20questions%202013%20132.pdf>
20. MACLEAN, M., MACGREGOR, S. J., ANDERSON, J. G., WOOLSEY, G., 2009. Inactivation of Bacterial Pathogens Following Exposure to Light from a 405 - Nanometer Light-Emitting Diode Array [online]. *Appl. Environ. Microbiol.* 75(7), [cit. 2018-7-24], 1932-1937, doi: 10.1128/AEM.01892-08. Dostupné z <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19201962>
21. MIKUCKA, A., JANICKA, G., KRAWIECKA, D., KOCHANOWSKA, J., 2000. Antibiotic-sensitivity of *Moraxella catarrhalis* Isolated from Clinical Materials in 1997-1998 [online]. *Med Sci Monit.*,6(2), [cit. 2018-10-29], 300-304. Dostupné z <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11208326>
22. MOSIO, P., 2012. *Atlas bakterií*. Pardubice: Univerzita Pardubice. 90 s. ISBN 978-80-7395-467-3.
23. NELSON, K. E., WILLIAMS, C. M., 2013. *Infectious Disease Epidemiology* [online]. 3rd ed. Jones & Bartlett Publishers. [cit. 2018-6-28], 968 p. ISBN 978-1-4496-8379-5. Dostupné z <https://www.books.google.cz>
24. PARK, D. U., YEOM, J. K., LEE, W. J., LEE, K. M., 2013. Assessment of the Levels of Airborne Bacteria, Gram-Negative Bacteria, and Fungi in Hospital Lobbies [online]. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 10(2), [cit. 2019-1-21], 541-555, doi: 10.3390/ijerph10020541. Dostupné z <https://www.mdpi.com/1660-4601/10/2/541/htmb>

25. PASQUARELLA, C., PITZURRA, O., SAVINO, A., 2000. The Index of Microbial Air Contamination [online]. *Journal of Hospital Infection*. 46(4), [cit. 2018-8-17], 241-256, doi: [org/10.1053/jhin.2000.0820](https://doi.org/10.1053/jhin.2000.0820). Dostupné z <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S019567010090820X>
26. PATERSON, D. L., SIU, K. L. K., CHANG, F. Y., 2010-2014. Klebsiella species (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. ozaenae* and *K. rhinoscleromatis*) [online]. *Antimicrobe* [cit. 2018-10-28]. Dostupné z <http://www.antimicrobe.org/new/b107.asp>
27. PATTERSON, M. J., 1996, *Medical Microbiology, 4th edition* [online]. Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston. [cit. 2018-10-28]. ISBN 10: 0-9631172-1-1. Dostupné z <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7611/>
28. PECÁKOVÁ, I., 2011. *Statistika v terénních průzkumech*. 2. dopl. vyd. Praha: Profesional publishing. 236 s. ISBN 978-80-7431-039-3.
29. PFEIFFER, H., 1975. *Zur Ikonographie von Raffaels Disputa* [online]. Gregorian Biblical BookShop [cit. 2019-4-6]. 296 s. ISBN 8876524584. Dostupné z https://books.google.cz/books?id=p2AmVnUGYJAC&pg=PA154&dq=Zur+Ikonographie+von+Raffaels+Disputa+cognitio+cognitionem&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKEwi3lqvP_8DhAhVNYKYKHSjDC8Q6AEIKjAA#v=onepage&q=Zur%20Ikonographie%20von%20Raffaels%20Disputa%20cognitio%20cognitionem&f=false
30. PITTET, D., 2001. Compliance with Hand Disinfection and its Impact on Hospital-Acquired Infections [online]. *The Journal of Hospital Infection*. 48, [cit. 2018-7-24], 40-46, doi: [org/10.1016/S0195-6701\(01\)90012-X](https://doi.org/10.1016/S0195-6701(01)90012-X). Dostupné z [https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701\(01\)90012-X/pdf](https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701(01)90012-X/pdf)
31. PUCHIANU, G., NECULA, V., ENACHE, D. V., 2016. Research on Active and Passive Monitoring Aeromicroflora in the Milk Units Processing [online]. *Annals of the Academy of Romanian Scientists Series on Agriculture, Silviculture and Veterinary Medicine Sciences*, 5(1), [cit. 2018-8-22]. ISSN 2344-2085. Dostupné z <http://aos.ro/wp-content/anale/AVol5Nr1Art.7.pdf>
32. RILEY, R. L., 1974. Airborne Infection [online]. *The American Journal of Medicine*. 57(3), [cit. 2018-6-28], 466-475, doi: [org/10.1016/0002-9343\(74\)90140-5](https://doi.org/10.1016/0002-9343(74)90140-5). Dostupné z [https://www.amjmed.com/article/0002-9343\(74\)90140-5/fulltext](https://www.amjmed.com/article/0002-9343(74)90140-5/fulltext)
33. SARICA, S., ASAN, A., OTKUN, M. T., TURE, M., 2002. Monitoring Indoor Airborne Fungi and Bacteria in the Different Areas of Trakya University Hospital, Edirne, Turkey [online]. *Indoor Built Environ*, 11, [cit. 2019-1-22], 285-292, doi: [org/10.1159/000066523](https://doi.org/10.1159/000066523). Dostupné z <https://www.karger.com/Article/Abstract/66523>

34. SCHINDLER, J., 2014. *Mikrobiologie*. 2. dopl. a přeprac. vyd. Praha: Grada. 248 s. ISBN 978-80-247-4771-2.
35. SLACK, M. P. E., 2012, *Medical Microbiology* [online]. 18th ed, Churchill Livingstone, [cit. 2018-10-29], ISBN 978-0-7020-4089-4. Dostupné z <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702040894000469>
36. SLÍVA, J., VOTAVA, M., 2010. *Farmakologie*. Praha: Triton. 238 s. ISBN 978-80-7387-424-7.
37. SUTTON, S., 2011. Accuracy of Plate Counts [online]. *Journal of Validation Technology*. [cit. 2018-8-19], 42-46. Dostupné z https://www.microbiol.org/wp-content/uploads/2010/07/Sutton.jvt_.2011.17_3.pdf
38. ŠERÝ, V., NEDVÍDEK, J., KAZMAR, A., RADKOVSKÝ, J., JEŽEK, Z., 1966. *Epidemiologie*. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství. 431 s.
39. TANG, J. W., 2009. The Effect of Environmental Parameters on the Survival of Airborne Infectious Agents [online]. *Journal of the Royal Society Interface*, [cit. 2018-11-4], doi: 10.1098/rsif.2009.0227.focus. Dostupné z http://rsif.royalsocietypublishing.org/content/6/Suppl_6/S737
40. TANNOCK, G. W., 1995. *Normal Microflora: An Introduction to Microbes Inhabiting the Human Body* [online]. Springer Science & Business Media. 115 p. [cit. 2018-11-3], doi: 10.1016/S0966-842X (00)88950-7. Dostupné z https://books.google.cz/books?hl=en&lr=&id=ocUA0bCVveoC&oi=fnd&pg=PR7&dq=normal+Microflora&ots=Exq3lNHhsP&sig=0GFxAzPIAsZnYLgURW9sqxln75g&redir_esc=y#v=onepage&q=normal%20Microflora&f=false
41. TANNOCK, G. W., 2012. *Medical Importance of the Normal Microflora* [online]. Springer Science & Business Media. 515 p. [cit. 2018-11-3], doi: 10.1007/978-1-4757-3021-0. Dostupné z https://books.google.cz/books?hl=en&lr=&id=pWbmBwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR11&dq=normal+microflora++book&ots=cbkXFxbJ9B&sig=UAGoSttiuhF4uNyUWpw9pMWPwIk&redir_esc=y#v=onepage&q=normal%20microflora%20%20book&f=false
42. TURNIDGE, J., RAO, N., CHANG, F., FOWLER, V. G., KELLIE, S. M., ARNOLD, S., LEE, B. Y., TRISTAN, A., 2008. Staphylococcus aureus [online]. *Antimicrobe*. [cit. 2018-10-28]. Dostupné z http://www.antimicrobe.org/sample_staphylococcus.asp
43. VERDE, S. C., ALMEIDA, S. M., MATOS, J., GUERREIRO, D., MENESES, M., FARIA, T., BOTELHO, D., SANTOS, M., VIEGAS, C., 2015. Microbiological Assessment of Indoor Air Quality at Different Hospital Sites [online]. *Research in*

- Microbiology*, 166(7), [cit. 2019-1-21], 557-563, doi: org/10.1016/j.resmic.2015.03.004. Dostupné z <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092325081500056X>
44. Vyhláška č. 537/2006 Sb., o očkování proti infekčním nemocem, 2017 [online], *Sbírka zákonů České republiky*, [cit. 2019-2-15], částka 123, s. 3898-3900. ISSN 1211-1244. Dostupné z <https://www.mzcr.cz/legislativa>
45. Vyhláška č. 6/2003 Sb., kterou se stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností některých staveb, 2003 [online], *Sbírka zákonů České republiky*, [cit. 2019-1-21], částka 4. Dostupné z <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2003-6>
46. YANG, S. CH., HEINSOHN, P. A., 2007. *Sampling and Analysis of Indoor Microorganisms* [online]. John Wiley & Sons. [cit. 2018-8-18]. 320 p. ISBN 9780470112427. Dostupné z https://books.google.cz/books?id=GZYooITD5FgC&printsec=frontcover&dq=yang+sampling+and+analysis+of+indoor+microorganisms&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKEwjmwviu5_bcAhWibIAKHeJKC5QQ6AEIJzAA#v=onepage&q=yang%20sampling%20and%20analysis%20of%20indoor%20microorganisms&f=false
47. ZIMA, T., 2013. *Laboratorní diagnostika*. 3. dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén. 1146 s. ISBN 978-80-7492-062-2.
48. ŽURKOVÁ, M., 2012. Léčba infekcí dolních dýchacích cest v ambulantní praxi [online]. *Interní medicína pro praxi*. 14(4), [cit. 2018-7-3]. Dostupné z <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2012/04/05.pdf>

9 Seznam příloh

Příloha č. 1 – *Tabulka č. 1 – Údaje hodnot týkajících se mikrobiálního znečištění ovzduší vnitřního prostředí*

Příloha č. 2 – *Tabulka č. 2 – Výskyt mikroorganismů ve vzorkách*

Příloha č. 3 – *Tabulka č. 3 – Podíly jednotlivých mikroorganismů ve vzorkách*

Příloha č. 4 – *Tabulka č. 4 – Výskyt skupin mikroorganismů ve vzorkách*

Příloha č. 5 – *Tabulka č. 5 – Podíly jednotlivých skupin mikroorganismů ve vzorkách*

10 Seznam zkratek

°C – stupeň Celsia

µm – mikrometr

CFU – Colony Forming Units (kolonie tvořící jednotky)

č. – číslo

DCD – dolní cesty dýchací

DNA – deoxyribonukleová kyselina

G- – gram-negativní

G+ – gram-pozitivní

HAI – Health Care-Associated Infections (infekce spojené se zdravotní péčí)

HCD – horní cesty dýchací

IMA – index mikrobiální kontaminace vzduchu

m² – metr čtvereční, jednotka obsahu v soustavě SI (Mezinárodní systém jednotek)

m³ – metr krychlový, jednotka objemu v soustavě SI (Mezinárodní systém jednotek)

min – minuta

např. – například

nm – nanometr

obr. – obrázek

PYR – pyrrolidonylpeptidáza (PYRáza)

resp. – respektive

s. – strana

S. aureus – *Staphylococcus aureus*

sp. – species (druh)

spp. – zkratka pro různé druhy (množné číslo)

tzv. – takzvaný, takzvaně

viz – odkaz, např. na jiné místo v textu

Příloha č. 1

Tabulka č. 1 – Údaje hodnot týkajících se mikrobiálního znečištění ovzduší vnitřního prostředí

	V.18	VI.18	VII.18	VIII.18	IX.18	X.18	XI.18	XII.18	I.19	II.19
teplota (°C)	22	22	22	24	23	22	22	22	22	22
vlhkost (%)	69	80	80	85	79	73	71	63	62	59
počet pacientů	73	93	82	90	85	98	99	114	125	105
počet CFU/miska	41	54	64	48	69	84	63	65	45	39
počet CFU/m ³	134,5	177,1	209,9	157,4	226,3	275,6	206,7	213,3	148	127,9

Zdroj: Schneiderová, 2019

Příloha č. 2

Tabulka č. 2 – Výskyt mikroorganismů ve vzorkách

	V.18	VI.18	VII.18	VIII.18	IX.18	X.18	XI.18	XII.18	I.19	II.19
G+ <i>Staphylococcus spp.</i>	3	3	2	4	2	2	2	1	1	1
G+ <i>Staphylococcus spp.</i> , β-hemolýza				3	4	1	7	4		
G+ <i>Staphylococcus spp.</i> , viridace		2				1		1		
G+ <i>Streptococcus spp.</i>					2					1
G+ <i>Streptococcus spp.</i> , β-hemolýza	1									
G+ <i>Streptococcus spp.</i> , viridace		1	1	2	1	1				
G+ diplokoky					1				4	2
G+ diplokoky, β-hemolýza								1		
G+ diplokoky, viridace										
G+ tetrakoky		1	1	1				2		1
G+ tyčky			2	1			2	1		
G+ tyčky, β-hemolýza					1	1				
G- diplokoky						1				
G- diplokoky, viridace						1				
G- kokobacily			1						1	2
G- kokobacily, viridace		1								
G- tyčky	1		2	1		2		2	4	
G- tyčky, β-hemolýza						2			1	
G+ kokobacily, viridace							1			
Celkem vzorků	5	8	9	12	11	12	12	12	11	7

Zdroj: Schneiderová, 2019

Příloha č. 3

Tabulka č. 3 – Podíly jednotlivých mikroorganismů ve vzorkách (%)

	V.18	VI.18	VII.18	VIII.18	IX.18	X.18	XI.18	XII.18	I.19	II.19
G+ <i>Staphylococcus spp.</i>	60,0	37,5	22,2	33,3	18,2	16,7	16,7	8,3	9,1	14,3
G+ <i>Staphylococcus spp.</i> , β-hemolýza				25,0	36,4	8,3	58,3	33,3		
G+ <i>Staphylococcus spp.</i> , viridace		25,0				8,3		8,3		
G+ <i>Streptococcus spp.</i>					18,2					14,3
G+ <i>Streptococcus spp.</i> , β-hemolýza	20,0									
G+ <i>Streptococcus spp.</i> , viridace		12,5	11,1	16,7	9,1	8,3				
G+ diplokoky					9,1				36,4	28,6
G+ diplokoky, β-hemolýza								8,3		
G+ diplokoky, viridace										
G+ tetrakoky		12,5	11,1	8,3				16,7		14,3
G+ tyčky			22,2	8,3			16,7	8,3		
G+ tyčky, β-hemolýza					9,1	8,3				
G- diplokoky						8,3				
G- diplokoky, viridace						8,3				
G- kokobacily			11,1						9,1	28,6
G- kokobacily, viridace		12,5								
G- tyčky	20,0		22,2	8,3		16,7		16,7	36,4	
G- tyčky, β-hemolýza						16,7			9,1	
G+ kokobacily, viridace							8,3			
Celkem vzorků	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Zdroj: Schneiderová, 2019

Příloha č. 4

Tabulka č. 4 – Výskyt skupin mikroorganismů ve vzorkách

	V.18	VI.18	VII.18	VIII.18	IX.18	X.18	XI.18	XII.18	I.19	II.19
G+ <i>Staphylococcus spp.</i>	3	5	2	7	6	4	9	6	1	1
G+ <i>Streptococcus spp.</i>	1	1	1	2	3	1				1
G+ diplokoky a tetrakoky		1	1	1	1			3	4	3
G+ tyčky			2	1	1	1	2	1		
G+ kokobacily							1			
G- diplokoky						2				
G- kokobacily		1	1						1	2
G- tyčky	1		2	1		4		2	5	
Celkem vzorků	5	8	9	12	11	12	12	12	11	7

Zdroj: Schneiderová, 2019

Příloha č. 5

Tabulka č. 5 – Podíly jednotlivých skupin mikroorganismů ve vzorkách (%)

	V.18	VI.18	VII.18	VIII.18	IX.18	X.18	XI.18	XII.18	I.19	II.19
G+ <i>Staphylococcus spp.</i>	60,0	62,5	22,2	58,3	54,5	33,3	75,0	50,0	9,1	14,3
G+ <i>Streptococcus spp.</i>	20,0	12,5	11,1	16,7	27,3	8,3				14,3
G+ diplokoky a tetrakoky		12,5	11,1	8,3	9,1			25,0	36,4	42,9
G+ tyčky			22,2	8,3	9,1	8,3	16,7	8,3		
G+ kokobacily							8,3			
G- diplokoky						16,7				
G- kokobacily		12,5	11,1						9,1	28,6
G- tyčky	20,0		22,2	8,3		33,3		16,7	45,5	
Celkem vzorků	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Zdroj: Schneiderová, 2019