



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Sciences

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

**Zpracování vzorků z horních cest dýchacích**

## **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Studijní program:

**SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ**

**Autor:** Nikola Vaníčková

**Vedoucí práce:** prim. MUDr. Věra Kůrková

České Budějovice 2020

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem **Zpracování vzorků z horních cest dýchacích** jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě 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. 6. 2020

.....

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala prim. MUDr. Věře Kůrkové za vedení mé bakalářské práce, za cenné rady a poskytnutí všech potřebných dat. Také zaměstnancům oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek a.s. za pomoc při praktické části. Dále děkuji celé své rodině a mému příteli za podporu nejen při vypracování této práce, ale i v průběhu celého studia na vysoké škole.

# **Zpracování vzorků z horních cest dýchacích**

## **Abstrakt**

Tato bakalářská práce se zaměřuje na zpracování vzorků z horních cest dýchacích, především na kultivaci výtěrů z krku.

V teoretické části bakalářské práce je popsána anatomie a fyziologická flóra horních cest dýchacích a jednotlivé bakterie, které mohou za určitých okolností (např. při oslabení organismu virovou infekcí) způsobit onemocnění. Dále jsou popsána onemocnění, která mohou postihovat horní cesty dýchací, především tonzilitida, na kterou se tato práce zaměřuje ve své praktické části. Stručně jsou popsány také kultivační půdy používané k izolaci mikrobů z výtěrů z krku.

Praktická část je zaměřena pouze na kultivaci výtěrů z krku na krevním agaru. Za patogeny byly považovány streptokoky skupiny A, C a G, které způsobují akutní tonzilitidu, popřípadě faryngitidu. Skupiny streptokoků byly dourčeny metodou latexové aglutinace.

Z dat, které mi poskytlo oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek, a.s., byla vypracována statistika porovnávající výskyt jednotlivých streptokoků ve vzorcích. Dále byl porovnán výskyt patogenů v průběhu roku a u různých věkových kategorií. Poskytnutá data byla z období jednoho roku (od 1. 4. 2018 do 31. 3. 2019).

Cílem práce bylo seznámit se onemocněními horních cest dýchacích, zejména se streptokokovým zánětem tonzil a hltanu. Osvojit si laboratorní metody využívané při vyšetření výtěru z krku a vypracovat statistiku ze získaných dat.

## **Klíčová slova**

beta-hemolytické streptokoky; horní cesty dýchací; tonzilitida; výtěr z krku; kultivace

# **Processing of upper respiratory tract specimens**

## **Abstract**

This bachelor thesis focuses on the processing of upper respiratory tract specimen, primarily on the cultivation of throat swabs.

The theoretical part introduces the anatomy and physiological flora of upper respiratory tract and the individual bacteria that can, under specific circumstances such as the body being weakened by virus infection, cause illness. It details diseases that can affect the respiratory system such as tonsillitis, which is the focus of the practical part. The culture media used to isolate microbes from throat swabs are also concisely described.

The practical part is solely focused on the cultivation of throat swabs on blood agar. Group A, C and G streptococci, which cause acute tonsillitis or pharyngitis, were considered pathogens. The streptococci groups were determined by latex agglutination test.

The data provided by the Department of Clinical Microbiology of Nemocnice Písek, a.s., were processed and compiled into statistics comparing the occurrence of individual streptococci in the samples. Furthermore, the occurrence of pathogens over the year and within different age categories was compared. The data provided were from the span of twelve months (from the 1st April 2018 to the 31st March 2019).

The aim of this thesis was to introduce the upper respiratory tract diseases, primarily the streptococcal infection of the tonsils and pharynx. Furthermore, the aim was to get accustomed to laboratory methods used in the examination of throat swabs and the subsequent compilation of statistics from obtained data.

## **Key words**

beta-hemolytic streptococci; upper respiratory tract; tonsillitis; throat swab; cultivation

Úvod.....	8
1 Teoretická část.....	9
1.1 Horní cesty dýchací.....	9
1.2 Fyziologické osídlení horních cest dýchacích.....	9
1.3 Původci onemocnění.....	10
1.3.1 Rod Streptococcus.....	10
1.3.2 Rod Corynebacterium.....	12
1.3.3 Rod Neisseria.....	13
1.3.4 Rod Haemophilus.....	15
1.3.5 Rod Bordetella.....	16
1.3.6 Rod Staphylococcus.....	17
1.4 Onemocnění.....	18
1.4.1 Tonzilitida a faryngitida.....	18
1.4.2 Pozdní následky streptokokových nákaz.....	20
1.4.3 Záškrt.....	21
1.4.4 Epiglotitida.....	21
1.4.5 Pertuse (dávivý kašel).....	22
1.5 Laboratorní diagnostika výtěru z krku.....	22
1.5.1 Krevní agar.....	22
1.5.2 Čokoládový agar.....	23
1.5.3 Claubergův agar.....	23
1.5.4 Sabouraudův agar.....	23
2 Cíl práce.....	24
3 Metodika.....	25
3.1 Odběr vzorku.....	25
3.1.1 Výtěr z krku.....	25
3.1.2 Transportní půdy.....	25
3.2 Příjem vzorku do laboratoře.....	25
3.3 Kultivace.....	26
3.3.1 Krevní agar.....	26
3.3.2 Postup.....	27
3.3.3 Odečet.....	27
3.3.4 Katalázový test.....	28
3.3.5 Latexová aglutinace.....	30
4 Výsledky.....	33
4.1 Výskyt patogenů v průběhu jednoho roku.....	33

4.2	Výskyt patogenů u různých věkových kategorií.....	36
5	Diskuze .....	39
6	Závěr.....	41
7	Seznam použité literatury .....	42
8	Seznam tabulek a obrázků .....	45
9	Seznam příloh.....	45
10	Seznam použitých zkratk.....	46
11	Přílohy .....	47

## Úvod

Onemocnění dýchacích cest jsou běžná onemocnění, která se vyskytují po celý rok a postihují všechny věkové kategorie. Nejčastěji však tato onemocnění postihují děti v předškolním a školním věku do 15 let.

Bolest v krku přivádí do ordinací praktických lékařů (zvláště pediatrů) stovky pacientů ročně. V mnoha případech lékaři ihned předepisují pacientům antibiotika, bez ohledu na výsledek laboratorního vyšetření výtěru z krku. Nadměrné užívání antibiotik vede k rostoucí rezistenci k antibiotikům.

Onemocnění horních cest dýchacích je velmi často způsobené virem (až 80 %), v menší míře je způsobují bakterie. Významným patogenem je *Streptococcus pyogenes*, který způsobuje akutní tonzilitidu, popřípadě faryngitidu. Dalšími bakteriemi vyvolávající onemocnění jsou beta-hemolytické streptokoky skupiny C a G, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Corynebacterium diphtheriae* a zcela výjimečně i *Neisseria gonorrhoeae*.

Včasný záchyt beta-hemolytických streptokoků (zvláště *S. pyogenes*) a zahájení antibiotické léčby je důležitý, protože při neléčených infekcích může dojít ke vzniku komplikací (pozdní následky streptokokových infekcí). Mezi tyto komplikace patří revmatická horečka a glomerulonefritida.

Laboratorní vyšetření výtěrů z krku patří v laboratořích klinické mikrobiologie k rutinním vyšetřením.



# 1 Teoretická část

## 1.1 Horní cesty dýchací

Dýchací cesty dělíme na horní (nos, dutina ústní, hltan a hrtan) a dolní (průdušnice a průdušky). Dutina nosní pokračuje v zadní části do nosohltanu a je propojena s vedlejšími dutinami nosními (prostory v lebečních kostech). Horní cesty dýchací mají za úkol chránit před vdechováním nečistot a regulovat teplotu a vlhkost vdechovaného vzduchu. (Dylevský, 2009; Klíma, 2016)

Vyšetřováním horních cest dýchacích se zabývá především obor zvaný otorinolaryngologie (ORL, z latinského *oto* = ušní, *rino* = nosní, *larynx* = hrtan). Onemocnění postihující nos, krk a uši se vyskytují častěji u dětí než u dospělých. (Klíma, 2016)

V dutině nosní jsou chloupky, které chrání hlavně před vnikáním prachu. Na sliznicích respiračního traktu jsou řasinky, které se uspořádaně pohybují, a hlen, který je hlavním ochranným nástrojem sliznic. Hlen zachycuje bakterie a zamezuje jim adherovat na povrch slizničních buněk. Bakterie jsou spolu s hlenem vylučovány z respiračního traktu pohybem řasinek a kýčáním. (Votava, 2005)

Dýchání ústy umožňuje mikrobům přímý vstup do dolních cest dýchacích a také dochází k vysoušení sliznice, což zjednodušuje průnik bakterií. (Votava, 2005)

Pacienti s astmatem mají ve srovnání s pacienty bez astmatu zvýšené riziko infekce. Mezi další rizikové faktory infekce horních cest dýchacích patří např. vystavení cigaretovému kouři. (Juhn, 2012) Kouřením dochází ke zničení řasinkového epitelu, respektive k zastavení pohybu řasinek, a tak se patogenní mikroby mohou uchytit a způsobit infekci. (Votava, 2005)

## 1.2 Fyziologické osídlení horních cest dýchacích

Složení mikroflóry je velmi individuální, sliznice jsou osídleny bakteriemi z inhalovaného vzduchu. Typická flóra horních cest dýchacích a dutiny ústní je směsí viridujících a nehemolytických streptokoků, neisserií a *Staphylococcus epidermis*. Často se zde také vyskytují potencionální patogeny (např. *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*,

*Streptococcus pyogenes*), které se mohou uplatnit při oslabení (např. při virové infekci). (Julák, 2006; Hamplová, 2015)

Dutina ústní novorozence je osídlena mikroorganismy, které jsou běžně součástí porodních cest (laktobacily, korynebakteria, stafylokoky a mikrokoky). Během 2-5 dní po porodu tato flóra vymizí a nahradí se ústní flórou matky a nemocničního personálu. (Hamplová, 2015)

### **1.3 Původci onemocnění**

#### **1.3.1 Rod *Streptococcus***

Streptokoky jsou grampozitivní, nesporulující koky o průměru 1 μm. Jsou uspořádané do řetízků různých délek. (Greenwood, 1999) Název je odvozený od řeckých slov *streptos* = řetízek a *kokkos* = kulička (Klaban, 2005) Většina těchto bakterií je fakultativně anaerobní, ale vyskytují se i druhy striktně anaerobní. Jsou nepohyblivé a mohou mít pouzdra. (Greenwood, 1999)

Streptokoky dělíme do tří skupin podle schopnosti tvořit hemolýzu na krevním agaru.

- Streptokoky α (viridující) mění červené krevní barvivo hemoglobin na zelený derivát verdoglobin. Hemolýza α se tedy projevuje hnědozeleným zbarvením kolem kolonií. Vykazuje jí například *Streptococcus pneumoniae*.
- Streptokoky β způsobují lýzu erytrocytů, kterou může doprovázet odbarvení a projasnění agaru (úplná hemolýza). Typická je pro *Streptococcus pyogenes*.
- Streptokoky, které hemolýzu netvoří, označujeme jako γ-hemolytické. (Julák, 2006)

Dalším kritériem pro dělení streptokoků je přítomnost polysacharidu C ve stěně. Na základě jeho antigenních vlastností lze rozlišit 19 skupin A až U dle Lancefieldové. U penumokoků a viridujících streptokoků tento polysacharid chybí. (Votava, 2003; Schindler, 2010)

### ***1.3.1.1 Streptococcus pyogenes***

Způsobuje především hnisavé infekce faryngu a kůže. (Votava, 2003) Pyogenes v doslovném překladu znamená „tvořící hnis“, z řeckých slov *pyón* = hnis a *gennaó* = tvořím. (Klaban, 2005)

Hlavním faktorem virulence je povrchový antigen M-protein, který způsobuje odolnost vůči fagocytóze a umožňuje adhezi na epitelie. Z extracelulárních faktorů jsou nejznámější hemolyziny. (Votava, 2003)

Streptokokové hemolyziny jsou dvojího typu. Oxygenlabilní **streptolyzin O** je produkován *S. pyogenes* a dalšími streptokoky skupiny A, C i G. (Julák, 2006) Rozpouští červené i bílé krvinky a krevní destičky. Při infekci indukuje tvorbu protilátek – antistreptolyzin O (ASLO). Jeho stanovení má význam v diagnostice pozdních následků streptokokové infekce. (Julák, 2006; Schindler, 2010) Oxygenstabilní **streptolyzin S** má leukocidní účinek a při anaerobní kultivaci způsobuje hemolýzu. (Greenwood, 1999)

Mezi další faktory virulence patří hyaluronidáza a streptodornázy. Hyaluronidáza štěpí kyselinu hyaluronovou, a tím umožňuje streptokokům šíření tkáněmi. (Julák, 2006) Streptodornázy neboli deoxyribonukleázy štěpí nukleové kyseliny. Vyskytují se ve čtyřech antigenních typech A, B, C a D. (Julák, 2006) Nejčastěji se vyskytuje typ B. (Greenwood, 1999)

Nejběžnější metodou pro laboratorní diagnostiku je kultivace výtěru z krku na krevním agaru s testovacím diskem bacitracinu, na který je *S. pyogenes* citlivý. (Pharma-Reports, 2012) Kultivace se provádí při teplotě 37 °C za zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub>. (Votava, 2003) CAMP test i test na katalázu jsou negativní. (Pharma-Reports, 2012)

### ***1.3.1.2 Streptococcus pneumoniae***

Dříve nazývaný *Diplococcus pneumoniae* se běžně označuje jako pneumokok. Typicky se vyskytuje ve dvojicích. Buňky se dotýkají zploštělou stranou a na druhé straně jsou protažené, takže svým tvarem připomínají lencetu (kopí). (Julák, 2006)

Je citlivý k optochinu a rozpustný ve žluči, čímž se odlišuje od ostatních alfa-hemolytických streptokoků. (Greenwood, 1999) Od ostatních streptokoků se také liší tím, že ve stěně nemá polysacharid C. (Schindler, 2010) Důležitým antigenem je pouzderný

(kapsulární) polysacharid, podle kterého rozeznáváme 90 sérotypů *S. pneumoniae*. (Votava, 2003)

Kolonie narostlé na krevním agaru mohou mít různý vzhled. Všechny typy kolonií jsou obklopeny zónou viridace.

- Kolonie opouzdřených pneumokoků (růstová M-fáze) jsou velké a nepravidelné. Tvarem připomínají kapky oleje.
- Při snížené tvorbě pouzdra jsou kolonie větší a hladké (S-fáze).
- Kolonie odpovídající neopouzdřeným pneumokokům (růstová R-fáze) jsou malé a drsné. (Votava, 2003; Julák, 2006)

Pneumokok je díky polysacharidovému pouzdru chráněn před fagocytózou. Kmeny bez pouzdra nejsou virulentní a jsou fagocytovatelné. (Votava, 2003)

Jedním z hlavních faktorů virulence jsou fimbrie, umožňující bakteriím adherovat na buňky respiračního epitelu (Schindler, 2010) Forssmanův antigen (F-antigen), který obsahuje kyselinu lipoteichoovou a cholin, je antigeně příbuzný povrchovým antigenům lidských buněk. Stěnový polysacharid C reaguje s C-reaktivním proteinem (CRP). (Julák, 2006)

Výtěry z krku se kultivují na krevním agaru. Podezřelé kolonie se ověřují rozpustností ve žluči a optochinovým testem. (Votava, 2003)

### ***1.3.2 Rod Corynebacterium***

Grampozitivní až gramlabilní tyčky nepravidelného (obvykle kyjovitého) tvaru. Mohou být aerobní i anaerobní, nevytvářejí spory. Většinou obsahují metachromatická granula, která se barví methylenovou modří na modročervenou barvu. (Julák, 2006)

#### ***1.3.2.1 Corynebacterium diphtheriae***

Rozlišují se tři biotypy, které mají různý vzhled kolonií: gravis, mitis, intermedius. (Schindler, 2010) Někdy se také uvádí typ minimus. Kromě vzhledu se biotypy liší i biochemickými vlastnostmi. (Julák, 2006)

Záškrť vzniká pouze produkuje-li kmen difterický toxin. Ten produkuje, pokud je přítomný tox gen, který je do buňky přenášený lysogenním  $\beta$ -bakteriofágem. Toxin je trojsložkový. **Receptorová složka** slouží k navázání na hostitelskou buňku. **Transmembránová složka** přenáší přes membránu dovnitř buňky **složku katalyckou**, která blokuje proteosyntézu a způsobuje smrt buňky. (Votava, 2003; Julák, 2006)

Vhodný vzorek k diagnostice je běžný výtěr z krku nebo nosohltanu (s transportní půdou, např. Amiesovou). (Votava, 2003) Kultivuje se na selektivně diagnostických půdách (Calubergova, Tinsdalova) s obsahem telluričitanu draselného ( $K_2TeO_3$ ), který inhibuje růst většiny ostatních bakterií. *C. diphtheriae* redukuje telluričitan na kovový tellur, který způsobuje černé zbarvení a kovově lesklý vzhled kolonií. (Votava, 2003; Julák, 2006)

Pod mikroskopem můžeme vidět dvojice bakterií, které leží rovnoběžně vedle sebe nebo spolu svírají tupý úhel. Celkový vzhled preparátu se přirovnává k čínskému písmu. (Votava, 2003; Klaban, 2005)

#### ***1.3.2.2 Arcanobacterium haemolyticum***

Grampozitivní až gramlabilní kyjovitá tyčka, která se morfologicky neliší od korynebakterií. Narozdíl od korynebakterií neroste na půdách obsahující telluričitan draselný a netvoří katalázu. (Bednář, 1996) Po 48 hodinách roste na krevním agaru s úzkou zónou  $\beta$ -hemolýzy. Při podezření na *Arcanobacterium haemolyticum* se doba inkubace prodlužuje na 72 hodin (Scharfen, 2013) *A. haemolyticum* se od jiných hemolytických bakterií odlišuje tím, že je schopná inhibovat beta hemolysin *Staphylococcus aureus*. Tomuto jevu se říká inverzní CAMP test. (Bednář, 1996)

Je to významný původce tonzilitid, ale často se vyskytuje i ve faryngu zdravých osob. (Votava, 2003)

#### ***1.3.3 Rod Neisseria***

Jsou to gramnegativní koky, které se typicky vyskytují ve dvojicích. Buňky k sobě přiléhají plochými stranami, takže jejich tvar připomíná kávové zrna. Jsou aerobní nebo fakultativně anaerobní, nevytvářejí spory. Reakce na katalázu i oxidázu je u všech druhů rodu *Neisseria* pozitivní. Na krevním agaru rostou v perleťově lesklých koloniích, při teplotě kolem 37 °C. (Klaban, 2005)

Dva druhy (*N. gonorrhoeae* a *N. meningitidis*) jsou patogenní. Svým vzhledem i biochemickými vlastnostmi se od sebe liší jen velmi málo, ale způsobují zcela rozdílná onemocnění. (Greenwood, 1999) Zbývající druhy jsou nepatogenní nebo podmíněně patogenní a osidlují sliznice horních cest dýchacích. (Bednář, 1996)

Nepatogenní neisserie štěpí a využívají různé cukry, zatímco meningokok štěpí jen glukózu a maltózu a gonokok jen glukózu. (Votava, 2003)

#### **1.3.3.1 *Neisseria meningitidis***

Meningokok se může nacházet na sliznicích hltanu a nosohltanu zdravých osob bez příznaků. Odtud se však může dostat do krevního oběhu a pak na mozkové pleny (meningy). (Schindler, 2010) Může způsobit meningitidu nebo meningokokovou sepsi, což je nejzávažnější forma onemocnění. (Beneš, 2009)

Rozlišujeme 13 sérologických skupin podle pouzdrného polysacharidu. Nejdůležitější jsou skupiny A, B a C. (Schindler, 2010) Hlavní význam pro nás mají v epidemiologii, jelikož antigeny lze využít k vakcinaci. U nás je vakcína proti skupinám A a C. (Votava, 2003)

*N. meningitidis* je náročná na kultivaci. Kultivuje se na půdách s obsahem nativních bílkovin, při 37 °C ve vlhkém prostředí za zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub>. (Bednář, 1996)

#### **1.3.3.2 *Neisseria gonorrhoeae***

Zkráceně se nazývá gonokok. Způsobuje kapavku (latinsky *gonorrhoea*), což je pohlavně přenosné onemocnění. Kapavčitá faryngitida (případně tonzilitida) vzniká vzácně, při orálně-sexuálních praktikách. (Votava, 2003)

Při podezření na kapavčitou faryngitidu se kultivuje výtěr z faryngu na čokoládovém agaru. (Votava, 2003) *N. gonorrhoeae* je velmi citlivá na vyschnutí a na nízké i vysoké teploty nad 40 °C. Některé kmeny vyžadují ke kultivaci zvýšenou koncentraci CO<sub>2</sub>. (Klaban, 2005)

Podle vzhledu kolonií lze rozlišit 4 typy T<sub>1</sub> až T<sub>4</sub>. T<sub>1</sub> a T<sub>2</sub> jsou virulentní a rostou v drobných koloniích. Typy T<sub>3</sub> a T<sub>4</sub> nejsou virulentní a mají podstatně větší kolonie. (Bednář, 1996)

### **1.3.3.3 *Moraxella (Branhamella) catarrhalis***

Gramnegativní diplokok, který je svým vzhledem podobný neisseriím. (Klaban, 2005) Je kataláza i oxidáza pozitivní a nezkvašuje cukry. Většina kmenů produkuje  $\beta$ -laktamázu, čímž snižují účinnost penicilinu. (Bednář, 1996)

*Moraxella catarrhalis* je součástí běžné flóry horních cest dýchacích. Jako podmíněný patogen je schopná za určitých podmínek vyvolat zánět dolních cest dýchacích. (Klaban, 2005) Dále může způsobovat záněty středního ucha, sinusitidy a laryngitidy. (Pharma-Reports, 2012)

Kultivuje se na krevním nebo čokoládovém agaru, kde roste v drsných vypouklých koloniích. (Greenwood, 1999)

### **1.3.4 Rod *Haemophilus***

Rod *Haemophilus* dostal své jméno díky schopnosti růstu na půdách s obsahem krve. (Votava, 2003) Název je tvořený z řeckých slov *haima* = krev a *fileo* = miluji. Hemofily potřebují ke svému růstu přítomnost růstových faktorů V (nikotinamidadenindinukleotid, zkratka NAD) a X (hemin), které jsou obsaženy v erytrocytech. (Klaban, 2005)

#### **1.3.4.1 *Haemophilus influenzae***

Druhové jméno je odvozené od chřipky (lat. *influenza*), za jejíhož původce byl *H. influenzae* původně považován. Je to drobná gramnegativní, nepohyblivá tyčinka, vyskytující se na sliznicích v oblasti nosohltanu. (Votava, 2003) Některé kmeny mají polysacharidové pouzdro. (Greenwood, 1999) Díky pouzdru odolávají účinkům imunitního systému hostitele, a zvyšují tak svou schopnost přežít. Podle antigenní struktury dělíme opouzdřené kmeny *H. influenzae* do šesti serotypů, označovaných písmeny a-f. Nejvíce virulentní jsou kmeny s pouzdem typu b, který obsahuje polysacharid polyribosylribitolfosfát. Především u dětí jsou tyto opouzdřené kmeny častými původci těžkých invazivních onemocnění (meningitidy, epiglotitidy). (Votava, 2003) Opouzdřené i neopouzdřené kmeny *H. influenzae* způsobují respirační onemocnění (faryngitidy, sinusitidy a bronchitidy). (Schindler, 2010) Pro hemofilové onemocnění dýchacích cest je typický dráždivý kašel. (Votava, 2003)

Pro izolaci se obvykle používá čokoládový agar, na kterém roste v drobných průsvitných koloniích. Na krevním agaru roste *H. influenzae* kolem kolonií *Staphylococcus aureus*,

který produkuje NAD a uvolňuje hemin z erytrocytů. Tomuto jevu říkáme satelitismus. Hemofily jsou citlivé na vnější vlivy, materiál je potřeba přepravovat v transportní půdě při pokojové teplotě. (Votava, 2003; Julák, 2006)

### **1.3.5 Rod *Bordetella***

Bordetelly jsou malé gramnegativní bakterie kokobacilárního tvaru, podobající se hemofilům. Jsou striktně aerobní, opouzdřené, nejsou pohyblivé a nesporulují. (Bednář, 1996; Klaban, 2005) Pro člověka jsou významné především dva druhy (*Bordetella pertussis* a *Bordetella parapertussis*). Tyto dva nejvýznamnější druhy se od sebe liší svými biochemickými vlastnostmi i náročností kultivace. (Votava, 2003)

K vyšetření se používá výtěr z nosohltanu. Tampón se nejdříve nasytí kapkou penicilinu, potom se rozočkuje na Bordet-Gengou půdu. Penicilin eliminuje růst grampozitivních bakterií. (Bednář, 1996; Votava, 2003) Ke kultivaci se používají i další typy půd, které obsahují aktivní uhlí a cefalexin, který inhibuje růst jiných bakterií. (Votava, 2003)

#### **1.3.5.1 *Bordetella pertussis***

*B. pertussis* je oxidáza pozitivní a ureáza negativní bakterie. Nezkvašuje cukry, ale oxiduje aminokyseliny. (Votava, 2003) Její jedinečnou schopností je osidlování řasinek epitelu dýchacích cest. (Bednář, 1999)

Bordetelly přilnou na řasinkový epitel dýchacích cest, kde se začnou množit a blokovat funkci řasinek, až dojde k postupnému lokálnímu poškození sliznice. Dále bordetelly produkují toxiny, které celkově ovlivňují organismus. (Votava, 2003)

**Pertusový toxin** se skládá z šesti podjednotek, toxické podjednotky S1 a pěti vazebných podjednotek S2 až S5 (S4 je dvojitá). **Podjednotka S2** se naváže na glykolipid, který je na povrchu řasinkového epitelu. **Podjednotka S1** inaktivuje regulační protein vázaný na membránu, který fyziologicky inhibuje adenylátcyklázu. Tím je syntéza adenylátcyklázy nepřímo stimulována, což vede k intenzivnějšímu vylučování sekretu na sliznici dýchacích cest a produkci hlenu, který je vykašláván v paroxysmální fázi černého kašle. (Votava, 2003; Klaban, 2005)

*B. pertussis* kromě stimulace hostitelské adenylátcyklázy, pomocí pertusového toxinu, produkuje také vlastní adenylátcyklázu (adenylátcyklázový toxin). **Adenylátcyklázový toxin** snižuje chemotaxi a fagocytární aktivitu leukocytů. (Klaban, 2005)



Pertusový toxin také podněcuje uvolnění B a T lymfocytů ze sleziny, kostní dřeně a lymfatických uzlin, čím způsobuje lymfocytózu, která je příznakem pertuse. (Bednář, 1996; Votava, 2003)

**Tracheální cytotoxin** poškozuje tracheální epitel. Dále inhibuje pohyb řasinek a syntézu DNA, čímž znemožňuje regeneraci poškozeného epitelu. (Klaban, 2005; Beneš, 2009)

Vážné respirační onemocnění, které *B. pertussis* způsobuje se nazývá pertuse, dávivý (černý) kašel. (Schindler, 2010) Dnes se u nás díky očkování tato nemoc nevyskytuje. (Klaban, 2005)

Kultivace se provádí na Bordet-Gengou půdě, kde vyrůstá za 2 až 3 dny. Kolonie jsou drobné, perleťově lesklé, s úzkou zónou hemolýzy. (Kramář, 2007) Kolonie připomínají kapičky rtuti. (Pharma-Reports, 2012)

#### ***1.3.5.2 Bordetella parapertussis***

*B. parapertussis* má test na oxidázu negativní a ureázu pozitivní. (Votava, 2003)

Onemocnění, které způsobuje, je podobné dávivému kašli. Dříve se předpokládalo, že průběh onemocnění je mírnější než u pertuse. Rozdíl je ale pouze v délce trvání kašle. (Bednář, 1999; Klaban, 2005)

Narozdíl od *B. pertussis* není tolik kultivačně náročná a vyrůstá už po 24 hodinách. Tvoří větší kolonie s výraznější hemolýzou a tmavě hnědým pigmentem. (Votava, 2003; Klaban, 2005) *B. parapertussis* roste i na krevním agaru a čokoládovém agaru. (Votava, 2003)

#### ***1.3.6 Rod Staphylococcus***

Tento rod zahrnuje grampozitivní koky o průměru 1 µm, které jsou nejčastěji uspořádané do shluků ve tvaru hroznů (řecky *staphylé* = hrozen). Mohou se také vyskytovat jednotlivě, ve dvojicích, po čtyřech nebo v krátkých řetězcích. (Votava, 2003) Stafylokoky jsou obvykle fakultativně anaerobní bakterie, které nejsou pohyblivé, netvoří spory a jsou kataláza pozitivní. Často se vyskytují na povrchu těla a různých sliznic savců a ptáků. Podle schopnosti produkovat plazmakoagulázu dělíme stafylokoky do dvou základních skupin, na koaguláza pozitivní a koaguláza negativní. (Klaban, 2005) Z

hlediska patogenity u člověka je pro nás nejvýznamnější koaguláza pozitivní druh *S. aureus* a koaguláza negativní druhy *S. epidermidis* a *S. saprophyticus*. (Bednář, 1996)

### **1.3.6.1 *Staphylococcus aureus***

Často se mu podle jeho pigmentace říká „zlatý stafylokok“. Patří mezi nejčastější příčiny nozokomiálních infekcí (infekce spojené se zdravotní péčí). (Pharma-Reports, 2012)

*S. aureus* kolonizuje sliznice dýchacích cest, a proto je možné ho zachytit při rutinním vyšetření až u 50 % osob. Kolem 20 % populace je trvalými nosiči. (Bednář, 1999) V případě porušení přirozené odolnosti může pronikat do tkání a vyvolávat různá onemocnění. Mezi nejběžnější stafylokokové infekce patří hnisavá onemocnění kůže. (Votava, 2003) Méně často je původcem tonzilitidy, otitidy a sinusitidy. Vzácně může způsobovat meningitidu. (Klaban, 2005)

Velmi dobře roste na krevním agaru, kde jsou jeho kolonie obklopené zónou úplné hemolýzy. (Klaban, 2005) Narostlé kolonie jsou 1-3 mm velké, pigmentované a mají krémovitou konzistenci. K určení *S. aureus* se používá koagulázový test. (Votava, 2003)

## **1.4 Onemocnění**

Onemocnění dýchacích cest se přenáší vzduchem, obvykle kapénkami. Méně často dochází k přenosu prostřednictvím kontaminovaných předmětů (např. hračky). (Podstatová, 2001)

### **1.4.1 Tonzilitida a faryngitida**

Podle převažujícího místa zasažení jde o akutní zánět tonzil nebo faryngu. Často se setkáme s tím, že jsou postižené obě oblasti a mluvíme tak o tonzilofaryngitidě. (Beneš, 2009) Vyskytuje se u pacientů všech věkových kategorií, ale převážně postihuje děti školního věku. Velmi často je způsobená viry. Bakteriální tonzilofaryngitida je nejčastěji způsobena bakterií *Streptococcus pyogenes*. (Sidell, 2012) Dále ji mohou způsobovat streptokoky skupiny C a G (Beneš, 2009) a jiné bakterie, např. *Arcanobacterium haemolyticum*, *Neisseria gonorrhoeae* a *Corynebacterium diphtheriae*. (Gerber, 2005)

- **Streptokoky skupiny C a G** mohou způsobit tonzilofaryngitidu zejména u starších dětí a dospělých. Rychlé testy pro detekci těchto streptokokových skupin nejsou k dispozici, a proto je pro diagnostiku nezbytná kultivace.

- *Arcanobacterium haemolyticum* je neobvyklým původcem. Vyskytuje se především u jedinců ve věkové skupině 15-18 let.
- *Neisseria gonorrhoeae* může být příčinou onemocnění u jedinců praktikujících orální sex. (Stjernquist-Desatnik, 2009)

Onemocnění se projevuje silnými bolestmi v krku a bolestí hlavy, u dětí často bolestmi břicha a zvracením. Obvyklý je tzv. malinový jazyk. (Lobovská, 2002) Náhle se objevuje vysoká horečka, podčelistní uzliny jsou zvětšené a bolestivé, tonzily a hrdlo je zarudnuté. Na tonzilách se může vytvořit žlutavý povlak. (Beneš, 2009) Symptomy jako kašel a rýma naznačují, že jde o virový původ onemocnění. (Stjernquist-Desatnik, 2009)

Je těžké rozlišit virové a bakteriální infekce, způsobující bolest v krku, pouze pomocí klinických příznaků a symptomů. Často dochází k nepřesnému určení diagnóz a kliničtí lékaři okamžitě předepisují antibiotika. Nadměrné užívání antibiotik u infekcí horních cest dýchacích je spojené se zvýšenou rezistencí k ATB. (Thillaivanam, 2016)

Světová zdravotnická organizace klasifikovala dvě kritéria pro diagnostiku bolestí v krku u dětí, které jsou způsobené streptokoky. Tato kritéria jsou považována za indikaci pro použití antibiotik: citlivé a zvětšené uzliny na krku a bílý povlak na mandlích.

V souladu s tím bylo vyvinuto pravidlo klinického rozhodování McIsaac, což je bodovací nástroj pro zlepšení přesnosti diagnostiky streptokokové tonzilofaryngitidy. Pomáhá při rozhodování o předepisování antibiotik. V tabulce 1 je uvedeno pět kritérií, která se bodují. Pravděpodobnost infekce způsobené streptokoky se zvyšuje s celkovým počtem bodů. (Thillaivanam, 2016)

**Tabulka 1 Kritéria pro předepisování antibiotik**

Kritérium	Body
Teplota > 38 °C	1
Absence kašle	1
Otoky nebo povlaky na mandlích	1
Citlivé a zvětšené uzliny	1
Věk 3-14 let	1
Věk 15-44 let	0
Věk ≥ 45 let	-1

(Zdroj: Thillaivanam, 2016)

Standartní laboratorní postup, pro mikrobiologické potvrzení klinické diagnózy streptokokové tonzilofaryngitidy, je kultivace výtěru z krku na krevním agaru. (Gerber, 2005)

U streptokokové tonzilofaryngitidy je lékem volby penicilin, který se užívá perorálně 10 dní. Léčba penicilinem vede k rychlému zotavení, pacient často už po 2 až 3 dnech léčby nemá příznaky onemocnění. Předčasné přerušování léčby vede k jejímu selhání. (Stjernquist-Desatnik, 2009)

Včasné zahájení léčby streptokokové tonzilofaryngitidy zabrání vzniku komplikací (následky neléčených streptokokových infekcí), jako je akutní revmatická horečka, glomerulonefritida a chorea. (Carey, 2011)

#### ***1.4.2 Pozdní následky streptokokových nákaz***

Revmatická horečka (postižení myokardu), glomerulonefritida (postižení ledvin) a chorea minor (postižení CNS) jsou pozdní následky streptokokových infekcí. (Göpfertová, 2002)

Vznikají po neléčených streptokokových infekcích. (Lobovská, 2002) Jde o komplikace, které nejsou způsobeny streptokokem, ale autoimunitní odpovědí hostitele. Objevují se několik týdnů po proděláním onemocnění a již není možné streptokoky z výtěru krku ani z krve pacienta vykultivovat. (Carey, 2011)

##### ***1.4.2.1 Revmatická horečka***

Vzniká asi po 2-3 týdnech po streptokokové infekci horních cest dýchacích (na rozdíl od glomerulonefritidy nevzniká po infekcích kůže). (Beneš, 2009)

Příznakem revmatické horečky jsou oteklé a bolestivé klouby (migrující artritida) a srdeční šelest, která je způsobena poškozením srdečního svalu a chlopní. (Carey, 2011)

##### ***1.4.2.2 Glomerulonefritida***

Objevuje se asi 1-2 týdny po faryngitidě nebo 2-3 týdny po infekci kůže. Mezi příznaky patří: únava, bolest hlavy, nauzea, celková slabost, vysoký krevní tlak, bílkoviny a krev v moči. Pacient může mít otoky. (Lobovská, 2002)

Revmatická horečka ani akutní glomerulonefritida se neléčí antibiotiky, přesto se však pacientům podává penicilin jako prevence před dalšími streptokokovými infekcemi. Diagnostikují se laboratorním testem průkazu antistreptolyzinu O (ASLO), což umožňuje průkaz dřívější infekce, i když streptokoky již vymizely. (Carey, 2011)

#### **1.4.3 Záškrt**

Je to akutní onemocnění způsobené bakterií *Corynebacterium diphtheriae*, která produkuje difterický toxin. Postihuje především krční mandle, hltan a hrtan, na kterých dochází k zánětu a tvoří se typické šedavé pablány. Dále může postihovat i ostatní sliznice a kůži. Nejzávažnější forma záškrtu je croup (postižení hrtanu), při které může dojít k udušení během několika hodin. (Göpfertová, 2013)

V České republice je výskyt onemocnění, díky zavedenému očkování, téměř nulový. Vzácně se může potvrdit bezpříznakové nosičství *C. diphtheriae*. Záškrt se stále vyskytuje v rozvojových zemích a zemích, kde selhal očkovací program (např. Ukrajina). (Hamplová, 2015)

#### **1.4.4 Epiglotitida**

Jde o velmi vážné život ohrožující onemocnění, které postihuje děti ve věku do 5 let. U dospělých osob je výskyt epiglotitidy vzácný. (Beneš, 2009)

V České republice je zavedené očkování proti *Haemophilus influenzae* typu b, který je původcem epiglotitidy. (Scharfen, 2013)

Onemocnění se projevuje vysokou horečkou, bolestí v krku a dušností. Dítě má potíže s polykáním, z úst mu vytékají sliny. Při nádechu a výdechu je možné slyšet srkavý zvuk ze sekretu, který je nahromaděný kolem zduřelé epiglotis. Dítě sedí v mírném předklonu. (Stožický, 2006)

Výtěr z krku je kontraindikován, protože by mohlo dojít k obstrukci dýchacích cest. (Scharfen, 2013)

#### **1.4.5 Pertuse (dávivý kašel)**

Česky se mu také říká černý kašel. (Beneš, 2009) Je to onemocnění dýchacích cest, které probíhá ve třech stádiích. (Hamplová, 2015)

- Katarální stádium trvá až 2 týdny. Objevuje se suchý dráždivý kašel.
- Paroxysmální stádium je dlouhé 1-2 měsíce. Charakteristický je záchvatovitý kašel, který může být doprovázený zvracením. Za den může mít pacient až 40 záchvatů, kterými je značně vyčerpán. Záchvaty jsou zakončené sípavým nadechnutím, které bývá přirovnáváno ke „kokrhání“.
- Rekonvalescence trvá několik týdnů. Snižuje se počet záchvatů kašle a dochází k úplnému uzdravení. (Votava, 2003; Hamplová, 2015)

V České republice se pravidelně očkuje už od roku 1958, a tak výrazně poklesl počet hlášených případů. V devadesátých letech minulého století počet nemocných začal narůstat, a proto se od roku 2009 děti ve věku 10-11 let přeočkovávají. (Göpfertová, 2013)

#### **1.5 Laboratorní diagnostika výtěru z krku**

Výtěr z krku je nejčastější odběr z horních cest dýchacích. Významným patogenem izolovaným z výtěru z krku je *Streptococcus pyogenes*, který způsobuje akutní tonzilitidu. (Julák, 2006)

Běžně se výtěr z krku kultivuje na krevním agaru se stafylokokovou čarou a diskem bacitracinu k záchytu hemofilů. Na krevní agar je možné přidat disk s vankomycinem a kolistinem pro záchyt meningokoků. Souběžně lze naočkovat půdy k záchytu hemofilů (čokoládový nebo Levinthalův agar), *Corynebacterium diphtheriae* (Claubergova půda) a další. (Votava, 2005) Rutinně se specifická média nepoužívají, pouze na vyžádání lékaře u podezřelých případů. (Greenwood, 1999)

##### **1.5.1 Krevní agar**

Vyrábí se přidáním 5 až 10 % sterilní defibrinované ovčí krve k vychladlému agarovému základu, který má teplotu 45-50 °C. Agarový základ se může dále obohacovat peptony, škrobem, glukózou atd. Rostou na něm prakticky všechny klinicky důležité bakterie. (Votava, 2005)

### 1.5.2 Čokoládový agar

Čokoládový agar je půda hnědé barvy, která se vyrábí přidáním ovčí krve k horkému (80 °C) agarovému základu. Je vhodný pro náročné bakterie, které nedovedou živiny z krevního agaru využít. Erythrocyty se pro ně teplem rozbíjí. Rostou na něm hemofily, meningokoky a gonokoky. (Votava, 2010)

### 1.5.3 Claubergův agar

Je to selektivně diagnostická půda určená k záchytu *Corynebacterium diphtheriae*, bakterie způsobující záškrť. Obsahuje telluričitan draselný  $K_2TeO_3$ , který potlačuje růst gramnegativních bakterií. Telluričitan je *C. diphtheriae* redukován na kovový tellur, který způsobuje modročerný kovově lesklý vzhled kolonií. (Votava, 2005)

### 1.5.4 Sabouraudův agar

Jde o půdu obohacenou o glukózu, případně maltózu. Používá se k pěstování kvasinek. (Votava, 2010)

**Tabulka 2 Inkubační podmínky**

Kultivační médium	Teplota (°C)	Prostředí	Čas (h)
Krevní agar	35-37	aerobní	≥16
Čokoládový agar	35-37	4-6 % CO <sub>2</sub>	≥16
Claubergův agar	35-37	aerobní	≥40
Sabouraudův agar	35-37	aerobní	≥16

(Scharfen, 2013)

## 2 Cíl práce

### Cíle bakalářské práce:

1. Zjištění patogenů ve vzorcích
2. Porovnání výskytu patogenů v průběhu roku
3. Porovnání výskytu patogenů u různých věkových kategorií

### Hypotézy:

1. Předpokládám, že vyšší výskyt *Streptococcus pyogenes* bude u vzorků, které mají na žádance vyplněné diagnózy tonzilitida a streptokokový zánět hltanu.
2. Nejvyšší výskyt patogenů očekávám v období od října do dubna.
3. Nejvyšší výskyt *Streptococcus pyogenes* očekávám u dětí ve školním věku.



## **3 Metodika**

### **3.1 Odběr vzorku**

Pro správný výsledek mikrobiologického vyšetření je důležitý správný odběr biologického materiálu a jeho transport do laboratoře. (Podstatová, 2001)

#### **3.1.1 Výtěr z krku**

Výtěr z krku by měl být proveden na lačno, nejlépe před zubní hygienou. Odběrová souprava se označí jménem pacienta těsně před odběrem. Pacient je vyzván k otevření úst a špachtlí se mu přidrží jazyk, aby nedošlo ke kontaminaci ústní flórou. Sterilním vatovým tamponem se otáčivým pohybem setře povrch obou mandlí nebo patrových oblouků. Vatový tampon se zanoří do odběrové soupravy s transportní půdou. (Laboratorní příručka)

#### **3.1.2 Transportní půdy**

Transportní půdy se používají pro zachování životaschopnosti během přepravy do laboratoře. Obsahují látky (např. aktivní uhlí), které omezují metabolismus a absorbují toxické produkty metabolismu. (Votava, 2010)

Pro výtěr z krku používáme odběrové soupravy s transportní půdou Amies nebo Stuart. (Laboratorní příručka)

### **3.2 Příjem vzorku do laboratoře**

Příjem vzorků se v laboratoři provádí ve speciální místnosti. Laborantka kontroluje povinné údaje na žádankách a vzorcích. Na žadance musí být vždy vyplněné tyto údaje:

- jméno, příjmení a číslo pojištěnce
- pojišťovna
- diagnóza, dosavadní léčba (název antibiotik)
- požadované vyšetření a typ vzorku
- datum a čas odběru vzorku
- jmenovka a podpis ordinujícího lékaře, jmenovka a podpis odebírajícího

Vzorek musí být čitelně označený jménem, příjmením a rodným číslem pacienta.

Vzorek může být laboratoří odmítnut ke zpracování při nedodržení následujících podmínek:

- žádanka neobsahuje základní údaje
- žádanka nebo zkumavka je znečištěna biologickým materiálem
- vzorek byl špatně odebrán (Laboratorní příručka)

Každému vzorku (a k němu patřící žádance) je přiřazené číslo, pod kterým vystupuje nadále po celou dobu v laboratoři. Všechny potřebné údaje se vyplní do systému v počítači a vzorek je předán dále do laboratoře ke zpracování.

### 3.3 *Kultivace*

Kultivace je metoda přímého průkazu původce. Cílem kultivace je získání čisté kultury mikrobů. (Melter a Malmgren, 2014)

#### 3.3.1 *Krevní agar*

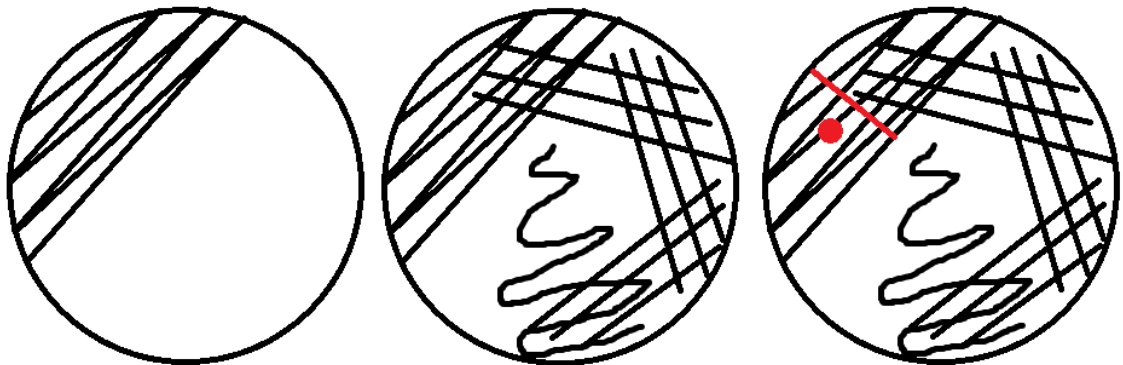
V laboratořích klinické mikrobiologie je krevní agar běžně používanou půdou. Prakticky všechny klinicky důležité bakterie na něm vyrostou. Nesporná výhoda krevního agaru je sledování hemolytických vlastností bakterií, které na něm rostou. Podle těchto vlastností lze někdy přímo určit vypěstované kmeny, a proto je možné na krevní agar pohlížet jako na půdu diagnostickou. (Votava, 2005)

Hemolýza je zapříčiněná narušením červených krvinek pod narostlou kolonií (a v jejím okolí). Ke změně erytrocytů dochází působením hemolyzinů, které štěpí fosfolipidy jejich buněčné membrány. Hemolýza může být buď úplná nebo neúplná. Při **úplné hemolýze** dochází k úplnému rozpadu erytrocytů a rozložení hemoglobinu. Projevem je odbarvení a dokonalé projasnění krevního agaru kolem narostlých kolonií. U streptokoků se označuje jako  $\beta$ -hemolýza. Typickým příkladem bakterie je *Streptococcus pyogenes*. Při **neúplné hemolýze** dochází pouze k částečnému narušení červených krvinek. Půda v místě hemolýzy je zakalená, ztrácí se červená barva krevního agaru. Změna červeného krevního barviva hemoglobinu na zelený verdoglobin se označuje jako viridace ( $\alpha$ -hemolýza). (Votava, 2005)

### 3.3.2 Postup

Každou kultivační půdu si ze spodní části popíšeme číslem vzorku. Nikdy se číslo nepíše na víčko Petriho misky, protože by se víčka mohla zaměnit. Výtěrový tampon vyjmeme ze zkumavky s transportní půdou a nanese klinický materiál přibližně na 1/3 kultivační půdy. Při nanášení tamponem pootáčíme, aby se co nejvíce odebraného materiálu nanoslo na krevní agar. Vzorek rozočkujeme jednorázovou nebo řádně vypálenou a vychladlou kličkou, jak je znázorněno na obrázku č. 1. Snažíme se využít celou plochu agarů.

Kličkou uděláme stafylokokovou čáru a asi 5 mm vedle položíme bacitracinový disk (na obrázku č. 1 znázorněno červeně), což nám umožní rozpoznat hemofily. Půdy se dají inkubovat do termostatu při teplotě 37 °C.



**Obrázek 1 Schéma rozočkování vzorku na krevním agaru**

(vlastní zpracování)

### 3.3.3 Odečet

Odečet se provádí po 24 hodinách. Plotny na kterých nic nenarostlo necháváme inkubovat do dalšího dne pro případný nárůst *Arcanobacterium haemolyticum*. Podezřelé kolonie se rozočkují a znovu dají inkubovat na 24 hodin.

*Streptococcus pyogenes* vyrůstá na krevním agaru v drobných lesklých koloniích o průměru 0,5 mm. Kolonie jsou obklopené zónou  $\beta$ -hemolýzy. *S. pyogenes* je citlivý na bacitracin, proto v jeho okolí neroste.

### **3.3.4 Katalázový test**

#### **3.3.4.1 Princip testu**

Katalázový test se používá k odlišení streptokoků a stafylokoků, které na krevním agaru také tvoří beta-hemolýzu. Přítomnost katalázy se dokazuje za použití peroxidu vodíku.

Kataláza je enzym rozkládající peroxid vodíku na vodu a kyslík. Přítomnost katalázy se projevuje šuměním (tvorbou bublinek kyslíku). Streptokoky jsou kataláza-negativní (reakce je negativní), stafylokoky jsou kataláza-pozitivní (reakce je pozitivní – tvoří se bublinky kyslíku).

#### **3.3.4.2 Pomůcky**

- Zkumavka
- Jednorázová klička
- Peroxid vodíku
- Narostlé kolonie určené k testování

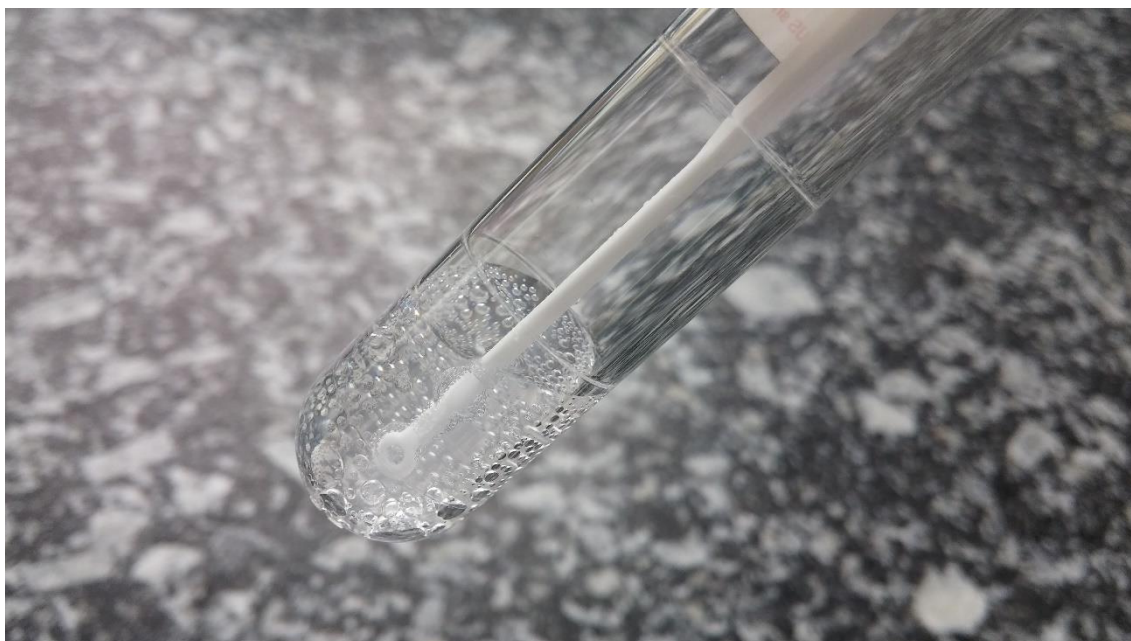
#### **3.3.4.3 Postup**

1. Do zkumavky nalijeme peroxid vodíku.
2. Jednorázovou kličkou nabereme kolonie, které chceme testovat a vložíme je do zkumavky.
3. Sledujeme, zda se kolem kličky tvoří bublinky kyslíku.

#### **3.3.4.4 Vyhodnocení**

Pozitivní test (stafylokoky) – kolem kličky se tvoří bublinky kyslíku (obrázek 2)

Negativní test (streptokoky) – nic se nestane, bublinky se netvoří (obrázek 3)



**Obrázek 2 Pozitivní katalázový test**

(Zdroj: vlastní)



**Obrázek 3 Negativní katalázový test**

(Zdroj: vlastní)

### 3.3.5 *Latexová aglutinace*

#### 3.3.5.1 *Princip testu*

Test slouží k identifikaci beta-hemolytických streptokoků, které jsou podle Lancefieldové rozděleny do skupin A, B, C, D, F a G. Principem je chemická extrakce skupinově specifických polysacharidových antigenů z buněčných stěn bakterií. Extrahované antigeny reagují se se specifickými králičími protilátkami, které jsou navázané na latexových částicích. Tyto latexové částice velmi silně aglutinují v přítomnosti specifického antigenu. (aktuální příbalová informace k soupravě Protex™ Streptococcal Grouping Latex Kit, 2015)

#### 3.3.5.2 *Pomůcky*

- Komerční souprava pro provedení latexové aglutinace
  - Latexová činidla (každá lahvička obsahuje modré latexové částice s králičími protilátkami proti skupinám A, B, C, D, F a G podle Lancefieldové)
  - Extrakční činidlo 1
  - Extrakční činidlo 2
  - Extrakční činidlo 3
  - Testovací karty
  - Míchací tyčinky
- Pipeta
- Jednorázová klička
- Zkumavka
- Narostlé kolonie určené k testování





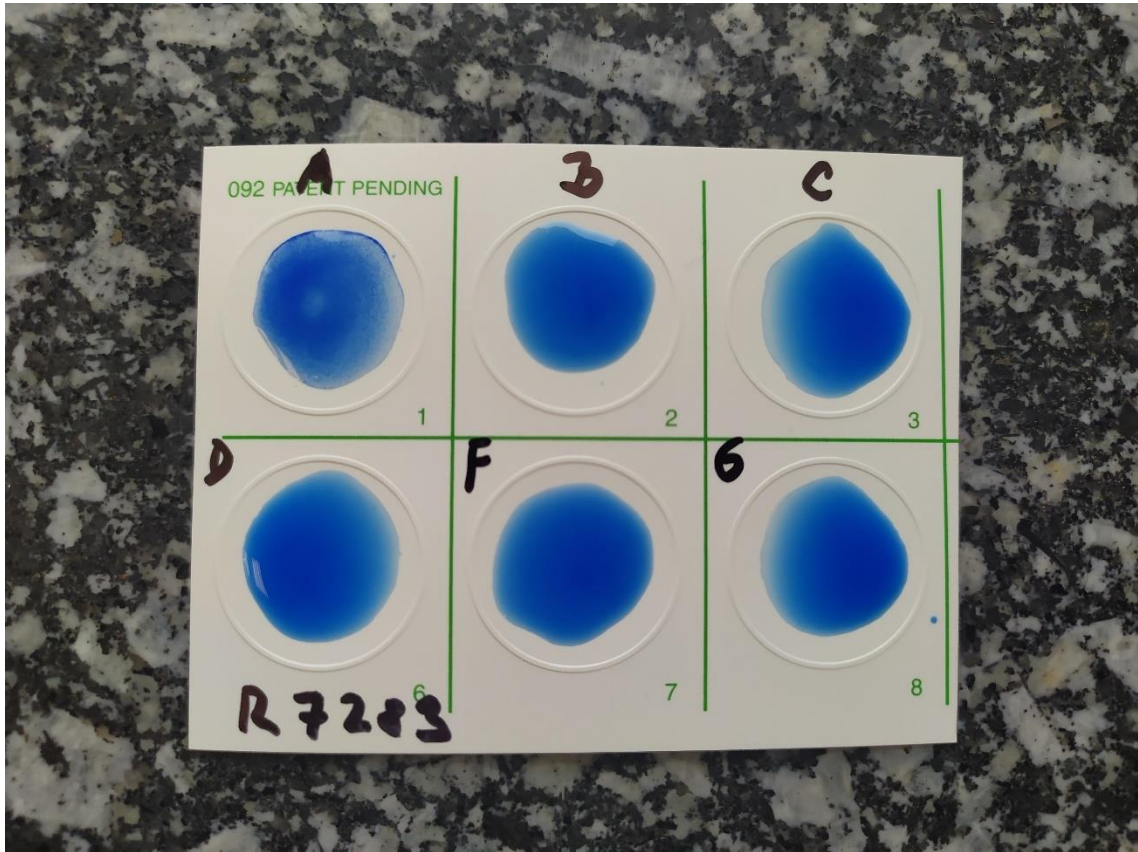
**Obrázek 4 Pomůcky k provedení latexové aglutinace**

(Zdroj: vlastní)

### **3.3.5.3 Postup**

1. Všechna činidla si před použitím vytemperujeme na pokojovou teplotu a jemným převrácením lahviček promícháme.
2. Připravíme si zkumavku a testovací kartu, které si popíšeme číslem vzorku
3. Do zkumavky dáme 1 kapku extrakčního činidla 1. Jednorázovou kličkou nabereme 1-4 beta-hemolytické kolonie, které v činidle 1 rozmícháme. Roztok by se měl zakalit.
4. Do zkumavky přidáme 1 kapku extrakčního činidla 2 a lehce promícháme jemným poklepáním na zkumavku po dobu 5-10 sekund.
5. Přidáme 5 kapek činidla 3 a opět poklepáním na zkumavku promícháme.
6. Na testovací kartu si nakapeme po jedné kapce latexového činidla A až G (každé činidlo do jednoho kruhu).

7. Pipetou přidáme do každého kruhu námi připravený roztok ve zkumavce.
8. Každé latexové činidlo s roztokem promícháme pomocí jednorázových tyčinek. Na každý kruh použijeme novou tyčinku.
9. S testovací kartou jemně kýveme a sledujeme vzniklou aglutinaci (obrázek 5).



**Obrázek 5** Pozitivní reakce s latexovým činidlem A

(Zdroj: vlastní)

**Tabulka 3** Mikroorganismy zařazené do skupin podle Lancefieldové

Mikroorganismus	Skupina dle Lancefieldové
<i>Streptococcus pyogenes</i>	skupina A
<i>Streptococcus agalactiae</i>	skupina B
<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i>	skupina C
<i>Enterococcus faecalis</i>	skupina D
<i>Streptococcus sp. typ 2</i>	skupina F
<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i>	skupina G

(Zdroj: aktuální příbalová informace k soupravě Protex™ Streptococcal Grouping Latex Kit, 2015)



## 4 Výsledky

Potřebná data pro vypracování statistiky mé bakalářské práce mi poskytlo oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek, a.s.. Data jsou z období jednoho roku (od 1. 4. 2018 do 31. 3. 2019).

### 4.1 Výskyt patogenů v průběhu jednoho roku

V tabulce č. 4 jsou uvedené informace o četnostech beta-hemolytických streptokoků skupiny A, C a G prokázaných v jednotlivých měsících daného období.

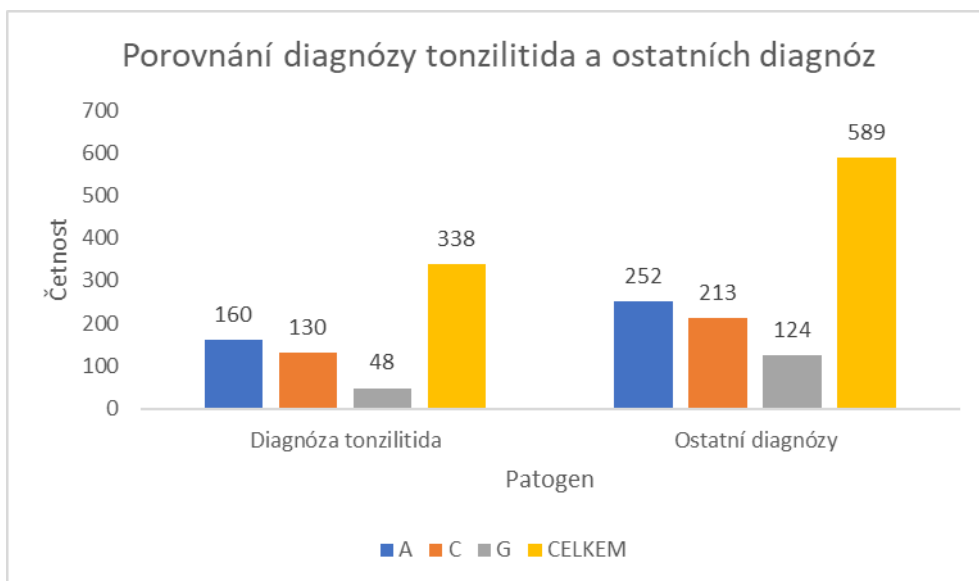
Tabulka je rozdělena na dvě části podle toho, zda byla na žádance vyplněna diagnóza tonzilitida (případně streptokokový zánět hltanu) nebo jiná diagnóza.

**Tabulka 4 Výsledky za období jednoho roku (duben 2018 - březen 2019)**

Měsíc	Diagnóza tonzilitida				Ostatní diagnózy			
	A	C	G	CELKEM	A	C	G	Celkem
Duben	13	13	6	32	chybí data	chybí data	chybí data	0
Květen	28	8	4	40	47	25	20	92
Červen	24	8	1	33	59	36	20	115
Červenec	19	11	3	33	16	15	10	41
Srpen	10	10	2	22	10	18	7	35
Září	17	12	7	36	13	29	17	59
Říjen	16	17	8	41	15	24	15	54
Listopad	7	21	4	32	23	19	8	50
Prosinec	2	4	1	7	12	9	7	28
Leden	18	20	11	49	37	28	16	81
Únor	2	3	0	5	6	7	2	15
Březen	4	3	1	8	14	3	2	19
<b>Celkem</b>	160	130	48	338	252	213	124	589

(Zdroj: vlastní zpracování)

Za celý rok bylo celkem 927 pozitivních vzorků. Z toho 338 (36,5 %) vzorků mělo na žádance vyplněnou diagnózu tonzilitida nebo streptokokový zánět hltanu. Zbýlých 589 (63,5 %) vzorků mělo na žádankách vyplněné jiné diagnózy.

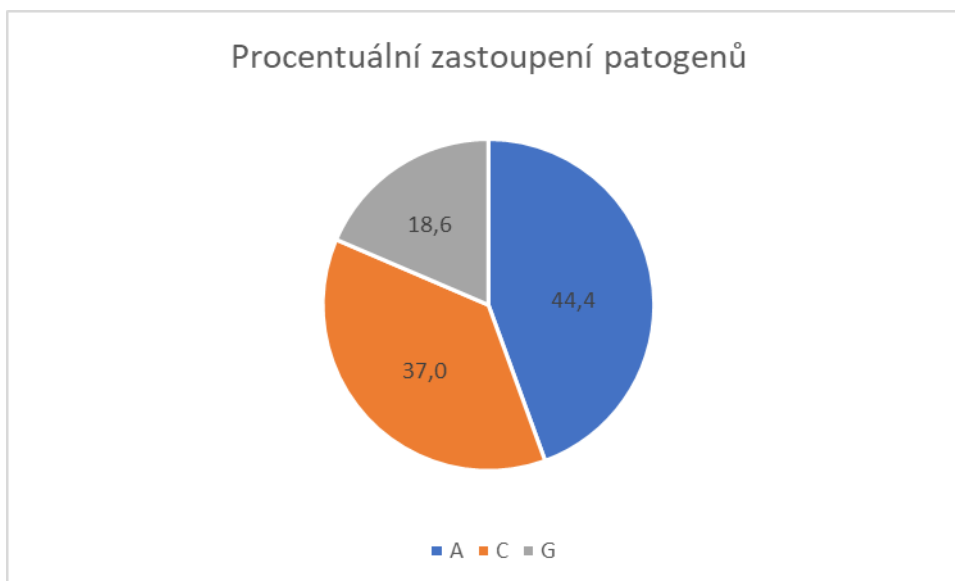


**Obrázek 6 Porovnání výskytu patogenů podle vyplněné diagnózy na žádance**

(Zdroj: vlastní zpracování)

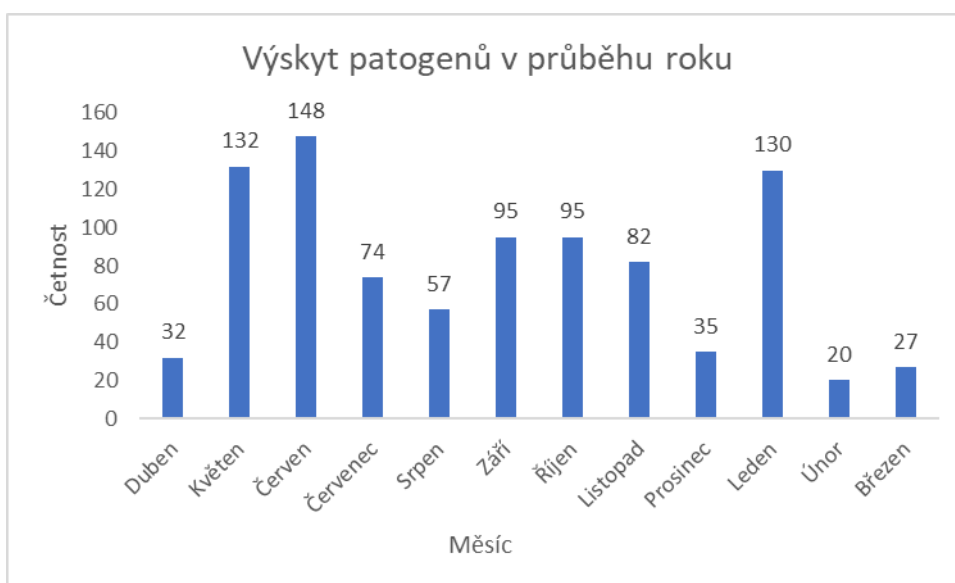
Graf (obrázek 6) znázorňuje četnost patogenů podle vyplněných diagnóz. Je z něj patrné, že poměr jednotlivých patogenů zůstává stejný nezávisle na lékařem určené diagnóze.

Procentuální zastoupení jednotlivých patogenů v průběhu jednoho roku je znázorněné v následujícím grafu (obrázek 7). Nejčastěji se vyskytoval streptokok skupiny A (*Streptococcus pyogenes*), který tvořil 44,4 % pozitivních případů. Streptokoky skupiny C se vyskytovaly o 7,4 % méně. Streptokoky skupiny G tvořily pouze 18,6 % pozitivních vzorků.



**Obrázek 7 Zastoupení jednotlivých patogenů ve vzorcích vyjádřené v procentech**

(Zdroj: vlastní zpracování)



**Obrázek 8 Výskyt patogenů v jednotlivých měsících v průběhu jednoho roku**

(Zdroj: vlastní zpracování)

V grafu (obrázek 8) je vidět, že se výskyt tonzilitid v průběhu roku mění.

Největší výskyt pozitivních vzorků byl v jarních měsících (za měsíc duben chybí data vzorků s jinými diagnózami, proto je v grafu četnost nálezu výrazně nižší) a v lednu. Nejvíce pozitivních vzorků bylo v červnu, kdy jich bylo celkem 148 (15,9 % z celkového počtu pozitivních vzorků za celý rok).

## 4.2 Výskyt patogenů u různých věkových kategorií

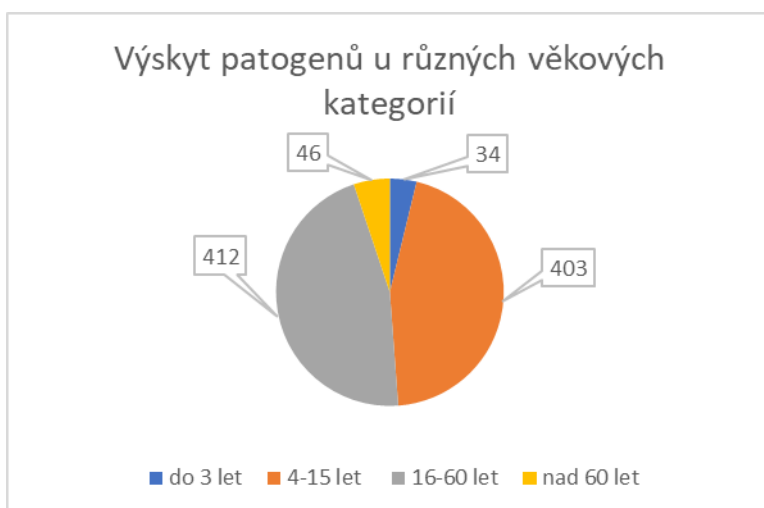
Pacienti byli rozděleni do 4 skupin podle věkových kategorií: do 3 let, 4-15 let, 16-60 let, nad 60 let. Četnosti patogenů u všech věkových skupin jsou zaznamenány v tabulce č. 5. (Chybí data za měsíc duben 2018)

**Tabulka 5 Rozdělení podle skupin**

	do 3 let	4-15 let	16-60 let	nad 60 let	Celkem
<b>A</b>	17	259	116	7	399
<b>C</b>	13	98	199	20	330
<b>G</b>	4	46	97	19	166
<b>Celkem</b>	34	403	412	46	895

(Zdroj: vlastní zpracování)

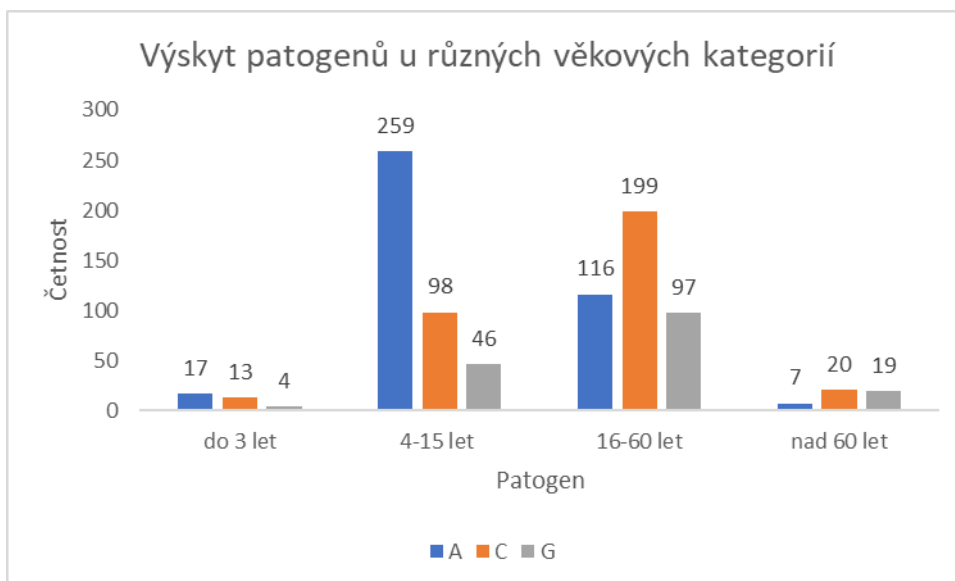
Grafy (obrázek 9 a obrázek 10) znázorňují nálezy patogenů, rozdělené podle věkových kategorií.



**Obrázek 9 Počet pozitivních vzorků u jednotlivých věkových skupin**

(Zdroj: vlastní zpracování)

V grafu (obrázek 9) je vidět, že nejvíce pozitivních vzorků (412) bylo u pacientů ve věku 16-60 let a u dětí od 4 do 15 let (403).



**Obrázek 10** Porovnání výskytu jednotlivých patogenů u různých věkových skupin

(Zdroj: vlastní zpracování)

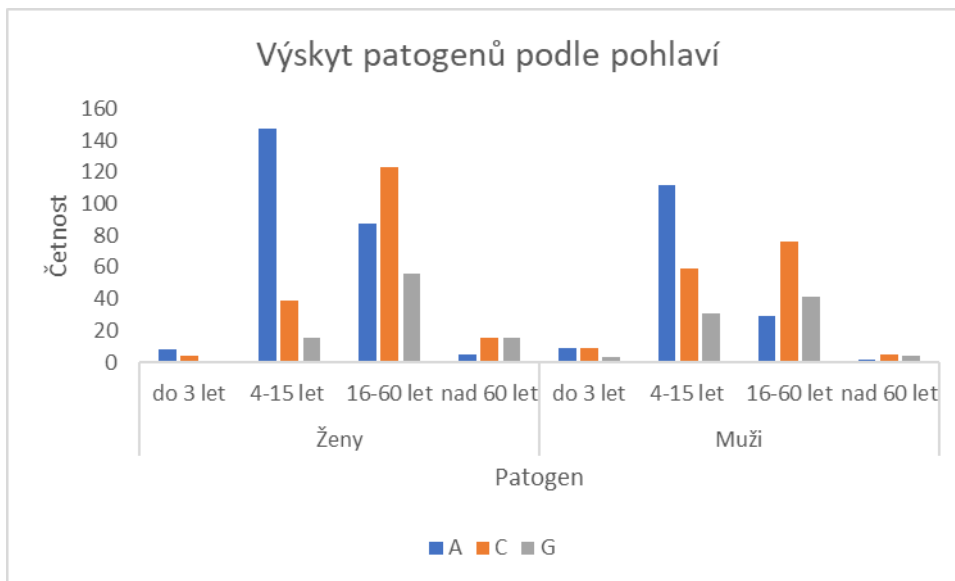
Z grafu (obrázek 10) lze vyčíst, jak se liší zastoupení jednotlivých patogenů u různých věkových kategorií. Zatímco u dětí v předškolním (do 3 let) a školním věku (4-15 let) převládá onemocnění způsobené streptokoky skupiny A, u dospělých osob (16-60 let) a seniorů nad 60 let převládají streptokoky skupiny C.

V následující tabulce č. 6 jsou vzorky rozdělené podle pohlaví na muže a ženy. Tabulka je graficky zpracovaná (obrázek č. 11).

**Tabulka 6** Rozdělení podle pohlaví

	Ženy				Muži			
	do 3 let	4-15 let	16-60 let	nad 60 let	do 3 let	4-15 let	16-60 let	nad 60 let
<b>A</b>	8	147	87	5	9	112	29	2
<b>C</b>	4	39	123	15	9	59	76	5
<b>G</b>	1	15	56	15	3	31	41	4
<b>Celkem</b>	13	201	266	35	21	202	146	11

(Zdroj: vlastní zpracování)



**Obrázek 11 Porovnání výskytu jednotlivých patogenů podle pohlaví**

(Zdroj: vlastní zpracování)

Více pozitivních vzorků (57,5 %) bylo přijato od žen.

## 5 Diskuze

Během jednoho roku (od 1. 4. 2018 do 31. 3. 2019) byly na oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek, a.s. izolovány beta-hemolytické streptokoky, které způsobují streptokokový zánět tonzil nebo hltanu, ve 927 vzorcích výtěru z krku.

Očekávala jsem, že nejvíce vzorků bude od dětí ve věku 4-15 let (těch bylo celkem 45 %), ale nejvíce patogenů (46 %) bylo izolováno z výtěrů od pacientů od 16 do 60 let. Ovšem věková skupina 16-60 let je mnohem početnější.

Zjistila jsem, že pouze 338 z 927 (36,5 %) pozitivních vzorků mělo na žádance vyplněnou diagnózu tonzilitida.

Streptokoky se dělí do skupin dle Lancefieldové, podle přítomnosti specifického polysacharidového antigenu. Tonzilitidu způsobují beta-hemolytické streptokoky sk. A, C a G. Určení těchto skupin se v laboratoři provádí metodou latexové aglutinace. Celkem 44,4 % případů streptokokové tonzilitidy bylo způsobeno streptokoky sk. A (*Streptococcus pyogenes*) a 37 % streptokoky sk. C.

Je zajímavé jak se zastoupení streptokoků u různých věkových kategorií mění. Literatura uvádí, že streptokoky skupiny C a G postihují spíše starší děti a dospělé, což se v mém výzkumu potvrdilo. Streptokoky sk. C se vyskytovaly více u osob starších 16 let, zatímco streptokoky sk. A se častěji vyskytovaly u dětí do 15 let. Celkem 63,2 % pozitivních vzorků u dětí do 15 let tvořil streptokok sk. A a pouze 25,4 % streptokok sk. C. U pacientů starších 16 let byl ve 47,8 % případech izolován streptokok sk. C a jen ve 26,9 % streptokok sk. A.

V průběhu roku se počet onemocnění mění. Nejvyšší výskyt patogenů jsem předpokládala v podzimních a zimních měsících (od října do dubna), tato hypotéza se nepotvrdila. Z výsledku vyplývá, že nejvíce pozitivních vzorků bylo v jarních měsících, konkrétně v červnu (148 vzorků).

Odborná literatura uvádí, že by se naočkované výtěry z krku měly odečítat po 48hodinové inkubaci, protože některé bakterie nestihnou za 24 hodin narůst.

V laboratoři se narostlé kultury odečítají po 24 hodinách. Podezřelé kolonie se znovu rozočkují na krevní agar a odečítají se za dalších 24 hodin. Pokud na krevním agaru za 24 hodin nic nenaroste, nechají se půdy inkubovat do dalšího dne.

Všechny beta-hemolytické streptokoky nám narostly po 24 hodinách, po 48 hodinách nebyl žádný nový pozitivní výsledek. Zdá se, že inkubace 48 hodin není nutná.

Za celý rok nebyl na oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek a.s. ani jeden záchyt *Arcanobacterium haemolyticum*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria meningitidis* ani *Neisseria gonorrhoeae*.

Mikrobiologické vyšetření může být ovlivněno nesprávným odběrem klinického materiálu. Vatový tampón by se neměl dotknout jazyka a stěn dutiny ústní, aby nedošlo ke kontaminaci ústní flórou.



## 6 Závěr

Cílem této práce bylo seznámit se s problematikou infekcí horních cest dýchacích, zejména se streptokokovým zánětem tonzil a hltanu. Na dané téma jsem vypracovala rešerši, ve které jsem popsala bakterie, které mohou onemocnění horních cest dýchacích způsobit. Dále také jednotlivá onemocnění, přičemž nejvíce pozornosti jsem věnovala právě tonzilofaryngitidě.

V praktické části práce jsem se zaměřila na kultivaci výtěrů z krku na krevním agaru. Na kultivačních půdách mohou narůst bakterie, které jsou součástí fyziologické flóry, ale za patogeny byly považovány pouze beta-hemolytické streptokoky sk. A, C a G.

Nejčastěji izolovaným patogenem byl streptokok sk. A (*Streptococcus pyogenes*) s četností 44,4 %.

Nejvíce pozitivních vzorků (46 %) bylo od pacientů ve věku od 16 do 60 let. U osob starších 16 let se častěji vyskytoval streptokok sk. C, zatímco u dětí do 15 let převažoval streptokok sk. A.

Při této práci jsem si osvojila metody laboratorní diagnostiky výtěrů z krku, jako je kultivace a latexová aglutinace používaná k dourčení skupin streptokoků. Také jsem se seznámila s preanalytickou fází mikrobiologického vyšetření.

## 7 Seznam použité literatury

1. *Aktuální příbalová informace k soupravě Protex™ Streptococcal Grouping Latex Kit*, 2015. Pro-lab diagnostics.
2. BEDNÁŘ, M., 1996. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil. ISBN 9788023802979.
3. BENEŠ, J., c2009. *Infekční lékařství*. Praha: Galén. ISBN 9788072626441.
4. CAREY, R. B., SCHUSTER M. G., MCGOWAN K. L., 2011. *Lékařská mikrobiologie v klinických případech*. Praha: Triton. ISBN 9788073874803.
5. DYLEVSKÝ, I., 2009. *Funkční anatomie*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-3240-4.
6. GERBER, M. A., 2005. Diagnosis and Treatment of Pharyngitis in Children. *Pediatric Clinics of North America* [online]. **52**(3), 729-747 [cit. 2020-05-18]. DOI: 10.1016/j.pcl.2005.02.004. ISSN 00313955. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031395505000313?via%3Dihub>
7. GREENWOOD, D., PEUTHERER, J., F., SLACK R., C., B., 1999. *Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. Vyd. 1., čes. Praha: Grada. ISBN 807169-365-0.
8. GÖPFERTO VÁ, D., 2002. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena: pro střední a vyšší odborné zdravotnické školy*. 3. dopl. vyd. Praha: Triton. ISBN 8072542230.
9. GÖPFERTO VÁ, D., PAZDIORA P., DÁŇOVÁ J., 2013. *Epidemiologie: obecná a speciální epidemiologie infekčních nemocí*. 2., přeprac. vyd. Praha: Karolinum. ISBN 9788024622231.
10. HAMPLOVÁ, L., 2015. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena pro bakalářské studium a všechny typy zdravotnických škol*. V Praze: Stanislav Juhaňák - Triton. ISBN 9788073879341.

11. JUHN, Y. J., FREY D., LI X., JACOBSON R., 2012. Streptococcus pyogenes upper respiratory infection and atopic conditions other than asthma: a retrospective cohort study. *Primary Care Respiratory Journal* [online]. 21(2), 153-158 [cit. 2020-05-18]. DOI: 10.4104/pcrj.2011.00110. ISSN 1471-4418. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/pcrj2011110>
12. JULÁK, J., 2006. *Úvod do lékařské bakteriologie*. Praha: Karolinum. ISBN 8024612704.
13. KLABAN, V., c2005. *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*. Praha: Galén. ISBN 8072623419.
14. KLÍMA, J., 2016. *Pediatric pro nelékařské zdravotnické obory*. Praha: Grada Publishing. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-5014-9.
15. KRAMÁŘ, R., 2007. *Lékařská mikrobiologie*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta. ISBN 9788073940218.
16. *Laboratorní příručka oddělení klinické mikrobiologie*, 2019. [online]. Nemocnice Písek a. s. [cit. 2020-04-05]. Dostupné z: [https://www.nemopisek.cz/media/ke\\_stazeni/OKMlaboratorPrirucka2019.pdf](https://www.nemopisek.cz/media/ke_stazeni/OKMlaboratorPrirucka2019.pdf)
17. LOBOVSKÁ, A., 2001. *Infekční nemoci*. Praha: Karolinum. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 8024601168.
18. MELTER, O. a MALMGREN A., 2014. *Principy a praktika lékařské mikrobiologie*. Praha: Karolinum. ISBN 9788024624143.
19. PHARMA-REPORTS, 2012. *Klinicky významné bakterie*. Praha: Triton. ISBN 9788073875886.
20. PODSTATOVÁ, H., 2001. *Mikrobiologie, epidemiologie, hygiena*. Olomouc: EPAVA. ISBN 8086297071.
21. SCHINDLER, J., 2010. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada. Sestra (Grada). ISBN 9788024731704.
22. SCHARFEN, J., 2013. *Diferenciální diagnostika v klinické mikrobiologii*. Praha: Nucleus HK. Mikrobiologie. ISBN 9788087009321.

23. SIDELL, D a SHAPIRO N. L., 2012. Acute Tonsillitis. *Infectious Disorders - Drug Targets* [online]. 12(4), 271-276 [cit. 2020-05-18]. DOI: 10.2174/187152612801319230. ISSN 18715265. Dostupné z: <http://www.eurekaselect.com/100047/article>
24. STJERNQUIST-DESATNIK, A a ORRLING A., 2009. Pharyngotonsillitis. *Periodontology 2000* [online]. 49(1), 140-150 [cit. 2020-05-18]. DOI: 10.1111/j.1600-0757.2008.00282.x. ISSN 09066713. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1600-0757.2008.00282.x>
25. STOŽICKÝ, F. a PIZINGEROVÁ K., 2006. *Základy dětského lékařství*. Praha: Karolinum. ISBN 8024610671.
26. THILLAIVANAM, S., AMIN A. M., GOPALAKRISHNAN S. a IBRAHIM B., 2016. The effectiveness of the McIsaac clinical decision rule in the management of sore throat: an evaluation from a pediatrics ward. *Pediatric Research* [online]. 80(4), 516-520 [cit. 2020-05-18]. DOI: 10.1038/pr.2016.113. ISSN 0031-3998. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/pr2016113>
27. VOTAVA, M., 2003. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun. ISBN 8090289665.
28. VOTAVA, M., 2005. *Lékařská mikrobiologie obecná. 2. přeprac. vyd.* Brno: Neptun. ISBN 8086850005.
29. VOTAVA, M., c2010. *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Brno: Neptun. ISBN 9788086850048.
30. *Žádanka na mikrobiologické vyšetření*, [online]. Nemocnice Písek a. s. [cit. 2020-27-05]. Dostupné z: [https://www.nemopisek.cz/media/ke\\_stazeni/OKMzadankaMikrob.pdf](https://www.nemopisek.cz/media/ke_stazeni/OKMzadankaMikrob.pdf)

## 8 Seznam tabulek a obrázků

Tabulka 1 Kritéria pro předepisování antibiotik .....	19
Tabulka 2 Inkubační podmínky .....	23
Tabulka 3 Mikroorganismy zařazené do skupin podle Lancefieldové .....	32
Tabulka 4 Výsledky za období jednoho roku (duben 2018 - březen 2019) .....	33
Tabulka 5 Rozdělení podle skupin .....	36
Tabulka 6 Rozdělení podle pohlaví .....	37
Obrázek 1 Schéma rozočkování vzorku na krevním agaru .....	27
Obrázek 2 Pozitivní katalázový test .....	29
Obrázek 3 Negativní katalázový test .....	29
Obrázek 4 Pomůcky k provedení latexové aglutinace .....	31
Obrázek 5 Pozitivní reakce s latexovým činidlem A .....	32
Obrázek 6 Porovnání výskytu patogenů podle vyplněné diagnózy na žádance .....	34
Obrázek 7 Zastoupení jednotlivých patogenů ve vzorcích vyjádřené v procentech .....	35
Obrázek 8 Výskyt patogenů v jednotlivých měsících v průběhu jednoho roku .....	35
Obrázek 9 Počet pozitivních vzorků u jednotlivých věkových skupin .....	36
Obrázek 10 Porovnání výskytu jednotlivých patogenů u různých věkových skupin .....	37
Obrázek 11 Porovnání výskytu jednotlivých patogenů podle pohlaví .....	38

## 9 Seznam příloh

Příloha 1 Žádanka na mikrobiologické vyšetření .....	47
Příloha 2 Druhy hemolýzy na krevním agaru .....	48
Příloha 3 <i>Streptococcus pyogenes</i> na krevním agaru .....	48

## 10 Seznam použitých zkratek

ASLO	protilátky proti streptolyzinu O
ATB	antibiotika
CNS	centrální nervová soustava
CO <sub>2</sub>	oxid uhličitý
CRP	C-reaktivní protein
DNA	deoxyribonukleová kyselina
K <sub>2</sub> TeO <sub>3</sub>	telluričitan draselný
NAD	nikotinamidadenindinukleotid
ORL	otorinolaryngologie
sk.	skupina
mm	milimetr
μm	mikrometr
°C	stupeň Celsia

# 11 Přílohy

ŽÁDANKA NA MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ			
<b>ODDĚLENÍ KLINICKÉ MIKROBIOLOGIE</b> <b>NEMOCNICE PÍSEK</b>		Nemocnice Písek, a.s. Karla Čapka 589 397 01 Písek <a href="http://www.nemopisek.cz">www.nemopisek.cz</a> 382 77 2166 ☎ 382 77 2162 <b>Antibiotické konzultace - 382 77 2161</b> (602 493 952 mimo pracovní dobu) <b>Pracovní doba:</b> Po – Pá 6:30 – 15:00 So 7:00 – 12:00 Ne 9:00 – 11:00	
Identifikační číslo: /		Pohlaví: <input type="checkbox"/> Ž <input type="checkbox"/> M	
Datum odběru:		Čas odběru:	
Příjmení:		Pojišťovna:	
Odebral:		Razítko a podpis lékaře:	
Jméno:		Samoplátce: <input type="checkbox"/>	
Diagnóza:		Datum a čas příjmu:	
Adresa:		Přijal:	
ATB terapie:		Počátek terapie:	

MOČOVÝ TRAKT	GASTROINTESTINÁLNÍ TRAKT	UROGENITÁLNÍ TRAKT	OSTATNÍ MATERIÁL
<input type="checkbox"/> moč * <input type="checkbox"/> Uricult *  <input type="checkbox"/> oěvkovaná moč * <input type="checkbox"/> močový katetr <input type="checkbox"/> základní bakt. vyšetření 7, 13 <input type="checkbox"/> mykologie 7, 13 <input type="checkbox"/> MRSA screening 7, 13 <input type="checkbox"/> Mycoplasma hominis * 1 <input type="checkbox"/> Ureaplasma urealytica * 1 <input type="checkbox"/> Legionella průkaz Ag * 7 <input type="checkbox"/> Str. pneumoniae Ag * 7 <input type="checkbox"/> autovakcína 7 <input type="checkbox"/> jiné: _____	<input type="checkbox"/> rektum – výtěr * <input type="checkbox"/> stolice *  <input type="checkbox"/> návrat z tropů / subtropů <input type="checkbox"/> ČR <input type="checkbox"/> jiné: _____  <input type="checkbox"/> základní bakt. vyšetření * 3,4 <input type="checkbox"/> základní parazit. vyšetření * 6 <input type="checkbox"/> virologické vyšetření 6 <input type="checkbox"/> kombinovaná stolice * 6 <input type="checkbox"/> cílená kultivace – Salmonella spp. *  <input type="checkbox"/> cílená kultivace – Campylobacter spp. * 3 <input type="checkbox"/> MRSA screening <input type="checkbox"/> Campylobacter spp. Ag 6 <input type="checkbox"/> Dyspeptické E. coli * 3 <input type="checkbox"/> Salmonella spp. průkaz Ag 6 <input type="checkbox"/> Vibrio cholerae 6 <input type="checkbox"/> Helicobacter pylori průkaz Ag 6 <input type="checkbox"/> Adenoviry průkaz Ag * 6 <input type="checkbox"/> Astroviry průkaz Ag 6 <input type="checkbox"/> Enteroviry průkaz Ag * 6 <input type="checkbox"/> Rotaviry průkaz Ag * 6 <input type="checkbox"/> Noroviry průkaz Ag 6 <input type="checkbox"/> Clostridium difficile – toxin + průkaz Ag * 6 <input type="checkbox"/> Clostridium perfringens toxin 6 <input type="checkbox"/> Cryptosporidia * 6  <input type="checkbox"/> identifikace parazita 9 <input type="checkbox"/> vyšetření na roupy * 11 <input type="checkbox"/> autovakcína <input type="checkbox"/> jiné: _____	<input type="checkbox"/> vagina – výtěr * <input type="checkbox"/> IUD <input type="checkbox"/> cervix – stěr * <input type="checkbox"/> vulva – stěr * <input type="checkbox"/> uretra – výtěr * <input type="checkbox"/> ejakulát * <input type="checkbox"/> Bartholin. žláza – výtěr * <input type="checkbox"/> prostat. sekret – výtěr / obsah *  <input type="checkbox"/> základní bakt. vyšetření * 3,4 <input type="checkbox"/> Screening GBS 3,4 <input type="checkbox"/> aktinomykóza 3,4 <input type="checkbox"/> mykologie 3,4 <input type="checkbox"/> anaeroby 7 <input type="checkbox"/> Chlamydia trachomatis průkaz Ag 1 <input type="checkbox"/> Trichomonas vaginalis 3 <input type="checkbox"/> Mycoplasma hominis 1 <input type="checkbox"/> Ureaplasma urealyticum 1 <input type="checkbox"/> Neisseria gonorrhoeae 12+ <input type="checkbox"/> autovakcína <input type="checkbox"/> jiné: _____  <b>MIKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ</b> <input type="checkbox"/> MOP * <input type="checkbox"/> vyšetření na přítomnost acidorezistentních tyčků (TBC, aj.)  <b>Odběrový materiál</b> 1 transp. nádobka na mykoplasmy 2 odběrový tampon na chlamydie 3 odběrový tampon s transportní půdou 4 odběrový tampon suchý 5 hemokultivační nádobka 6 stolice v kontejneru 7 zkumavka sterilní 8 nádrž na skličko 9 kontejner 10 kapičárna 11 nálepky 12 plotna 13 uricult a akreditovaná metoda * hlásit den předem ** materiál nedávat do lednice	<input type="checkbox"/> exsudát – výtěr / obsah * <input type="checkbox"/> katétr * <input type="checkbox"/> dekubitus – výtěr * <input type="checkbox"/> bércový vřed – výtěr * <input type="checkbox"/> dialyzát – výtěr / obsah * <input type="checkbox"/> ucho – výtěr L / P * <input type="checkbox"/> spojivkový vak – výtěr L/P * <input type="checkbox"/> hemokultura * <input type="checkbox"/> mozkomíšní mok * <input type="checkbox"/> nebiologický mat. <input type="checkbox"/> hnis – výtěr / obsah * <input type="checkbox"/> drén – výtěr / obsah * <input type="checkbox"/> pištěl – výtěr * <input type="checkbox"/> kanyla * <input type="checkbox"/> absces – výtěr / obsah * <input type="checkbox"/> punktát – výtěr / obsah * <input type="checkbox"/> rána – výtěr * <input type="checkbox"/> tekutina: _____ * <input type="checkbox"/> stěr: _____ * <input type="checkbox"/> tkáň: _____ *  <input type="checkbox"/> základní bakter. vyšetření 3,4 <input type="checkbox"/> mykologie 3,4 <input type="checkbox"/> anaeroby 3,7 <input type="checkbox"/> aktinomykóza 3 <input type="checkbox"/> MRSA screening 3,4 <input type="checkbox"/> Neisseria gonorrhoeae 12+ <input type="checkbox"/> Chlamydia průkaz Ag (spojivkový vak) 1 <input type="checkbox"/> autovakcína <input type="checkbox"/> jiné: _____  Doplnující údaje:

Prosíme na každý soubor vyšetření novou žádanku

OKM 05

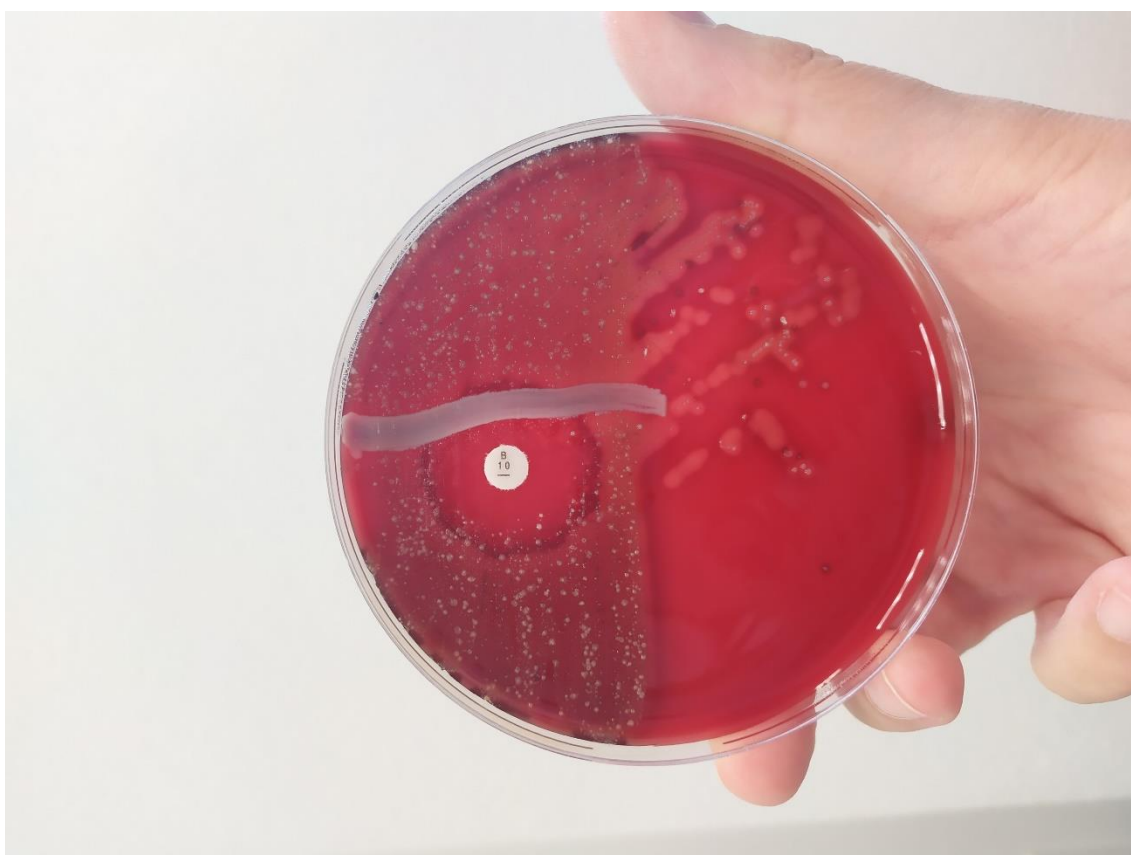
## Příloha 1 Žádanka na mikrobiologické vyšetření

(Zdroj: vlastní)



**Příloha 2 Druhy hemolýzy na krevním agaru**

(Zdroj: vlastní)



**Příloha 3 *Streptococcus pyogenes* na krevním agaru**

(Zdroj: vlastní)