



LABORATORNÍ PŘÍRUČKA MIKROBIOLOGICKÉ LABORATOŘE NEMOCNICE ŠUMPERK a.s.

LP/MKB/06

	Jméno	Funkce	Datum	
Vypracoval	MUDr. Erika Czyžová	Primář MKB	10. 7. 2020	
Kontroloval	Jana Křivánková, DiS.	Manažer kvality MKB	15. 7. 2020	
	Mgr. Miroslav Jořenek, PhD.	JOP bioanalytik	15. 7. 2020	
	Ing. Bc. Kateřina Černá	JOP bioanalytik	15. 7. 2020	
	Bc. Jan Němec	Vedoucí laborant MKB	15. 7. 2020	
Schválil	MUDr. Erika Czyžová	Primář MKB	15. 7. 2020	
	JUDr. Martin Polach	Předseda představenstva NŠ a.s.	16. 7. 2020	

Rozdělovník:

Elektronická verze v laboratorním informačním systému MKB, na intranetu NŠ a na webových stránkách NŠ

Tištěná verze: manažer kvality NŠ

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Obsah

A.	Úvod.....	7
B.	Informace o laboratoři.....	7
B-1)	Identifikace laboratoře a důležité údaje	7
B-2)	Základní informace o laboratoři	7
B-3)	Úroveň a stav akreditace pracoviště	8
B-4)	Zaměření laboratoře	8
B-5)	Organizace laboratoře	8
B-6)	Spektrum nabízených služeb	10
C.	Manuál pro odběry primárních vzorků	10
C-1)	Základní informace	10
C-2)	Požadavkové listy (žádanky)	10
C-3)	Ústní požadavky na vyšetření (dodatečná a opakovaná vyšetření)	11
C-4)	Používaný odběrový systém	11
C-5)	Manuál odběru vzorků.....	12
	BAKTERIOLOGIE	12
	Výtěr z krku	12
	Výtěr z nosu	13
	Výtěr z nosohltanu	14
	Stěr z dutiny ústní, jazyka, ústních koutků	15
	Cílená kultivace <i>Neisseria meningitidis</i>	16
	Sputum	17
	Endotracheální aspirát.....	19
	Bronchiální výplach	19
	Bronchoalveolární laváž	20
	Stěr z tracheostomie	21
	Průkaz antigenu <i>Legionella pneumophila</i> (sérotyp 1) v moči	22
	Kultivace moče	23
	Výtěr z pochvy a cervixu	26
	Výtěr z uretry	27
	Ejakulát (sperma)	28
	Urogenitální mykoplazmata.....	29
	Antigen <i>Chlamydia</i> spp.....	30
	GBS screening.....	32
	Cílená kultivace <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	32

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

MOP – mikrobiální obraz poševní	33
Kultivace <i>Trichomonas vaginalis</i>	34
Kultivace intrauterinního tělíska	35
Výtěr z konečníku	35
Průkaz antigenu a toxinů <i>Clostridium difficile</i>	36
Průkaz antigenu <i>Helicobacter pylori</i> ve stolici.....	37
Průkaz antigenů Rotaviru, Adenoviru, Noroviru, Astroviru a Enteroviru ve stolici.....	38
Průkaz antigenu <i>Campylobacter</i> spp. ve stolici	38
Vyšetření <i>Enterobius vermicularis</i> (LEPEX).....	39
Parazitologické vyšetření stolice.....	40
Biopsie žaludeční sliznice	40
Vyšetření výtěrů a stěrů z míst osídlených rezidentní mikroflórou	41
Vyšetření tekutého klinického materiálu, stěrů z hnisavých procesů a ložisek	42
Vyšetření cizorodých materiálů z míst primárně sterilních (katetry, kanyly, stenty.....)	
semikvantitativně	43
Vyšetření kloubních komponent a jiných cizorodých materiálů metodou UZ sonikace.....	44
Vyšetření hemokultur	45
Vyšetření mozkomíšního moku (likvoru)	47
AUTOVAKCÍNY	49
MYKOLOGICKÁ KULTIVACE	50
INFEKČNÍ SEROLOGIE.....	50
Borrelie IgM, IgG	53
Borrelie Imunoblot IgM, IgG.....	54
<i>Bordetella pertussis</i> toxin IgA, IgG	55
<i>Bordetella parapertussis</i> IgA, IgG.....	57
<i>Bordetella</i> spp. Imunoblot IgA, IgG	57
CMV (Cytomegalovirus) IgM, IgG	58
CMV (Cytomegalovirus) avidita IgG	59
EBV (Epstein-Baarové virus) EBNA-1 IgM, VCA IgM, VCA IgG, EBNA-1 IgG	59
<i>Helicobacter pylori</i> IgA, IgG.....	60
<i>Chlamydia pneumoniae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> IgM, IgA, IgG.....	61
<i>Chlamydia</i> spp. Imunoblot IgA, IgG	62
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> IgA, IgM, IgG	63
Klíšťová encefalitida (TBE virus) IgM, IgG	64
Morbilli (spalničky) IgM, IgG	64
HSV 1+2 (Herpes simplex virus) IgM, IgG.....	65

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

VZV (Varicella zoster virus) IgM, IgG	66
<i>Toxoplasma gondii</i> IgM, IgA, IgG, avidita IgG	66
<i>Toxocara</i> spp. IgG	70
Adenoviry IgA, IgG	70
Parvovirus B19 IgM, IgG	71
RS virus IgA, IgG	72
HIV 1+2, p24 antigen	72
Diagnostika LUES (syfilis)	73
Hepatitidy:	75
VHA (virová hepatitida A)	75
VHB (virová hepatitida B)	75
VHC (virová hepatitida C)	75
Monitorování hladin vankomycinu a gentamicinu	77
IMUNOLOGIE	80
Celkové (total) IgE	80
ECP (Eosinofilní kationický protein)	81
Gliadin deaminovaný (DA) IgA, IgG	81
t- Transglutamináza IgA, IgG	82
ENA Screen	82
ENA roztestování	83
aCCP IgG	84
Kravné mléko IgA, IgG, IgM	85
Specifické IgE protilátky	85
PCR DIAGNOSTIKA	86
PCR Chřipka + RSV (Flu A(H1N1)/B/RSV Xpress)	86
PCR SARS-CoV-2 (Xpert®Xpress SARS-CoV-2) - diagnostika onemocnění Covid-19	88
C-6) Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku	90
C-7) Vyšetření samoplátců	91
C-8) Nezbytné operace se vzorkem, stabilita	91
C-9) Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky	91
C-10) Informace k dopravě vzorků a k zajištění svozu vzorků	92
D. Preanalytické procesy v laboratoři	92
D-1) Příjem žadanek a vzorků	92
D-2) Kritéria pro odmítnutí dodaných vzorků	92
D-3) Postup při chybné nebo neúplné identifikaci pacienta na žádance	93
D-4) Postup při chybné identifikaci vzorku	93

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

D-5)	Postup při nedodání vzorku do laboratoře	93
D-6)	Vyšetřování smluvními laboratořemi.....	93
E.	Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří.....	95
E-1)	Informace o formách vydávání výsledků, typy nálezů a laboratorních zpráv	95
E-2)	Hlášení výsledků v kritických intervalech.....	96
E-3)	Změny výsledků a nálezů	99
E-4)	Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku.....	99
E-5)	Způsob řešení stížností	99
E-6)	Konzultační činnost laboratoře	100
	Příloha č. 1 LP-MKB/04 Stručný manuál odběru vzorků.....	101
	Příloha č. 2 LP-MKB/01/01 Prohlášení o mlčenlivosti	109

Seznam používaných zkratk

CFU	Colony forming units (buňky tvořící kolonie)
ČLS JEP	Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně
EHEC	Enterohaemorrhagické <i>Escherichia coli</i>
EPEC	Enteropatogenní <i>Escherichia coli</i>
EHK	Externí hodnocení kvality
ELISA	Enzyme – linked immunosorbent assay
EPEC	Enteropatogenní <i>Escherichia coli</i>
ESBL	Extended Spectrum Beta-Lactamase
EUCAST	The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FN	Fakultní nemocnice
GDH	Glutamátdehydrogenáza
CHPB	Chlazený přepravní box (4-20 °C)
CHT	Chladničková teplota (2-8 °C)
KHS	Krajská hygienická stanice
KPN	Karbapenemáza
LIS	Laboratorní informační systém
MBL	Metalobetalaktamáza
MKB	Mikrobiologická laboratoř
MOP	Mikrobní obraz poševní
MRSA	Methicilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

NIS	Nemocniční informační systém
NRL	Národní referenční laboratoř
NŠ	Nemocnice Šumperk
PAR	Parazitologická odběrová souprava s „lopatickou“
PMK	Permanentní močový katetr
PT	Pokojová teplota (15-30 °C)
SP	Sterilní sputovka
ST	Sterilní stříkačka
SZÚ	Státní zdravotní ústav
VRE	Vankomycin-rezistentní enterokoky
VT	Výtěrový tampon
VT-TP	Výtěrový tampon s transportní půdou Amies
ZK	Sterilní zkumavka
ZÚ	Zdravotní ústav

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

A. Úvod

Tato laboratorní příručka obsahuje nabídku vyšetření a služeb Mikrobiologické laboratoře (MKB) Nemocnice Šumperk a.s. Laboratorní příručka je určena lékařům, sestřám a ostatním uživatelům služeb laboratoře. Obsahuje informace o způsobu odběru, transportu a metodách vyšetření klinických vzorků. Je připravena v souladu s normou ČSN EN ISO 15189:2013.

B. Informace o laboratoři

B-1) Identifikace laboratoře a důležité údaje

<i>Název organizace:</i> Nemocnice Šumperk a.s.
<i>Adresa:</i> Nerudova 640/41, 787 01 Šumperk
IČO: 47682795
DIČ: CZ699004407
Číslo datové schránky: 5qugjc8
<i>Název laboratoře:</i> Mikrobiologická laboratoř
<i>Předmět činnosti:</i> Laboratorní diagnostika v oblasti lékařské mikrobiologie a klinické imunologie
<i>Adresa:</i> Nerudova 640/41, 787 01 Šumperk
<i>Okruh působnosti laboratoře:</i> lůžková a ambulantní oddělení Nemocnice Šumperk a.s., spádové ambulance praktických a specializovaných lékařů

B-2) Základní informace o laboratoři

Vedoucí laboratoře	Prim. MUDr. Erika Czyžová erika.cyzova@nemocnicesumperk.cz tel. 583 333 831, 601 189 519, zkrácená volba 66262
Manažer kvality	Jana Křivánková, DiS. jana.krivankova@nemocnicesumperk.cz tel. 583 333 833-5
Vedoucí laborant	Bc. Jan Němec jan.nemec@nemocnicesumperk.cz tel. 583 333 832
Telefon laboratoř	Příjem vzorků: 583 333 834 Laboratoř bakteriologie: 583 333 833 Sérologie, imunologie: 583 333 835 Konzultace ATB: 583 333 831

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

www	http://www.nemocnicešumperk.cz/oddeleni/mikrobiologicka-laborator
------------	---

B-3) Úroveň a stav akreditace pracoviště

Laboratoř je akreditována ČIA podle normy ČSN EN ISO 15189:2013 v odbornostech 802 a 813. Číslo akreditovaného subjektu je 8316. Platné Osvědčení o akreditaci včetně přílohy se seznamem akreditovaných metod je dostupné na stránkách Českého institutu pro akreditaci www.cai.cz.

Součástí trvalého procesu udržování kvalitní laboratorní práce je pravidelná úspěšná účast v cyklech Externího hodnocení kvality (EHK) Státního zdravotního ústavu, SEKK a mezinárodního cyklu UK NEQUAS. Certifikáty jsou na vyžádání dostupné v laboratoři.

B-4) Zaměření laboratoře

Laboratoř provádí vyšetření klinického materiálu v oblasti lékařské mikrobiologie a klinické imunologie.

V rámci **mikrobiologické diagnostiky** se zabývá kultivací materiálů od pacientů, identifikací infekčního agens, stanovením citlivosti na antibiotika. U hospitalizovaných pacientů dále identifikuje mechanismy rezistence na antibiotika, spolupracuje s nemocničním hygienikem na jejich evidenci a kontrole. Součástí služeb jsou konzultace antibiotické terapie pro nemocniční i terénní lékaře a schvalování vázaných antibiotik antibiotickým střediskem.

Dalšími metodami využívanými v diagnostice jsou rychlé imunochromatografické metody k průkazu patogenů (antigeny, toxiny), které řadíme k metodám přímého průkazu infekčního agens.

Nově laboratoř zavedla **PCR diagnostiku jako metodu volby přímého průkazu virů chřipky, RSV a SARS-CoV-2**. Plánujeme další rozšíření metod.

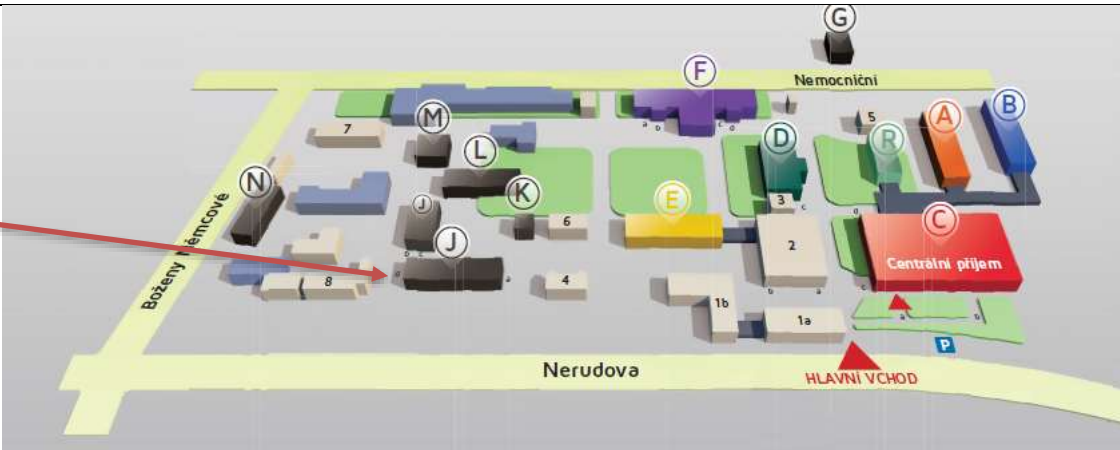
Laboratoř **infekční sérologie** nabízí nepřímou diagnostiku bakteriálních a virových agens, průkaz protilátek tříd IgA, IgM a IgG ze séra metodami ELISA a CLIA. U vybraných patogenů nabízí confirmaci výsledků ELISA metodou Immunoblot. Důraz klade na sledování historie nálezu a komentáře k výsledkům vyšetření.

Laboratoř **klinické imunologie** vyšetřuje základní parametry humorální imunity, specifických protilátek a autoproti látek.

B-5) Organizace laboratoře

Provozní doba	Pracovní dny: 7:00 – 15:00
	Sobota: 7:00 – 13:00
	Neděle: 7:00 – 12:00
Umístění laboratoře	Areál nemocnice, budova J, 1. patro

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

	 
Příjem materiálu	Po celou pracovní dobu přímo v MKB laboratoři nebo na příjmu Centrální laboratoře (budova D, 1. patro) Mimo pracovní dobu – nepřetržitě na příjmu Centrální laboratoře (budova D, 1. patro)
Expedice výsledků	Tištěné výsledkové listy jsou odnášeny do Centrální laboratoře, odkud jsou expedovány na jednotlivá oddělení. Externím lékařům zasíláme výsledky buď svozovou službou nebo poštou. Současně probíhá zabezpečené elektronické zasílání výsledků do NIS a na požádání i externím lékařům prostřednictvím distribučního portálu.
Konzultace nálezů mikrobiologie	MUDr. Erika Czyžová, tel. 583 333 831, 601 189 519, zkrácená volba 66262 MUDr. Dagmar Malotová, tel. 723 060 809, zkrácená volba 66267
Konzultace nálezů imunologie	MUDr. Hana Janíčková, tel. 583 333 835
Konzultace ATB terapie	MUDr. Erika Czyžová, tel. 583 333 831, 601 189 519, zkrácená volba 66262 MUDr. Dagmar Malotová, tel. 723 060 809, zkrácená volba 66267
Objednávka odběrových souprav	Bc. Jan Němec jan.nemec@nemocnicesumpek.cz Objednávkový formulář je dostupný na internetových stránkách laboratoře

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

	Nemocnice Šumperk/oddělení/mikrobiologická laboratoř/ke stažení/ objednávkový formulář odběrových souprav: https://www.nemocnicesumperk.cz/uploads/ckeditor/attachments/374/objednavka_odberovych_souprav_mikrobiologie_NS.pdf Návod na vyplnění žádosti dostupný rovněž na stránkách laboratoře: https://www.nemocnicesumperk.cz/uploads/ckeditor/attachments/380/Navod_na_zasilani_zadosti_o_odberove_soupravy.pdf
--	---

B-6) Spektrum nabízených služeb

- rutinní bakteriologická diagnostika
- vyšetření antiinfekční imunity ze séra
- vyšetření imunologických parametrů ze séra
- konzultační činnost pro lékaře
- služby antibiotického střediska
- logistické služby související s vyšetřením (svoz materiálu, expedice výsledkových listů, dodání odběrových souprav odebírajícím lékařům)
- zabezpečené elektronické zasílání výsledků vyšetření lékařům
- komplexně zajištěný přístup k datům, jejich bezpečná ochrana a vhodné zpracování v laboratorním informačním systému ENVIS

C. Manuál pro odběry primárních vzorků

C-1) Základní informace

Laboratoř nemá vlastní odběrovou místnost, odběry biologického materiálu neprovádí. Zpracovává klinický materiál odebraný lékaři z Nemocnice Šumperk a.s., ambulantními specialisty a dalšími lékaři ze spádové oblasti.

C-2) Požadavkové listy (žádanky)

Žádanky Mikrobiologické laboratoře jsou průběžně aktualizovány podle typů vyšetření, která laboratoř aktuálně provádí, kromě nich jsou na žádance i vyšetření, která laboratoř zasílá do smluvní laboratoře. Jsou odlišena kurzívou. Dále dodáváme i žádanky smluvní laboratoře pro jednotlivé typy specializovaných vyšetření, které naše laboratoř neprovádí.

Laboratoř na požádání zasílá žádanky odebírajícím lékařům, nebo je možné stažení PDF souboru na https://www.nemocnicesumperk.cz/uploads/ckeditor/attachments/373/zadanka_mikrobiologie_NS.pdf.

Jednu žádanku lze použít pouze pro jednoho pacienta.

Přehled všech žádanek (včetně žádanek smluvní laboratoře) je i na **Objednávkovém formuláři odběrových souprav:**

https://www.nemocnicesumperk.cz/uploads/ckeditor/attachments/374/objednavka_odberovych

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

[souvah mikrobiologie NS.pdf](#)

Na požadavkovém listu musí být povinně vyplněny základní identifikační znaky:

- **Jméno a příjmení pacienta**
- **Číslo pojištěnce-pacienta** (rodné číslo, číslo pojištěnce u cizích státních příslušníků)
- **Kód pojišťovny**
- Základní a další **diagnózy** pacienta
- Datum narození a pohlaví pacienta v případě, že tato data nejsou jednoznačně určena číslem pojištěnce
- **Datum a čas odběru** (datum a čas přijetí vzorku laboratoří jsou automaticky evidovány programem LIS po přijetí žádanky)
- **Identifikace objednavatele** (razítko, které musí obsahovat jméno lékaře, název zdravotnického zařízení, IČP a odbornost lékaře), případně osoby odebírající materiál (jmenovka)
- Kontakt na objednavatele – adresa, telefon (pokud není na razítku)
- **Bydliště pacienta** u vzorků s možným epidemiologickým dopadem (hlášení nálezů KHS)
- **Požadovaná vyšetření** k dodanému vzorku, resp. vzorkům
- Předchozí, případně současná terapie antibiotiky (má význam pro správnou interpretaci nálezu, stanovení citlivosti a konzultační činnost)
- Upřesňující údaje – např. upřesnění místa odběru, návrat z ciziny, apod.
- Pokud se jedná o předoperační vyšetření, prosíme o zaškrtnutí požadavku na žádance – důležité pro interpretaci nálezu a další postup vyhodnocení nálezu

C-3) Ústní požadavky na vyšetření (dodatečná a opakovaná vyšetření)

Ze vzorků již doručených do laboratoře je možno provádět dodatečná vyšetření na základě telefonického požadavku. Tato možnost je omezena typem vzorku a jeho stabilitou. V praxi mikrobiologické laboratoře se jedná především o požadovaná serologická, příp. imunologická vyšetření, která lze doobjednat do 4 týdnů, což je doba, po kterou skladujeme sérum pacienta zamražené po ukončení vyšetření. Vždy je nutná telefonická domluva s personálem laboratoře, zda je požadované vyšetření možno provést (omezení může být způsobeno např. malým množstvím zbytkového séra pro provedení nové metody). Pokud ano, je nutné buď **doplnit** elektronickou **žádanku** u ústavních pacientů, nebo zaslat **novou tištěnou žádanku**. Laboratoř nemůže sama doplňovat dodatečná vyšetření do žádanek. V závislosti na urgenci buď provede vyšetření ihned po telefonickém doobjednání, nebo počká na dodatečnou žádanku. **Výsledek laboratoř uvolní až po zaslání dodatečné žádanky do laboratoře.**

C-4) Používaný odběrový systém

Laboratoř sama odběry neprovádí, ale na **požádání dodává zdarma** všechny odběrové soupravy. Objednávkový formulář dostupný na internetových stránkách laboratoře Nemocnice Šumperk/oddělení/mikrobiologická laboratoř/ke stažení/ objednávkový formulář odběrových souprav:

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

https://www.nemocnicešumperk.cz/uploads/ckeditor/attachments/374/objednavka_odberovych_souprav_mikrobiologie_NS.pdf

Doporučené odběrové soupravy pro jednotlivá vyšetření viz *C-5 Manuál odběru vzorků*.

Způsob objednání souprav:

- Telefonicky (požadujeme následně elektronickou nebo písemnou objednávku)
- E-mailem na adresu jan.nemec@nemocnicešumperk.cz, v nepřítomnosti pavla.knapkova@nemocnicešumperk.cz
- Písemně doručit objednávku do laboratoře (např. svozovou službou s materiálem)
- Osobně v laboratoři

C-5) Manuál odběru vzorků

BAKTERIOLOGIE

HORNÍ CESTY DÝCHACÍ

Výtěr z krku

Popis vyšetření

Účelem vyšetření je průkaz bakteriálního původce tonzilofaryngitidy, resp. vyloučení virové etiologie onemocnění.

Kultivačně negativní nález představuje pouze „**Běžná bakteriální flóra**“.

Při nálezu primárního nebo potencionálního patogena určujeme orientační **kvantitu** na křížky: **ojediněle, +, ++, +++**.

Nejsignifikantnější je nález v kvantitě +++ bez přítomnosti běžné bakteriální flóry a jiných bakterií.

- * Primárním patogenem infekce HCD je ***Streptococcus pyogenes***. Dalšími původci mohou být *Streptococcus beta-hemolyticus* sk. C a G, *Arcanobacterium haemolyticum*, případně *Neisseria gonorrhoeae*, *Corynebacterium diphtheriae*.
- * *Staphylococcus aureus*, hemofily, pneumokoky (*Streptococcus pneumoniae*), *Moraxella catarrhalis* bývají velmi často součástí rezidentní mikroflóry HCD. Jejich nález je nutno hodnotit v souvislosti s klinickým stavem pacienta, případně výsledky dalších laboratorních vyšetření.
- * Pokud je podezření na infekci způsobenou *Corynebacterium diphtheriae*, nutno předem konzultovat s laboratoří – je třeba objednat dodání speciálních kultivačních půd!

Výtěr z krku není validním vyšetřením pro infekce dolních cest dýchacích, ani diagnostiku infekcí

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

vyvolaných *Bordetella pertussis* a *parapertussis* – pro kulturační potvrzení těchto patogenů nutno provést validní výtěr z nosohltanu.

Příprava před odběrem

Nejméně 1 hodinu před odběrem nejíst, nekouřit – ideální je odběr ráno nalačno před provedením hygieny dutiny ústní. Výplach antiseptiky před odběrem je kontraindikovaný – může významně ovlivnit růst mikroorganismů.

Odběrová souprava

Vhodná je souprava s transportní půdou, která zajistí přežití mikroorganismů před doručením do laboratoře – např. AMIES s aktivním uhlím. U malých dětí je vhodné použít odběrovou soupravu AMIES s aktivním uhlím na drátku s menším průměrem tampónu:



Způsob odběru

Sterilním odběrovým tampónem setřít valivým pohybem povrch obou tonzil, případně hnisavých ložisek, čepů, ulcerací. Dále je vhodné setřít patrové oblouky a zadní stěnu hltanu. Je nutné vyhnout se okolní bukalní sliznici a kořeni jazyka z důvodu kontaminace běžnou bakteriální flórou.

Doporučujeme přitlačit jazyk špachtlí a vyzvat pacienta k vyslovení dlouhého „á“. Ihned po odběru zasuneme tampon do transportní půdy.

U pacientů po tonsilektomii stíráme zadní stěnu hltanu.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

V ideálním případě transportovat do laboratoře ihned po odběru.

Maximální doba uchovávání po odběru je **24 hod při pokojové teplotě**. Delší doba uchovávání způsobuje úhyn citlivých patogenů a přerůstání gramnegativními tyčkami, příp. kvasinkami.

Transport při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20 °C) – doba transportu by neměla přesáhnout 2 hodiny.

Doba odezvy

Podle nálezu **2-5 dnů**.

Negativní nález do **48 hod** („Běžná bakteriální flóra“)

Předběžný výsledek po **24 hod**.

Výtěr z nosu

Popis vyšetření

Výtěr z nosu se nejčastěji provádí za účelem diagnostiky nosičství *Staphylococcus aureus*, případně *MRSA* (Methicilin Rezistentní *S.aureus*). Nosičství je velmi často bezpříznakové a není indikací k léčbě, význam má epidemiologický (nejčastěji předoperační vyšetření.....).

Nález mikroorganismů v čisté kultuře může svědčit pro lokální infekci – *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

* Výsledek vyšetření není validní v diagnostice zánětů vedlejších nosních dutin ani horních cest dýchacích!
Příprava před odběrem
Před odběrem není vhodné kapat do nosu kapky s obsahem antimikrobiálních látek.
Odběrová souprava
Vhodná je souprava s transportní půdou, která zajistí přežití mikroorganismů před doručením do laboratoře – např. AMIES s aktivním uhlím. U malých dětí je vhodné použít odběrovou soupravu AMIES s aktivním uhlím na drátku s menším průměrem tampónu:

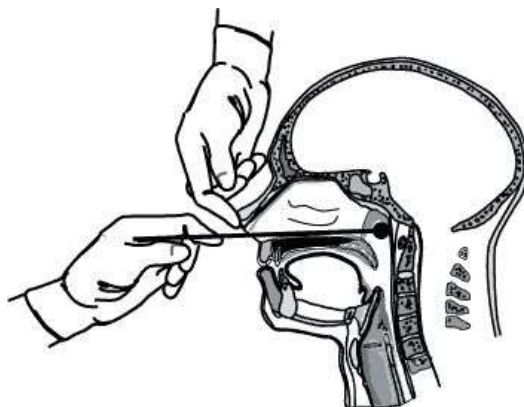
Způsob odběru
Sterilním odběrovým tampónem setřít sliznici obou nosních průduchů rotačním pohybem cca 1-2 cm hluboko. Poté zasuneme tampón do transportní půdy.
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře
V ideálním případě transportovat do laboratoře ihned po odběru. Maximální doba uchovávání po odběru je 24 hod při pokojové teplotě . Transport při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20° C) – doba transportu by neměla přesáhnout 2 hodiny.
Doba odezvy
Podle nálezu 2-4 dny . Negativní nález do 48 hod („Běžná bakteriální flóra“) Předběžný výsledek po 24 hod .
Výtěr z nosohltanu
Popis vyšetření
Tento způsob odběru je validním pro kultivační průkaz <i>Bordetella pertussis</i> a <i>parapertussis</i> , případně nosičství <i>Neisseria meningitidis</i> . Odběr nutno konzultovat s laboratoří – nutnost objednání speciálních kultivačních půd. Po dohodě je možno dodat kultivační půdy přímo do ordinace a inokulovat výtěr na půdu ihned (vyšší šance na záchyt citlivého patogena).
Příprava před odběrem
Odběr provádět 2-3 hodiny po jídle nebo nalačno ráno před provedením hygieny dutiny ústní Před odběrem není vhodné kapat do nosu kapky s obsahem antimikrobiálních látek ani vyplachovat ústa antiseptiky
Odběrová souprava
Souprava AMIES s aktivním uhlím na drátku s menším průměrem tampónu:

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020



Způsob odběru

Nosem: odběrový tampon na drátku se ohne o vnitřní okraj odběrové zkumavky (sterilně!) do tupého úhlu (cca 120°) ve vzdálenosti cca 3 cm od konce. Před odběrem je vhodné se pacienta dotázat na pocit ucpaného nosu, odebírat z nosního průduchu, který pacient vnímá jako lépe průchodný. Tampón jemně zasouváme přes nosní průduch těsně podél nosní přepážky a po spodní stěně nosní dutiny až k zadní stěně nosohltanu (pro představu-délka zasunuté části drátku přibližně odpovídá vzdálenosti nosní křídlo - tragus). Několikrát jemně pootočíme a tampón vytáhneme. U dětí je nutná fixace, odběr je velmi nepříjemný. Poté se tampon vyjme, ohne se zpět do rovné polohy o okraj zkumavky a zanoří do transportního média. Tento způsob odběru má nejvyšší výtěžnost.



Ústy: odběrový tampon na drátku se ohne o vnitřní okraj odběrové zkumavky (sterilně!) do pravého úhlu (cca 90°) ve vzdálenosti cca 3 cm od konce. Opatrně se zavede za patrové oblouky tak, aby nedošlo ke kontaktu se sliznicí ústní dutiny a jazyka. Pro snazší provedení odběru se použije špachtle, kterou se stlačí kořen jazyka. Konec tamponu se poté otočí vzhůru a provede se stěr ze zadní stěny nosohltanu. Následně se tampon (opět bez dotyku s okolní sliznicí) vyjme, ohne se zpět do rovné polohy o okraj zkumavky a zanoří se do transportního média.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Uchovávání se nedoporučuje, patogen je velmi citlivý a je nutná co nejrychlejší inokulace na kultivační půdy. **Transport do 2hod po odběru při pokojové teplotě.**

Doba odezvy

Kultivace prodloužená na 5 dní. Výsledek do 7 dnů.

Stěr z dutiny ústní, jazyka, ústních koutků

Popis vyšetření

Toto vyšetření je indikováno při ověření diagnózy kandidózy dutiny ústní (soor), případně kolonizace sliznice epidemiologicky významnými mikroorganismy. Příčinou dysmikrobie (narušení ekosystému běžné bakteriální flóry) je nejčastěji porucha imunity, terapie antibiotiky, oslabení organismu z nejrůznějších příčin.

Příprava před odběrem

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Odběr provádět 2-3 hodiny po jídle nebo nalačno ráno před provedením hygieny dutiny ústní
Před odběrem není vhodné vyplachovat ústa antiseptiky.

Odběrová souprava

Souprava AMIES s aktivním uhlím:



Způsob odběru

Odběrovým tamponem provedeme důkladný stěr bukalní sliznice, ústních koutků, jazyka – podle lokalizace patologických projevů (ložiska sooru, zánětlivé eflorescence.....). Po odběru zasuneme tampón do transportní pudy.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

V ideálním případě transportovat do laboratoře ihned po odběru.

Maximální doba uchovávání po odběru je **24 hod při pokojové teplotě**.

Transport při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20°C) – doba transportu by neměla přesáhnout 2 hodiny.

Doba odezvy

Podle nálezu **2-4 dny**.

Negativní nález do **48 hod** („Běžná bakteriální flóra“)

Předběžný výsledek po **24 hod**

Cílená kultivace *Neisseria meningitidis*

Popis vyšetření

Toto vyšetření je indikováno při zjišťování nosičství kmene *Neisseria meningitidis*, nejčastěji z epidemiologických důvodů. Nejčastěji je doporučováno vyšetření výtěru z krku, nosu, sputa, případně kožních eflorescencí (tekutiny z petechií).....

Příprava před odběrem

Podle typu odebraného materiálu

Odběrová souprava

Souprava AMIES s aktivním uhlím:



Způsob odběru

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Podle typu vyšetření - dle metodiky pro jednotlivé materiály
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře
Maximální doba uchovávání po odběru je 24 hod při pokojové teplotě . Transport: při pokojové do 2 hodin. Ideální je načasování odběru tak, aby mohl být rovnou zaslán do laboratoře z důvodu citlivosti mikroorganismu na vnější podmínky.
Doba odezvy
Podle nálezu 2-3 dny . Negativní nález do 48 hod („Cílená kultivace <i>Neisseria meningitidis</i> negativní“)

DOLNÍ CESTY DÝCHACÍ

Sputum
Popis vyšetření
Dobře odebraný vzorek sputa může být přínosem v diagnostice zánětů dolních cest dýchacích (bronchitis acuta s bakteriální superinfekcí, akutní exacerbace CHOPN, bronchopneumonie, pneumonie). Nejčastějším původcem <u>komunitní pneumonie</u> je <i>Streptococcus pneumoniae</i>, ale úspěšnost kultivace bývá většinou nízká z důvodu velké citlivosti mikroba na vnější podmínky a dlouhý transport. Odebraný vzorek může být významně ovlivněn přítomnou mikroflórou dutiny ústní, stejně jako přerůstáním gramnegativními tyčkami při dlouhodobějším transportu. Proto je třeba výsledek vyšetření vždy interpretovat s ohledem na klinický stav, kvalitu odběru a délku transportu. <u>Pneumonie u hospitalizovaných pacientů</u> mohou být vyvolány poměrně velkým spektrem původců v závislosti na základních a přidružených diagnózách (CHOPN, předchozí onemocnění virem chřipky, cystická fibróza, diabetes mellitus, terapie kortikosteroidy.....), zásadním rizikovým faktorem je mechanická ventilace pacienta. Hodnocení nálezu u hospitalizovaného pacienta by mělo být vždy individuální s ohledem na konkrétní stav, ideální je konzultace s laboratoří. Důležité je zhodnocení mikroskopického vyšetření sputa barveného dle Grama, které se provádí u každého vzorku. Podle přítomnosti dlaždicových epitelů a leukocytů a jejich vzájemného poměru je možno usuzovat na kvalitu odebraného materiálu a výpovědní hodnotu výsledku kultivace. Pokud převažují leukocyty a nejsou přítomny (případně pouze v malé kvantitě) dlaždicovité epitely z horních dýchacích cest, jedná se o správně odebrané sputum. Pokud jsou v převaze dlaždicovité epitely a leukocyty chybí nebo jsou jen ojediněle, nejedná se pravděpodobně o validně odebraný vzorek a je nutno k tomu přihlížet při interpretaci výsledku kultivace. Někdy jsou v preparátu viditelné mikroorganismy, které kultivačně nezachytíme – pravděpodobně se jedná o mrtvé nebo velmi oslabené bakterie (důsledek ATB léčby, dlouhého transportu, nevhodných podmínek skladování). Množství mikroorganismů ve sputu hodnotíme kvantitativně. Sputum homogenizujeme, ředíme a vyhodnocujeme růst v jednotlivých ředěních. Kvantita patogenu může být ale ovlivněna předchozí

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

antibiotickou terapií, přerůstáním kontaminující mikroflóry, případně kvalitou odběru. Ve výsledku uvádíme kvantitu mikroorganismu a růst v ředění 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} .

Čím delší byla doba od odběru k doručení do laboratoře, tím je pravděpodobnější, že nezachytíme původce onemocnění, ale přerůstající mikroby, především gramnegativní tyčinky a kvasinky. Interpretace takového nálezu musí být opatrná a tento kultivační nález rozhodně není vždy indikací k terapii antibiotiky.

Hodnocení nálezu podle kvantity mikroorganismů

Růst v ředění 10^{-3} : pravděpodobně se nejedná o infekci DCD

Růst v ředění 10^{-5} : pravděpodobně se jedná o infekci DCD

Růst v ředění 10^{-7} : jedná se o infekci DCD

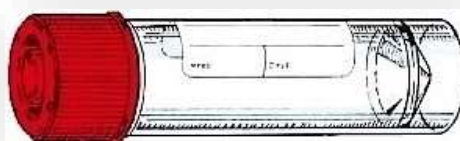
Příprava před odběrem

Pacient by měl vypláchnout ústa důkladně čistou vodou, případně si vyčistit zuby, vyjmout zubní protézu – cílem je co největší snížení počtu kontaminující mikroflóry z dutiny ústní.

Pokud není pacient schopen spontánního vykašlání, je možné vyzkoušet odběr **indukovaného sputa**. Toto se odebírá po předchozí inhalaci 25ml 3-10% roztoku NaCl.

Odběrová souprava

Sterilní kontejner se šroubovacím uzávěrem: „sputovka“



Způsob odběru

Správně provedený odběr je naprosto zásadní pro výtěžnost vyšetření!

Pokud je to možné, odběr by se měl provádět **před nasazením terapie antibiotiky**, probíhající léčba antibiotiky může výrazně negativně ovlivnit výsledek kultivačního vyšetření.

Ideální je **odběr ranního sputa**. Pacient se zhluboka nadechne a zakašle. Vykašlané sputum zachytí do sterilní odběrové nádoby. Sputum by mělo být vazké a obsahovat hnisavé vločky, **sliny nebo hlen nejsou k vyšetření vhodné**. **Objem odebraného materiálu cca 1ml.**

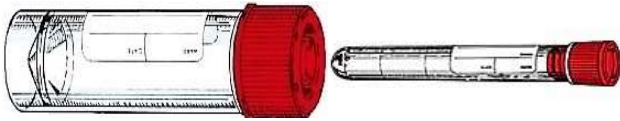
Při odběru indukovaného sputa se vykašlání provádí po skončení inhalace.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

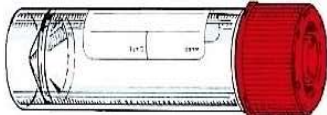
Je-li to možné, je ideální okamžitý transport do laboratoře, aby byla šance úspěšně vykultivovat i citlivé původce (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*). Jako bezpečná doba z hlediska přežití patogenů je stanoveno uchovávání po dobu cca **2 hodin při pokojové teplotě**. Pokud je transport zpožděný, maximální doba od odběru vzorku k doručení do laboratoře je **24 hodin**, v tom případě je vhodnější skladování při **chladničkové teplotě**. Transport by měl proběhnout při **chladničkové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20° C)** do 2 hodin. Sputovky musí být pevně zašroubovány tak, aby nemohlo během transportu dojít k rozlití vzorku a kontaminaci odběrové nádoby. Žádanky musí být uloženy bezpečně mimo tak, aby nemohly být potřísněny, nejlépe zvlášť v nepropustném igelitovém sáčku.

Rozlití vzorku a potřísnění žádanek může být důvodem k odmítnutí zpracování vzorku!

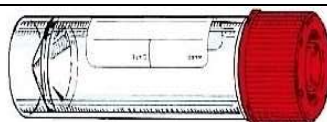
Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Doba odezvy
Podle nálezu 2-5 dnů . Negativní nález do 48 hod Předběžný výsledek po 24 hod
Endotracheální aspirát
Popis vyšetření
Jedná se odběr materiálu získaného odsátím z tracheostomie nebo intubační rourky u uměle ventilovaných pacientů. Relevantní výsledky pro predikci ventilátorové pneumonie jsou v časně fázi umělé ventilace (první 2 týdny), později dochází ke zkreslení nálezu vlivem kolonizujících mikroorganismů. Jako signifikantní kvantita nálezu pro indikaci ventilátorové pneumonie je uváděna hodnota 10⁵ – 10⁶ CFU/ml
Příprava před odběrem
Není speciální příprava před odběrem.
Odběrová souprava
Odsátý sekret je možno zaslat ve sterilní zkumavce nebo sputovce. 
Způsob odběru
Odsátí sekretu z tracheostomie nebo intubační rourky u ventilovaného pacienta.
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře
Vzorek je možno uchovávat při pokožové teplotě maximálně 24 hodin , transport do laboratoře je doporučený při pokojové teplotě do 2hodin.
Doba odezvy
Podle nálezu 2-5 dnů . Negativní nález do 48 hod . Předběžný výsledek po 24 hod
Bronchiální výplach
Popis vyšetření
Jedná se o materiál získaný z velkých bronchů při bronchoskopickém vyšetření. Výplach se zpravidla provádí instilací sterilního fyziologického roztoku do bronchu a následným odsátím. Cílem kultivačního vyšetření je průkaz původce zánětu. Při tomto způsobu odběru může dojít ke kontaminaci materiálu orofaryngeální flórou. Laboratoř provádí mikroskopické a kultivační vyšetření vzorku po centrifugaci s následným kvantitativním vyhodnocením kultivačního nálezu.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Jako signifikantní kvantita nálezu je stanoveno množství	
10⁵CFU/ml	
Příprava před odběrem	
Pacient se připravuje dle metodiky pro bronchoskopické vyšetření.	
Odběrová souprava	
Sterilní kontejner se šroubovacím uzávěrem: „sputovka“	
	
Způsob odběru	
Materiál se získává při bronchoskopii, kdy je po zavedení bronchoskopu aspirováno malé množství fyziologického roztoku vstříknutého do dýchacích cest. Požadované množství vzorku není specifikováno, upřednostňujeme větší množství (plnou sputovku, pokud je to technicky možné). Šance na záchyt patogena se tím zvýší.	
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře	
Je-li to možné, je ideální okamžitý transport do laboratoře, aby byla šance úspěšně vykultivovat i citlivé původce (<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus spp.</i>). Jako bezpečná doba z hlediska přežití patogenů je stanoveno uchovávání po dobu cca 2 hodin při pokojové teplotě . Pokud je transport zpožděný, maximální doba od odběru vzorku k doručení do laboratoře je 24 hodin , v tom případě je vhodnější skladování při chladničkové teplotě . Transport by měl proběhnout při chladničkové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20° C) do 2 hodin. Sputovky musí být pevně zašroubovány tak, aby nemohlo během transportu dojít k rozlití vzorku a kontaminaci odběrové nádoby. Žádanky musí být uloženy bezpečně mimo tak, aby nemohly být potřísněny, nejlépe zvláště v nepropustném igelitovém sáčku.	
<u>Rozlití vzorku a potřísnění žádanek může být důvodem k odmítnutí zpracování vzorku!</u>	
Doba odezvy	
Podle nálezu 2-5 dnů .	
Negativní nález do 48 hod.	
Předběžný výsledek po 24 hod.	
Bronchoalveolární laváž	
Popis vyšetření	
Jedná se o materiál získaný cíleným výplachem segmentu plic postiženého zánětem k potvrzení diagnózy pneumonie. Jako signifikantní kvantita je stanoveno množství	
10⁴CFU/ml	
Příprava před odběrem	
Pacient se připravuje dle metodiky pro bronchoskopické vyšetření.	
Odběrová souprava	
Sterilní kontejner se šroubovacím uzávěrem: „sputovka“	

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020



Způsob odběru

Materiál se získává při bronchoskopii flexibilním bronchoskopem, kdy je po zavedení bronchoskopu do segmentálního nebo subsegmentálního bronchu pacientovi proveden výplach instilací a následnou aspirací cca 50 ml sterilního fyziologického roztoku. Ideální množství zaslaného materiálu je cca **10ml**.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Je-li to možné, je ideální okamžitý transport do laboratoře, aby byla šance úspěšně vykultivovat i citlivé původce (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus spp.*). Jako bezpečná doba z hlediska přežití patogenů je stanoveno uchovávání po dobu cca **2 hodin při pokojové teplotě**. Pokud je transport zpožděný, maximální doba od odběru vzorku k doručení do laboratoře je **24 hodin**, v tom případě je vhodnější skladování při **chladničkové teplotě**. Transport by měl proběhnout při **chladničkové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20°C)** do 2 hodin. Sputovky musí být pevně zašroubovány tak, aby nemohlo během transportu dojít k rozlití vzorku a kontaminaci odběrové nádoby. Žadanky musí být uloženy bezpečně mimo tak, aby nemohly být potřísněny, nejlépe zvláště v nepropustném igelitovém sáčku.

Rozlití vzorku a potřísnění žadanek může být důvodem k odmítnutí zpracování vzorku!

Doba odezvy

Podle nálezu **2-5 dnů**.

Negativní nález do **48 hod.**

Předběžný výsledek po **24 hod.**

Stěr z tracheostomie

Popis vyšetření

Jedná se o materiál získaný stěrem ze zavedené tracheostomie. Výsledek vyšetření je kvalitativní, kvantitu neurčujeme.

Příprava před odběrem

Bez speciální přípravy.

Odběrová souprava

Souprava Amies s aktivním uhlím



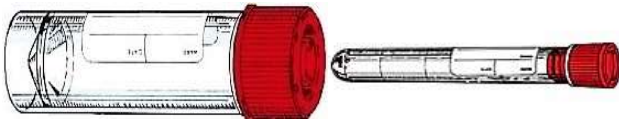
Způsob odběru

Stěr ze zavedené tracheostomie, případně okolí.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Uchovávání doporučujeme do 24 hodin při pokojové teplotě, transport do laboratoře co nejdříve

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

v chlazeném přepravním boxu (4-20° C).
Doba odezvy
Podle nálezu 2-5 dnů . Negativní nález do 48 hod . Předběžný výsledek po 24 hod .
Průkaz antigenu <i>Legionella pneumophila</i> (sérotyp 1) v moči
Popis vyšetření
Pomocné vyšetření při diagnóze pneumonie vyvolané <i>Legionella pneumophila</i> sérotyp 1. Antigen <i>L. pneumophila</i> sérotyp 1 je v moči přítomen již po třech dnech po prvních příznacích onemocnění a je vylučován po celou dobu onemocnění. Perzistuje až 1 rok po prodělaném onemocnění, proto jeho pozitivita musí být vyhodnocena současně s ostatními klinickými a laboratorními nálezy. Může znamenat probíhající i dříve proběhlé onemocnění. Test odhalí pozitivitu pouze v případě, že pacient vylučuje <i>L. pneumophila</i> sérotyp 1 (cca 70% pacientu s pneumonií vyvolanou <i>L. pneumophila</i>). Ostatní sérotypy nejsou tímto testem zachyceny.
Příprava před odběrem
Pacient by neměl být léčen antibiotiky, tato léčba může znamenat falešně negativní nález.
Odběrová souprava
Sterilní kontejner se šroubovacím uzávěrem: „sputovka“ nebo sterilní zkumavka 
Způsob odběru
Pacient odebere cca 5ml středního proudu moče.
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře
Vzorek moči může být uchováván 24 hodin při pokojové teplotě , pokud je potřeba delšího skladování, výrobce doporučuje vzorek moče uchovávat při teplotě 2-8° C, případně zamrazit (až na dobu 14 dnů) . Transport při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20° C)– pokud možno do 2 hod.
Doba odezvy
Výsledek je k dispozici v den odběru, v případě požadavku na STATIM vyšetření do 1hodiny po doručení do laboratoře. Pozitivní výsledek laboratoř hlásí odebírajícímu pracovišti (lékaři).

UROGENITÁLNÍ TRAKT

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Kultivace moče

Popis vyšetření

Identifikace původce infekce močových cest, stanovení jeho kvantity a citlivosti na antibiotika v případě výskytu v signifikantní kvantitě.

Ze vzorku vždy připravujeme mikroskopický preparát barvený dle Grama – orientační vyšetření o přítomnosti mikroorganismů a leukocytů.

Ke kultivaci je možno zasílat moč spontánně vymočenou do sterilní odběrové nádoby, moč získanou jednorázovou katetrizací močového měchýře, moč z permanentního katetru, moč získanou suprapubickou punkcí, URICULT.

Příprava před odběrem spontánně vymočené moči

Před odběrem je nutno pacienta poučit o správné technice odběru, ta je naprosto zásadní pro validní výsledek!!

Muž: po přetažení předkožky důkladně omýt glans penis a ústí uretry vodou a mýdlem, osušit buničinou.

Žena: důkladné omytí zevního genitálu a oblasti uretry vodou s mýdlem, osušení buničinou.

Pokud není provedeno omytí genitálií, většinou dojde ke kontaminaci vzorku rezidentní flórou a není možno hodnotit výsledek (nejčastěji se jedná o směs mikrobů ve velké kvantitě).

Výsledek kultivace může být významně ovlivněn terapií antibiotiky (falešná negativita), odběr by měl být proveden před nasazením terapie.

Odběrová souprava

Sterilní kontejner se šroubovacím uzávěrem – „sputovka“, nebo sterilní plastová zkumavka s víčkem. URICULT s kultivační půdou.

Pozn. Vyvařené lékovky a podobné odběrové nádoby nejsou považovány za sterilní!



Způsob odběru

- * **Moč střední proud:** doporučeno při podezření na cystitidu (zánět močového měchýře)
- * Při podezření na infekci prostaty odebíráme poslední porci moče

Odebírá se první ranní moč, pacient se vymočí do sterilní nádoby s nálevkou tak, že první porci vymočí do toaletní mísy, střední proud do nádoby a poslední porci opět do toalety. Moč potom přelije do sterilní odběrové nádoby.

U ženy je důležité oddálení labií při močení, aby nedošlo ke kontaminaci slizniční flórou.

Doporučené množství **5 ml** moči, minimálně 2 ml.

- * **Cévkovaná moč:**

Po pečlivém omytí zevního genitálu vodou a mýdlem se asepticky zavádí močová cévka do močového

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

měchýře. Aseptické podmínky jsou velmi důležité, touto technikou může dojít k zavlečení infekce do močových cest!

Je možné odebrat moč i z nově zavedeného permanentního katetru.

Po zavedení cévky se nechá první porce moči (cca 10-15 ml) odtéct a následně odebereme do sterilní zkumavky nebo kontejneru vzorek ke kultivaci.

*** Permanentní močový katetr:**

Odběr z permanentně zavedeného močového katetru provádíme po rozpojení uzavřeného drenážního systému přímo z katétru. Moč z katétru se odebírá sterilní jednorázovou jehlou na jednorázové stříkačce, která je zavedena do katétru po předchozí desinfekci jeho vstupu 70% alkoholem. Není možné zasílat moč ze sběrného sáčku! Při rozpojení a následném spojení drenážního systému dbáme na minimalizaci kontaminace z vnějšího prostředí, především rukama personálu – desinfekce rukou před i po odběru, sterilní rukavice.

Pro diagnózu infekce močových cest není odběr z permanentního katétru vhodný kvůli masívní kolonizaci lumen katetru mikroorganismy, ke které dochází u déle zavedených katetrů. Může se jednat o prostou kolonizaci, která ovšem představuje významný rezervoár infekce (často rezistentními kmeny), k rozvoji močové infekce může dojít z tohoto zdroje u déle zavedených katetrů (10 a více dnů). Pokud má pacient se zavedeným permanentním katetrem klinickou symptomatologii odpovídající močové infekci, je indikována výměna PMK.



Uricult je komerčně dodávaná odběrová souprava s kultivační půdou, která se používá v případě, kdy není možné dopravit moč do laboratoře včas podle doporučených podmínek preanalytické fáze.

Pacient se vymočí do sterilní odběrové nádoby, do moči ponoříme destičku s kultivačními půdami, případně ji močí polijeme. Celý povrch agraru (půdy) by měl být pokryt močí. Přbytek moči necháme okapat na buničinu nebo savý papír - pozor, nedotýkat se kultivační půdy, je nutno zachovat sterilitu odběru. Destičku potom pevně zašroubujeme zpět do odběrové nádoby, nalepíme štítek s identifikačními údaji pacienta, datem a časem odběru a ponecháme při pokojové teplotě.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020



Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Uchovávání:

MOČ: maximálně 24 hod, při **chladničkové teplotě**

URICULT: maximálně 48 hod, při **pokojevé teplotě**

Transport:

MOČ: v chlazeném přepravním boxu do 2 hodin

URICULT: při pokojové teplotě do 2 hodin

Interpretace nálezu

Mezi typické **primární patogeny** (jsou schopny vyvolat infekci u zdravých jedinců s normálním močovým ústrojím) patří *Escherichia coli* a *Staphylococcus saprophyticus*.

Sekundárními patogeny (výjimečně působí infekci u zdravých jedinců, ale významně se podílí na infekcích nosokomiálního původu) jsou *enterokoky*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, **ostatní G-tyčky včetně nefermentujících**, *Staphylococcus aureus*.

Nepravděpodobné patogeny jsou *Streptococcus agalactiae* u žen (je třeba ověřit vaginální nosičství), **kvasinky a koaguláza negativní stafylokoky** (většinou kontaminace nebo kolonizace).

Jako normální flóru v močových cestách hodnotíme viridující streptokoky, laktobacily, *Gardnerella vaginalis*, příp. difteroidní tyčinky.

Přítomnost mikroorganismů vyhodnocujeme kvantitativně: 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5

PATOGENY	$10^3/\text{ml}$	$10^4/\text{ml}$	$10^5/\text{ml}$
PRIMÁRNÍ	SIGNIFIKANTNÍ	SIGNIFIKANTNÍ	SIGNIFIKANTNÍ
		Při klinicky	Při klinicky

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

	(při nález 1-2 druhů) Při klinicky symptomatické močové infekci	<i>symptomatické močové infekci</i>	<i>symptomatické močové infekci a asymptomatické bakteriurii</i>
SEKUNDÁRNÍ	SIGNIFIKANTNÍ u mužů (při nález 1 druhu) <i>Při klinicky symptomatické močové infekci</i>	SIGNIFIKANTNÍ u žen (při nález 1 druhu) <i>Při klinicky symptomatické močové infekci</i>	SIGNIFIKANTNÍ (při nález 2 druhů) <i>Při klinicky symptomatické močové infekci</i>
NEPRAVDĚPODOBNÉ	NESIGNIFIKANTNÍ	NESIGNIFIKANTNÍ	SIGNIFIKANTNÍ (při nález 1 druhu) <i>Při klinicky symptomatické močové infekci</i>
Převzato z Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici, V.Jindrák, D. Hedlová, P. Urbášková a kol., Mladá fronta 2014; 306			

Doba odezvy

Negativní nález – **24 hod** – „Bez nález mikroorganismů“.

Při nález mikroorganismů v signifikantní kvantitě nejméně **48 hodin**, podle charakteru nález až **4 dny**.

Při nález směsi mikroorganismů (3 a více druhů) většinou uzavíráme nález po 24 hodinách jako „**Směs mikrobů**“. Je pravděpodobná kontaminace při odběru nebo nedodržení podmínek preanalytické fáze (pozdní dodání do laboratoře), doporučujeme opakovaný odběr.

Výtěr z pochvy a cervixu

Popis vyšetření

Diagnostika bakteriálních infekcí pochvy a cervixu.

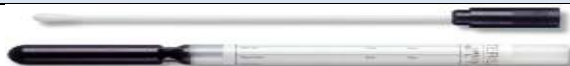
Základní vyšetření zahrnuje i cílenou kultivaci *Gardnerella vaginalis* a cílenou kultivaci na kvasinky.

Anaerobní kultivaci standardně neprovádíme, tento požadavek je nutno vyznačit na žádanku.

Příprava před odběrem

Před odběrem by neměly být aplikovány lokální antimikrobiální přípravky.

Odběrová souprava



Tampon na plastové tyčince s Amiesovým médiem s aktivním uhlím

Způsob odběru

Odběr by měl být prováděn na specializovaném pracovišti s využitím gynekologických zrcadel. Tampon pro výtěr z pochvy se zasune do zadní klenby poševní a valivým pohybem setře povrch

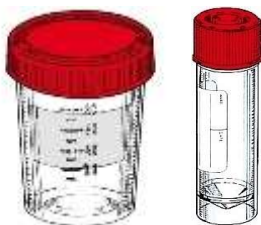
Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

sliznice. Ihned po odběru se tampon zasune do transportní půdy. Stěr z cervixu se provádí po odstranění hlenové zátky z ústí cervixu tamponem, který se po použití vyhodí. Následně je nový odběrový tampon zasunut do cervikálního kanálu a proveden důkladný výtěr. Ihned po odběru se tampon zasune do transportní půdy. Kultivační vyšetření se doporučuje doplnit nátěrem na 2 podložní sklíčka – MOP, trichomonády. Nátěr se provádí novým tampónem, sklíčka se před transportem nechají zaschnout při pokojové teplotě.
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře
Uchovávání 24 hodin při pokojové teplotě. Při podezření na infekci <i>Neisseria gonorrhoeae</i> je nutný okamžitý transport z důvodu velké citlivosti patogena. Transport do 2 hod při pokojové teplotě.
Doba odezvy
2-4 dny, při požadavku na anaerobní kultivaci až 6 dnů.

Výtěr z uretry	
Popis vyšetření	
Diagnostika bakteriálních infekcí uretry. Základní vyšetření zahrnuje i cílenou kultivaci <i>Gardnerella vaginalis</i>. Anaerobní kultivaci standardně neprovádíme, tento požadavek je nutno vyznačit na žádanku.	
Příprava před odběrem	
Odběr by měl být proveden alespoň jednu hodinu po vymočení, před odběrem je vhodné otřít ústí močové trubice.	
Odběrová souprava	
 Tampon na drátku s Amiesovým médiem s aktivním uhlím	
Způsob odběru	
U muže: Tampon na drátku zavedeme cca 2-4 cm do ústí uretry a šroubovitým pohybem provedeme stěr. Ihned po odběru zanoříme tampon do transportní půdy. Při odběru se vyvarujeme kontaktu s předkožkou.	
U ženy: Tampon na drátku zavedeme několik mm do ústí uretry a vytáhneme. Ihned po odběru zanoříme	

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

tampon do transportní půdy. Při odběru se vyvarujeme kontaktu s vulvou.
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře
Uchovávání 24 hodin při pokojové teplotě. Při podezření na infekci <i>Neisseria gonorrhoeae</i> je nutný okamžitý transport z důvodu velké citlivosti patogena. Transport do 2 hod při pokojové teplotě.
Doba odezvy
2-4 dny, při požadavku na anaerobní kultivaci až 6 dnů.

Ejakulát (sperma)
Popis vyšetření
Diagnostika bakteriálních infekcí urogenitálního traktu. Základní vyšetření zahrnuje i cílenou kultivaci <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>kvasinek</i> , anaerobní kultivaci.
Příprava před odběrem
Před odběrem je vhodné omýt ústí glans penis k minimalizaci kontaminace bakteriální flórou z ústí močové trubice. Materiál je získán masturbací a odebraný do sterilní odběrové nádoby.
Odběrová souprava
 <u>Sterilní</u> kontejner se šroubovacím uzávěrem – „sputovka“, nebo <u>sterilní</u> plastová zkumavka s víčkem.  Tampon na drátku nebo plastové tyčince s Amiesovým médiem s aktivním uhlím
Způsob odběru
K vyšetření je možno zaslat ejakulát v tekuté formě, pokud není možno zaslat celou porci ejakulátu, doporučujeme odběr na sterilní tampon a zaslání v transportním médiu.
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře
Uchovávání 24 hodin při pokojové teplotě. Při podezření na infekci <i>Neisseria gonorrhoeae</i> je nutný okamžitý transport z důvodu velké citlivosti patogena. Transport do 2 hod při pokojové teplotě.
Doba odezvy

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Minimální doba odezvy **2 dny**, při pozitivní anaerobní kultivaci **4-5 dnů**.

Urogenitální mykoplazmata	
Popis vyšetření	
Metoda umožňuje průkaz <i>Ureaplasma urealyticum/parvum</i> a <i>Mycoplasma hominis</i>, určení kvantity nálezu a citlivosti k antimikrobiálním látkám ve výtěrech z cervixu, vaginy, uretry, spermatu nebo první ranní moči. Tyto mikroorganismy mohou být původci genitálních infekcí mužů i žen, příčinou neplodnosti, komplikací v těhotenství a při porodu, extragenitálních infekcí (artritidy....). Interpretace: kvantitativní hodnocení nálezu je důležité pro odlišení kolonizace a infekce. Patologický práh: • výtěry z uretry, cervixu $\geq 10^4$ CFU/ml, • první ranní moč a sperma $\geq 10^3$ CFU/ml Současně testujeme citlivost na antibiotika volby (dle kritérií CLSI).	
Příprava před odběrem	
Neaplikovat lokální antimikrobiální preparáty před odběrem.	
Odběrová souprava	
	Transportní médium UMMT ELitech MICROBIO  Tampon pro otření sliznice:
Tampon pro výtěr z vaginy, cervixu:	
Tampon pro výtěr z uretry:	
Způsob odběru	
Správný odběr je zásadní pro výtěžnost vyšetření! K odběru používejte tampóny dodávané laboratoří společně s lahvičkami transportního média. Odběrový tampón po odběru vytřepeme v médiu, zalomíme, uzavřeme lahvičku. Výtěr z cervixu, vaginy: cervix nejprve oťreme prvním tampónem, abychom odstranili hlen na sliznici. Potom použijeme speciální endocervikální kartáček, kterým sliznici důkladně setřeme, urogenitální mykoplazmata vykazují silnou adhezenci k slizničním buňkám, proto je nutno provést odběr razantně.	

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Výtěr z uretry: otřeme povrch uretry, potom zavedeme do uretry speciální odběrový uretrální tampón a důkladně vytřeme. U mužů je doporučena předchozí masáž prostaty pro odběr prostatického sekretu.

Sperma (ejakulát), moč: odebrat do sterilní odběrové nádoby (zkumavky) a inokulovat 300 µl do transportního média.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

V lahvičce s transportním médiem.

20 hod při pokojové teplotě.

56 hod při chladničkové teplotě.

Transport do 2 hod při pokojové teplotě.

Doba odezvy

Výsledek je k dispozici druhý den po dodání vzorku do laboratoře (24 hodin).

Antigen *Chlamydia* spp.

Popis vyšetření

Metoda umožňuje rychlou kvalitativní detekci chlamydií v klinickém materiálu (endocervikální stěry u žen, výtěry z uretry nebo moč od mužů, stěr ze spojivky při podezření na chlamydiovou konjunktivitidu). Princip metody je imunochromatografický, jedná se o přímou detekci patogena v klinickém materiálu.

Chlamydie patří k nejčastějším sexuálně přenosným onemocněním (STD), infekce mohou způsobovat zánětlivé příznaky, ale mohou být i asymptomatické.

Výhodou metody je rychlost (výsledek v den doručení do laboratoře) i vysoká specifita (99%). Negativní výsledek může být způsoben nekvalitně provedeným odběrem. V tom případě doporučujeme opakovat odběr nebo v případě klinické indikace zvolit senzitivnější vyšetření PCR.

Interpretace:

- Pozitivní výsledek vyšetření je známkou přítomnosti antigenu *Chlamydia* spp. (*Ch. trachomatis*, *Ch. pneumoniae* nebo *Ch. psittaci*) ve vyšetřovaném vzorku.
- Vyvolavateli infekcí urogenitálního traktu a Lymphogranuloma venereum je 15 známých sérotypů *Chlamydia trachomatis*). U novorozenců se mohou vyskytnout konjunktivitidy a pneumonie (infekce od matky v průběhu porodu).
- *Chlamydia pneumoniae* vyvolává respirační onemocnění a pneumonie.
- *Chlamydia psittaci* vyvolává respirační onemocnění u osob, které jsou v kontaktu s infikovanými ptáky. Jedná se o primárně zvířecího patogen, nepřenáší se kontaktem z člověka na člověka.

Příprava před odběrem

Není speciální příprava.

Odběrová souprava

Tampon pro otření sliznice:



Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

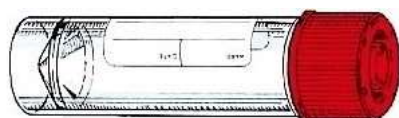
Tampon pro výtěr z cervixu – po odběru ustříhnout a vložit do sterilní zkumavky:



Tampon pro výtěr z uretry mužů:



Zkumavka pro odběr moči u mužů:



Způsob odběru

Správně provedený odběr je zásadní pro výtěžnost vyšetření!

K odběru používejte tampóny dodávané laboratoří.

Výtěr z cervixu: tampón dodaný laboratoří pro endocervikální odběry.

Před vlastním odběrem setřeme jiným sterilním tampónem hlen na cervixu. Poté zavedeme vlastní odběrový tampón do cervikálního kanálu tak, až není vidět jeho špička (na hranici epitelu). Otáčíme tampónem 15-20 sec, abychom získali kvalitní vzorek. Pozor na kontaminaci exocervikálními nebo vaginálními buňkami! Tampón vytáhneme, vložíme jej do sterilní zkumavky bez transportní pudy a zasíláme do laboratoře.

Odběr z uretry: pro odběr použijeme speciální tampón dodávaný laboratoří. Zavedeme jej 2-4 cm do uretry a 3-5 sec otáčíme. Pacient by neměl cca 1 hodinu před odběrem močit! Poté tampón vytáhneme, vložíme do obalu a zasíláme do laboratoře.

Moč u mužů: nejvýtěžnější je vzorek první ranní moči. Doporučené množství je 20-40 ml moči odebrané do sterilní zkumavky (plná zkumavka).

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Uchovávání před transportem:

Suché tampóny ve sterilní zkumavce:

- ☞ 24 hod při pokojové teplotě
- ☞ 7 dnů při chladničkové teplotě (2-8° C)
- ☞ 6 měsíců zamražené (-20° C)

Moč:

Do 24 hod po odběru při chladničkové teplotě (2-8° C)

Transport:

Suché tampóny ve sterilní zkumavce:

- ☞ Při pokojové teplotě do 24 hod po odběru

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

☞ Pokud je doba od odběru delší než 24 hod, **nutný transport v chladícím boxu (2-8°C)**

Doba odezvy

Výsledek je k dispozici v den dodání vzorku do laboratoře.

GBS screening

Popis vyšetření

Cílená kultivace výtěru z pochvy na přítomnost ***Streptococcus agalactiae*** (Group B *Streptococcus*), většinou indikovaná v rámci těhotenského screeningu.

Výsledkem je pozitivita nebo negativita GBS, ostatní mikroflóru nepopisujeme.

Příprava před odběrem

Není vhodné aplikovat lokální antimikrobiální přípravky.

Odběrová souprava



Sterilní tampon zanořený do zkumavky s transportním médiem Amies.

Způsob odběru

Odběr by měl být prováděn na specializovaném pracovišti s využitím gynekologických zrcadel. Tampon pro výtěr z pochvy se zasune do zadní klenby poševní a valivým pohybem setře povrch sliznice.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Uchovávání: 24 hodin při pokojové teplotě

Transport: do 2 hodin při pokojové teplotě nebo v chlazeném transportním boxu (4-20° C).

Doba odezvy

Předběžný výsledek za **24 hodin**.

Definitivní výsledek po pomnožení – **48 hodin** (v případě testování citlivosti u pozitivních vzorků až 72 hodin).

Cílená kultivace *Neisseria gonorrhoeae*

Popis vyšetření

Cílená kultivace *Neisseria gonorrhoeae* z výtěru z cervixu u ženy, případně z uretry u muže.

Příprava před odběrem

Není vhodné aplikovat lokální antimikrobiální přípravky.

Pokud je to možné, odběr provést před nasazením antibiotické terapie.

Odběrová souprava

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Souprava AMIES s aktivním uhlím:



Způsob odběru

Uretra: Tampon na drátku zavedeme cca 2-4 cm do ústí uretry a šroubovitým pohybem provedeme stěr. Ihned po odběru zanoříme tampon do transportní půdy. Při odběru se vyvarujeme kontaktu s předkožkou.

Stěr z cervixu se provádí po odstranění hlenové zátky z ústí cervixu tamponem, který se po použití vyhodí. Následně je nový odběrový tampon zasunut do cervikálního kanálu a proveden důkladný výtěr. Ihned po odběru se tampon zasune do transportní půdy.

Kultivační vyšetření se doporučuje doplnit nátěrem na podložní sklíčko – MOP. Nátěr se provádí novým tampónem, sklíčka se před transportem nechají zaschnout při pokojové teplotě.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Maximální doba uchovávání po odběru je **2 hod při pokojové teplotě**.

Transport: při pokojové teplotě do 2 hodin.

Ideální je načasování odběru tak, aby mohl být rovnou zaslán do laboratoře z důvodu velké citlivosti mikroorganismu na vnější podmínky.

Doba odezvy

Podle nálezu **2-3 dny (u pozitivních testujeme citlivost E-testem)**

Negativní nález do **48 hod** („Cílená kultivace *Neisseria gonorrhoeae* negativní“)

MOP – mikrobiální obraz poševní

Popis vyšetření

Mikroskopický preparát nátěru na sklíčko zhotovený z výtěru z pochvy a barvený dle Grama a Giemsky. Je vhodné zaslat dvě sklíčka pro obě barvení, Giemsovo barvení je cílené pro mikroskopickou diagnostiku *Trichomonas vaginalis*.

Příprava před odběrem

Není speciální příprava.

Odběrová souprava

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020



Mikroskopické sklíčko.

Vatový tampon.

Způsob odběru

Za kontroly gynekologickými zrcadly setřít sliznici zadní klenby poševní tak, aby tampon dostatečně nasákl slizničním sekretem a poté tampon důkladně otřít na mikroskopické sklíčko označené identifikací pacientky (štítek na okraji sklíčka, nepřelepovat přes sklíčko!).

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Nechat zaschnout při pokojové teplotě a zaslat do laboratoře zabalené tak, aby nedošlo během transportu k setření (zabalení do buničiny, transportní obal.....).

Doba odezvy

Do 24 hodin po dodání do laboratoře.

Kultivace *Trichomonas vaginalis*

Popis vyšetření

Cílené vyšetření výtěru z pochvy nebo uretry na přítomnost *Trichomonas vaginalis*.

Příprava před odběrem

Není speciální příprava.

Odběrová souprava



Odběrová tyčinka a zkumavka s kultivačním médiem.

Způsob odběru

Odběr výtěru z pochvy za kontroly gynekologickými zrcadly. Setřít sliznici zadní klenby poševní tak, aby tampon dostatečně nasákl slizničním sekretem.

Výtěr z uretry u muže odebíráme nejlépe ráno před vymočením nebo alespoň 3 hodiny po posledním vymočení. Zásuneme výtěrový tampon cca 2-4 cm do uretry a vytáhneme.

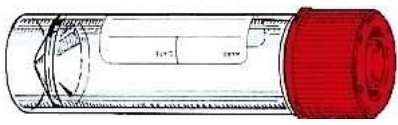
Po odběru tampon zalomíme do kultivačního média a zasíláme do laboratoře.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Uchovávání: maximálně 24 hodin při pokojové teplotě

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Transport: do 2 hodin při pokojové teplotě
Doba odezvy
Celková doba kultivace 5 dnů .

Kultivace intrauterinního tělíska
Popis vyšetření
Kultivace vyjmutého intrauterinního tělíska (IUD) při podezření na bakteriální infekci nebo cílená kultivace <i>Actinomyces israelii</i> . Pokud není na žádance uvedeno jinak, provádíme kompletní kultivační vyšetření materiálu z urogenitálního traktu (aerobní, mikroaerofilní, anaerobní kultivace, cílená kultivace <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i> , kvasinek + cílená kultivace <i>Actinomyces israelii</i> .) Pokud je vyznačena cílená kultivace na aktinomykózu (indikováno u dlouhodobě zavedeného tělíska), kultivujeme cíleně anaerobně 10 dnů.
Příprava před odběrem
Před odběrem by neměly být aplikovány lokální antimikrobiální přípravky.
Odběrová souprava
Sterilní odběrová nádoba, např. sputovka 
Způsob odběru
Vyjmutí provedeno na gynekologickém pracovišti dle metodiky odbornosti.
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře
Materiál by měl být dodán do laboratoře co nejdříve, odběr je nutno naplánovat tak, aby byl doručen v den odběru. Uchovávání a transport při pokojové teplotě. Maximální doba doručení do laboratoře do 12 hod od odběru.
Doba odezvy
10-15 dnů podle nálezu.

GASTROINTESTINÁLNÍ TRAKT

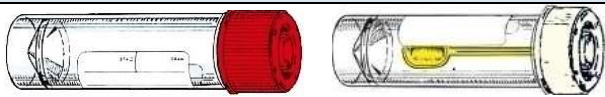
Výtěr z konečníku
Popis vyšetření
Průkaz obligátních bakteriálních střevních patogenů – <i>Salmonella spp.</i> , <i>Shigella spp.</i> , <i>Yersinia</i>

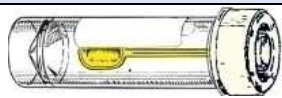
Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

<i>enterocolitica</i>, cílená mikroaerofilní kultivace <i>Campylobacter</i> spp.. U dětí do 2 let rutinně provádíme kultivaci a diagnostiku zaměřenou na <i>enteropatogenní (dyspeptické) E. coli</i> (EPEC). U dětí do 6 let a dospělých nad 60 let rutinně cíleně kultivujeme enterohaemorrhagické <i>E.coli</i> O157. Případný požadavek na vyšetření kvasinkové dysmikrobie nutno vyznačit na žádanku zvlášť. Návraty z ciziny je vhodné vždy telefonicky konzultovat s laboratoří.
Příprava před odběrem
Není speciální příprava.
Odběrová souprava
 Tampon na plastové tyčince s Amiesovým médiem s aktivním uhlím Transportní půda je nutná pro přežití kampylobakterů – pokud obdrží laboratoř výtěr bez transportní půdy, kultivace na <i>Campylobacter</i> spp. nebude provedena.
Způsob odběru
Odběr výtěru z rektu, nejlépe u pacienta klečícího nebo ležícího na boku. Výtěrový tampon zasuneme do konečníku 2-5 cm hluboko, pootočíme, vyjmeme a zašleme v transportní půdě.
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře
Uchovávání: 24 hod, pokojová teplota Transport: do 2 hod při pokojové teplotě nebo v transportním boxu (4-20° C)
Doba odezvy
Standardní doba aerobní a mikroaerofilní kultivace je 48 hodin, pozitivní výsledek většinou k dispozici do 5 pracovních dnů. Nález střevních patogenů podléhajících povinnému hlášení laboratoř automaticky hlásí příslušnému epidemiologickému oddělení KHS.

Průkaz antigenu a toxinů <i>Clostridium difficile</i>
Popis vyšetření
Průkaz antigenu glutamátdehydrogenázy (GDH) a produkce toxinů A/B <i>Clostridium difficile</i>. Vyšetření je indikováno u průjmů, především při podezření na pseudomembranózní kolitidu vzniklou v důsledku předchozí antibiotické terapie. Pozitivita antigenu GDH signalizuje přítomnost <i>Clostridium difficile</i> ve vzorku. Současně je testována produkce toxinů A/B. Toxigenní kmen má pozitivní výsledek průkazu antigenu i toxinu. Samotná přítomnost antigenu GDH může signalizovat pouhou přítomnost netoxigenního kmene ve vzorku nebo falešnou negativitu průkazu toxinu. Ta může být způsobena jeho rozpadem při pozdním dodání stolice do laboratoře nebo množstvím toxinu pod detekčním limitem soupravy. V případě klinické indikace doporučujeme opakovaný odběr čerstvé stolice. Kmeny s pozitivní produkcí toxinů kultivujeme a pokud se podaří kmen anaerobně vykultivovat, zasíláme jej k ribotypizaci do CDI laboratoře FN Motol. Ribotypizace má epidemiologický význam, pomáhá sledovat případné epidemické šíření jednoho ribotypu v nemocnici.

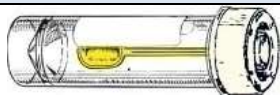
Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Současně s pozitivní kultivací testujeme i citlivost kmene na antibiotika vzhledem k vzrůstající rezistenci klostridií. Testujeme MIC metronidazolu a vankomycinu.
Příprava před odběrem
Není speciální příprava. K odběru je indikována průjemová stolice.
Odběrová souprava
 Kontejner s lopatičkou na parazitologické vyšetření stolice nebo sputovka se šroubovacím uzávěrem.
Způsob odběru
Průjemovou stolicí zachytíme do kontejneru (cca 3ml), formovanou stolicí odebereme lopatičkou – stačí velikost lískového oříšku. Je možný i odběr z inkontinenční pleny.
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře
Uchovávání před transportem: maximálně 24 hodin při chladničkové teplotě , pokud je nutné delší skladování, je vhodné vzorek zmrazit. Laboratoř je třeba uvědomit o tom, že byl vzorek zmražen. Transport: při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20° C) do 2 hod.
Doba odezvy
V den odběru, do 2 hodin od příjmu v laboratoři. Pozitivní výsledek hlásíme na oddělení, primární výskyt i na KHS.

Průkaz antigenu <i>Helicobacter pylori</i> ve stolici
Popis vyšetření
Imunochromatografický screeningový test k detekci antigenu <i>H. pylori</i> . Přítomnost antigenu ve stolici indikuje aktivní infekci a je možné ji využít jak k detekci předpokládané/ opakované infekce nebo ke sledování úspěšnosti terapie.
Příprava před odběrem
Výsledek vyšetření může být negativně ovlivněn terapií inhibitory protonové pumpy, antibiotiky nebo preparáty s obsahem bismutu. Pokud je v průběhu terapie vzorek odebrán a je negativní, doporučujeme opakovaný odběr za 14 dní po ukončení léčby.
Odběrová souprava
 Kontejner s lopatičkou na parazitologické vyšetření stolice.
Způsob odběru
Pacient odebere vzorek stolice tak, aby nedošlo k jeho kontaminaci s vodou v toaletě. Kousek stolice velikosti lískového oříšku vloží za pomoci lopatičky do odběrové nádoby a tu pevně zašroubuje.
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

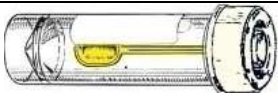
Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Uchovávání: maximálně 24 hodin při chladničkové teplotě
Transport: při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20° C) do 2 hod
Doba odezvy
V den dodání do laboratoře.

Průkaz antigenů Rotaviru, Adenoviru, Noroviru, Astroviru a Enteroviru ve stolici
Popis vyšetření
Imunochromatografický test k detekci antigenů Rotavirů, Adenovirů, Norovirů, Astrovirů a Enterovirů ve stolici. Vyšetření je indikováno při akutní gastroenteritidě.
Příprava před odběrem
Není speciální příprava.
Odběrová souprava
 Kontejner s lopatičkou na parazitologické vyšetření stolice.
Způsob odběru
Pacient odebere vzorek stolice tak, aby nedošlo k jeho kontaminaci s vodou v toaletě. Kousek stolice velikosti lískového oříšku vloží za pomoci lopatičky do odběrové nádoby a tu pevně zašroubuje. Je možný i odběr z nočníku, toaletní mísy nebo inkontinenční pleny.
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře
Uchovávání: maximálně 6 hodin při chladničkové teplotě
Transport: při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20° C) do 2 hod
Doba odezvy
V den dodání do laboratoře, do 2 hodin od příjmu . Pozitivní výsledek hlásíme na oddělení, prvotní výskyt i na KHS.

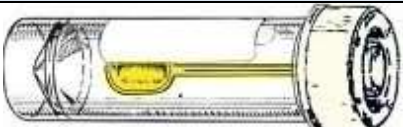
Průkaz antigenu <i>Campylobacter</i> spp. ve stolici
Popis vyšetření
Imunochromatografický test k detekci antigenů rodu <i>Campylobacter</i> spp. (nejčastější druhy jsou <i>C. jejuni</i> a <i>C. coli</i>) ve vzorku stolice. Jedná se o rychlou diagnostickou metodu enteritidy způsobenou tímto patogenem. Vždy doporučujeme současné kultivační vyšetření výtěru z rektu k případnému otestování citlivosti kmene u závažně probíhajících infekcí. Kultivační vyšetření je náročné, vyžaduje rychlý transport do laboratoře v transportní půdě a kultivace může být falešně negativní v důsledku uhynutí patogena. Průkaz antigenu může být pozitivní i v případě negativní kultivace.
Příprava před odběrem
Není speciální příprava.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Odběrová souprava	
 Kontejner s lopatičkou na parazitologické vyšetření stolice.	
Způsob odběru	
Pacient odebere vzorek stolice tak, aby nedošlo k jeho kontaminaci s vodou v toaletě. Kousek stolice velikosti lískového oříšku vloží za pomoci lopatičky do odběrové nádoby a tu pevně zašroubuje. Je možný i odběr z nočníku, toaletní mísy nebo inkontinenční pleny.	
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře	
Uchovávání: maximálně 3 dny při chladničkové teplotě, při delším skladování nutno zmrazit na -20°C. Transport: při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20° C) do 2 hod	
Doba odezvy	
V den dodání do laboratoře, do 2 hodin od příjmu. Pozitivní výsledek hlásíme na oddělení, prvotní výskyt i na KHS.	
Vyšetření <i>Enterobius vermicularis</i> (LEPEX)	
Popis vyšetření	
Mikroskopické vyšetření perianálního otisku na průkaz přítomnosti vajíček <i>Enterobius vermicularis</i> (roupa dětského).	
Příprava před odběrem	
12 hodin před odběrem neprovádět hygienu konečníku (nejlépe omýt večer a ráno odebrat), odebírat před defekací. Vzhledem k nepravidelnému vylučování vajíček samičkami roupa doporučujeme aspoň 3 odběry obden.	
Odběrová souprava	
 Mikroskopické sklíčko přelepené průhlednou lepící páskou.	
Způsob odběru	
Průhlednou lepící pásku přilepit na perianální řasy okolo konečníku po jejich roztažení tak, aby se zachytila přítomná vajíčka parazita, pásku sejmout a přilepit na průhledné mikroskopické sklíčko. Sklíčko jednoznačně označit identifikací pacienta, nejlépe štítkem. Štítek lepit na okraj sklíčka, ne doprostřed!! – tím je znemožněno prohlížení preparátu pod mikroskopem.	
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře	
Uchovávání a transport bez omezení.	
Doba odezvy	

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Do druhého dne po doručení do laboratoře.

Parazitologické vyšetření stolice	
Popis vyšetření	
Průkaz střevních parazitů ve vzorku odebrané stolice (metody dle Fausta a Kato).	
Příprava před odběrem	
Není speciální příprava.	
Odběrová souprava	
	Parazitologická odběrová souprava s lopatičkou k odběru kousku stolice.
Způsob odběru	
Po defekaci odebereme část stolice velikosti cca lískového oříšku lopatkou a pevně uzavřeme do odběrové nádoby.	
Pokud zachytíme celého nebo část parazita, zasíláme jej v uzavřeném kontejneru rovněž do laboratoře.	
Vzhledem k nepravidelnému vylučování vajíček doporučujeme tři odběry obden.	
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře	
Uchovávání: do 48 hod v chladničce	
! při podezření na amébovou infekci zaslat vzorek ihned, nesmí vychladnout	
Transport: do 2 hodin při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20° C)	
Doba odezvy	
Do 4 dnů po doručení do laboratoře.	

Biopsie žaludeční sliznice	
Popis vyšetření	
Mikroskopické vyšetření vzorku žaludeční sliznice odebrané gastrokopicky. Cílem je přímý mikroskopický průkaz <i>Helicobacter</i> spp. ve vzorku a vyhodnocení ureázové aktivity zaslaného vzorku sliznice.	
Příprava před odběrem	
Není speciální příprava.	
Odběrová souprava	
	Sterilní kontejner s 10 ml 20% glukózy
Způsob odběru	
Odběr minimálně 2 kousků biopsie žaludeční sliznice při gastrokopii.	
Uchovávání vzorku a transport do laboratoře	

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Uchovávání se nedoporučuje, pokud možno okamžitý transport do laboratoře při pokojové teplotě.

Doba odezvy

V den odběru.

Vyšetření výtěrů a stěrů z míst osídlených rezidentní mikroflórou

Popis vyšetření

Vyšetření výtěrů a stěrů z míst, která jsou osídlena běžnou mikroflórou – výtěry z ran, dekubitů, bércových vředů, povrchových lézí, píštělí, z ucha, oka.....

Standardní kultivace je aerobní, tak, kde předpokládáme účast anaerobů, kultivujeme i anaerobně. Pro přežití anaerobů je nutné zaslání v transportní půdě.

Příprava před odběrem

Odběr musí být proveden před aplikací případných lokálních antibiotik, antiseptik.

Odběrová souprava



Tampon na plastové tyčince nebo drátku (podle charakteru odběru) s Amiesovou půdou a aktivním uhlím.

Způsob odběru

Stěr z rány, povrchových defektů, infekčních ložisek.....:

doporučuje se odebírat vzorek z rozhraní zdravé tkáně a nekrózy (ve středu defektů mohou být mrtvé mikroorganismy). Pokud se nejedná o mokvavou plochu, je vhodnější tampon před odběrem zvlhčit sterilním fyziologickým roztokem. Jestliže je ložisko rozsáhlejší, je vhodné odebrat více stěrů, každý na zvláštní tampon. Ihned po odběru je nutno tampon zasunout do transportní půdy.

Výtěr ze zvukovodu:

odběrový sterilní tampon (lépe na drátku) zasunout opatrně do zvukovodu a šroubovitým pohybem důkladně setřít a vložit do transportní půdy.

Výtěr ze spojivky:

zvlhčeným sterilním tamponem na drátku setřít sekret ze spojivkového vaku, případně chorobných změn na okraji víček, spojivce, a vložit do transportní půdy.

DŮLEŽITÉ JE VŽDY NA ŽÁDANCE VYZNAČIT, PŘÍPADNĚ DOPSAT, ODKUD BYL VZOREK ODEBRÁN.

Pro mikrobiologické hodnocení nálezu to má velký význam.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Uchovávání: maximálně 24 hodin při pokojové teplotě

Transport: při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20° C)– do 2 hod.

Doba odezvy

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Podle charakteru nálezu.

Aerobní kultivace do 5 dnů, anaerobní kultivace do 7 dnů.

Vyšetření tekutého klinického materiálu, stěrů z hnisavých procesů a ložisek

Popis vyšetření

Vyšetření obsahu patologických dutin (abscesů), obsahu primárně sterilních dutin (pleurální tekutina, kloubní tekutina, ascites), tekutých hnisů a výpotků.....

Kultivujeme aerobně i anaerobně, u tekutých vzorků zhotovujeme mikroskopický preparát barvený dle Grama z primárního materiálu. U gynekologických materiálů je součástí kultivace i cílená kultivace *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis* a kvasinek.

Tekutý materiál vždy preferujeme před výtěrem – pokud je možno odebrat tekutinu, je to pro výsledek vyšetření vhodnější.

Tekutý materiál z primárně sterilních lokalit inokulujeme v laboratoři i do hemokultivační lahvičky a kultivujeme v analyzátoru BACTEC – tímto způsobem se snažíme maximalizovat výtěžnost vyšetření. Doba kultivace je 5 dnů.

Primárně sterilní ortopedický materiál (výpotky z kloubu, periorerálně získaný materiál z kloubů) kultivujeme i prodlouženě aerobně a anaerobně. Délka prodloužené kultivace je 14 dnů. Cílem je zachytit pomalu rostoucí mikroorganismy.

Příprava před odběrem

Je nutné zajistit sterilní způsob odběru důkladnou desinfekcí místa punkce nebo incize.

Odběrová souprava



Způsob odběru

Pokud je to možné, preferujeme odběr dostatečného množství tekutého materiálu. Ten odebíráme stříkačkou s jehlou a obsah můžeme ponechat ve stříkačce – ideální je úplné vytěsnění kyslíku a zaslepení konce šroubovacím uzávěrem. Zasílání materiálu s jehlou zabodnutou do vydesinfikované gumové zátky pro zamezení přístupu kyslíku nepreferujeme z důvodu rizika poranění personálu. Tímto způsobem je omezena manipulace s materiálem a minimalizována kontaminace z vnějšího prostředí. Je možné také materiál odebrat do jiných sterilních odběrových

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

nádob, podle jeho množství.

Pokud je materiálu velmi málo nebo je velmi hustý, je možné jej odebrat i na sterilní tampon (na drátku nebo plastové tyčince podle lokalizace ložiska), ten okamžitě zasunout do transportní pudy a zaslat do laboratoře.

DŮLEŽITÉ JE VŽDY NA ŽÁDANCE VYZNAČIT, PŘÍPADNĚ DOPSAT, ODKUD BYL VZOREK ODEBRÁN.
Pro mikrobiologické hodnocení nálezu to má velký význam.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Uchovávání: maximálně 24 hodin při pokojové teplotě.

Ideální urychlený transport do laboratoře - čím delší uchovávání a doba transportu, tím menší je šance na přežití přítomných mikrobů.

Transport: při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20° C) – do 2 hod.

Doba odezvy

Podle charakteru nálezu.

Při pozitivitě anaerobní kultivace do **7 dnů**. Kultivace v hemokultivační lahvičce uzavíráme po 5 dnech v případě negativního nálezu.

Vyšetření cizorodých materiálů z míst primárně sterilních (katetry, kanyly, stenty.....) semikvantitativně

Popis vyšetření

Vyšetření bakteriální kontaminace cizorodých materiálů použitých u pacienta, které mohou být zdrojem bakteriémie. K nejčastějším původcům patří koaguláza negativní stafylokoky tvořící biofilm.

Materiál je zpracováván semikvantitativní metodou dle Makiho, kdy je distální konec katetru (nebo jiný cizorodý materiál) inokulován na kultivační pudy a následně se počítá počet vyrostlých kolonií. Jako signifikantní práh pro predikci katérové (nebo jiné sepse) je považován počet 15 kolonií (CFU). Pokud je počet vyrostlých kolonií větší než 15, předpokládáme povrchovou kolonizaci katetru.

Po inokulaci na pudy vložíme materiál do živného bujónu a vyočkováváme. Pokud je primární kultivace dle Makiho negativní a vyočkování pozitivní, je pravděpodobná intraluminální kolonizace katetru vykultivovaným mikroorganismem.

Příprava před odběrem

Není speciální příprava.

Odběrová souprava

Odebraný materiál se doporučuje posílat nasucho ve sterilní nádobce. Nezanořovat do transportní pudy.

Způsob odběru

2-5 cm špičky vyjmutého katetru, cévky, kanyly ustříhneme sterilními nůžkami a pomocí sterilní pinzety vložíme do sterilní odběrové nádoby. Větší materiál (např. kovový protetický materiál) je

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

možné zaslat v gumové sterilní rukavici, která se pevně zaváže.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Uchovávání: maximálně 24 hodin při chladničkové teplotě. Ideální okamžité zaslání do laboratoře.

Transport: Transport při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20° C) do 2hod.

Doba odezvy

Podle nálezu 2-5 dnů.

Vyšetření kloubních komponent a jiných cizorodých materiálů metodou UZ sonikace

Popis vyšetření

Infekce endoprotéz, případně jiných cizorodých materiálů implantovaných v různých lokalitách, představují velmi závažnou komplikaci pro léčbu a další prognózu pacienta v případě uvolnění protézy. Infikovaný cizorodý materiál může působit také jako infekční fokus s intermitentním nebo permanentním uvolňováním infekčních embolů.

Pro správně vedenou terapii je zásadní identifikace a stanovení citlivosti původce. Převážně se jedná o tzv. „biofilmové“ kmeny, tedy společenství mikroorganismů, které žijí v biofilmu vytvořeném na povrchu cizorodého materiálu. Kultivace těchto kmenů je standardními kultivačními metodami obtížná, bakterie v biofilmu nemusí klasická kultivace vůbec zachytit.

Metoda sonikace spočívá v rozrušení pevně ulpívajícího biofilmu na povrchu komponenty ponořené v Ringově roztoku ultrazvukovými vlnami, a následnou kultivací tzv. „sonikátu“, tedy tekutiny, ve které by měly být mikroorganismy uvolněny. Záchytnost kultivace je v tomto případě vyšší.

Pro maximální výtěžnost metody sonikát kultivujeme i v hemokultivačních lahvičkách (5 dnů) a celkovou dobu kultivace aerobní i anaerobní prodlužujeme na 14 dnů, abychom zachytili i pomalu rostoucí kmeny.

K typickým „biofilmovým mikroorganismům“ patří stafylokoky, kromě primárního patogena, kterým je *Staphylococcus aureus* (methicillin citlivý i rezistentní), zde jako oportunní patogeny působí i koagulázanegativní stafylokoky, typicky *Staphylococcus epidermidis*.

Příprava před odběrem

Odběr materiálu probíhá v rámci operačního výkonu.

Odběrová souprava

Odebraný materiál se doporučuje posílat nasucho ve sterilní nádobce podle velikosti. Vyjmutou protézu nutno chránit před kontaminací. Na sále ihned po vyjmutí doporučujeme její vložení do sterilních operačních rukavic a pevné zavázání. Dále k zaslání do laboratoře použít sterilní uzavíratelnou nádobu volenou dle velikosti zasílaného materiálu.

Způsob odběru

Odběr v průběhu operačního výkonu podle operačních protokolů. Doporučujeme zasílat veškerý explantovaný materiál. Současně doporučujeme zaslat tekutý hnis, pokud lze odebrat, případně stěry z infikované lokality v transportní půdě.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Uchovávání: maximálně 24 hodin při chladničkové teplotě. Ideální okamžité zaslání do laboratoře **po předchozí telefonické domluvě**.

Transport: Transport při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20° C), v rámci nemocnice ihned do laboratoře.

Doba odezvy

Standardní kultivace: podle nálezu 2-5 dnů

Kultivace sonikátu v hemokultivační lahvičce: 5 dnů – u pozitivních nálezů až 7 dnů (testování citlivosti)

Prodloužená kultivace sonikátu: 15-16 dnů podle nálezu

Vyšetření hemokultur

Popis vyšetření

Vyšetření slouží k průkazu bakterií cirkulujících v krvi pacienta. Krev je odebrána do speciální hemokultivační lahvičky, vložena do automatického kultivačního systému (BD BACTEC) a kultivována po dobu 5 dnů. Nárůst bakterií je detekován fluorescenčně a signalizován okamžitě, následně je zhotoven mikroskopický preparát a provedeno vyočkování na kultivační půdy včetně předběžné diskové citlivosti na antibiotika. Kultury vyrostlé na kultivační půdě (zpravidla do druhého dne) identifikujeme a otestujeme definitivní citlivost na antibiotika (disková + MIC).

Vyšetření hemokultury je indikováno při diagnostice bakteriemií, septických stavů a horečky neznámé etiologie.

Hemokultivační lahvičky využíváme i ke kultivaci materiálů z primárně sterilních lokalit (punktáty z kloubů, sonikáty, pleurální punktáty, ascites, likvor.....) – materiál vstříkneme do lahvičky a kultivujeme po dobu 5 dnů pro zvýšení šance na záchyt přítomných patogenů.

Příprava před odběrem

Odběr by měl být proveden před nasazením antibiotické terapie, pokud je to možné. Přítomnost antibiotik snižuje záchyt mikroorganismů (potlačení růstu).

Místo před vpichem desinfikujeme dle aktuálně platného Desinfekčního řádu, po zaschnutí desinfekce a uplynutí doporučené doby působení provedeme stěr z místa vpichu ke kontrole případné kontaminace z kůže.

Odběrová souprava

Tampony pro desinfekci místa vpichu.



Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020



**Chybně nalepený štítek –
přelepý čárový kód!!**

Hemokultura aerobní, anaerobní a pediatriká.

SKLADOVÁNÍ HEMOKULTIVAČNÍCH LAHVIČEK PŘED ODBĚREM – při teplotě 2-25 °C, chránit před přímým slunečním zářením.

Způsob odběru

Před použitím zkontrolujte lahvičku, zda nevykazuje známky poškození (popraskání, vyboulení, stlačení zátky.....) – pokud je poškozená, nepoužívejte ji!

Odstraňte uzávěr z víčka lahvičky a vydesinfikujte víčko alkoholovou desinfekcí – nedoporučuje se použití jódových preparátů.

U dospělých jsou standardně používány dvě lahvičky - aerobní a anaerobní (**BD Bactec Plus Aerobic** a **BD BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F médium**). Pokud není možné odebrat dostatečné množství krve, dává se přednost odběru do aerobní lahvičky. Množství odebrané krve bývá zásadní pro úspěšnost zachytu. U dospělých se doporučuje cca **10 ml** do každé lahvičky, nejprve vstříknout do aerobní, potom do anaerobní.

U dětí, kdy není možno odebrat více krve, doporučujeme **pediatrické lahvičky (BD Bactec PEDS plus)** které umožní kultivaci méně než 3ml krve. U **novorozenců aspoň 1-2 ml**. Pediatriké kultivační lahvičky neumožní anaerobní kultivaci.

(Pozn.: Pediatriké kultivační lahvičky je možno použít i pro odběr tekutého biologického materiálu ke kultivaci, jestliže není možný transport do laboratoře (mimo pracovní dobu laboratoře) – likvor, ascites, punktáty.....)

Odběr je indikován na vzestupu teploty, doporučené jsou dvě až tři odebrané hemokultury k zachytu intermitentně vylučovaných bakterií.

Při podezření na infekční endokarditidu je možné odebírat kdykoli, bakteriémie bývá kontinuální.

Standardně je doporučený odběr z periferní venepunkce, pokud to stav pacienta dovolí. Odběr ze zavedeného katetru se doporučuje pouze v případě podezření na katérovou sepsi, v tom případě je doporučeno odebrat krev ze zavedeného katetru a současně z periferie pro srovnání nálezu.

Po odběru nalepte identifikační štítek na lahvičku tak, aby nebyl přelepen čárový kód – nutný pro vložení do hemokultivačního přístroje. Nelepte štítek ani na dno lahvičky !!

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Uchovávání: pokud není možný okamžitý transport do laboratoře při odběru mimo naši pracovní dobu, uchovejte při pokojové teplotě (18-25 °C) a ráno ihned doručte. Nedávejte do ledničky!

Transport: do 2 hodin při pokojové teplotě nebo v chlazeném přepravním boxu (4-20 °C)

Doba odezvy

Standardní doba kultivace **5 dnů**.

Při pozitivitě hlásíme na oddělení předběžný i definitivní nález kultivace včetně citlivosti na antibiotika ihned po identifikaci.

Vyšetření mozkomíšního moku (likvoru)

Popis vyšetření

Vyšetření při podezření na **purulentní meningitidu**. Odběr je prováděn asepticky **lumbální punkcí**, nejlépe před aplikací antibiotik. Protože purulentní meningitida probíhá jako systémové onemocnění se septickými projevy, je velmi vhodné **doplnit** vyšetření likvoru i **odběrem hemokultury**, pokud to celkový stav pacienta dovoluje, nejlépe opět před aplikací první dávky antibiotik.

V laboratoři probíhá zpracování likvoru vždy statimově, rychlost zpracování je zásadní pro průkaz citlivých původců. Inokulace na půdy by měla být uskutečněna, pokud možno ihned po odběru (do 2 hodin).

Po dodání do laboratoře provádíme mikroskopický nátěr na sklíčko barvený dle Grama, přímou latexovou aglutinaci nejčastějších původců meningitidy a inokulaci na kultivační půdy. Jestliže je málo odebraného materiálu, dává se přednost pouze mikroskopii a inokulaci na půdy za účelem získání kmene bakterie k následnému testování citlivosti na antibiotika.

Výsledek mikroskopie a aglutinace je k dispozici cca do hodiny od dodání do laboratoře, vždy telefonujeme odebírajícímu pracovišti.

* **Mikroskopie dle Grama:** velmi důležité vyšetření, které dává okamžitou informaci o přítomnosti/nepřítomnosti mikroorganismů, jejich morfologii a barvitelnosti (grampozitivní x gramnegativní). Tato informace může být zásadní pro volbu úvodní terapie.

* **Přímá aglutinace z likvoru** (PASTOREX™ MENINGITIDIS): umožňuje přímý průkaz

* *Neisseria meningitis* sk. A, B/E.coli K1, C,Y/W135

* *Haemophilus influenzae* typ B

* *Streptococcus pneumoniae*

* *Streptococcus agalactiae* (sk. B)

Antigen může být prokázán i u pacientů léčených antibiotiky, kteří mají kultivační nález negativní.

* **Kultivace:** likvor je inokulován na sestavu půd, která umožní záchyt kompletního spektra možných původců bakteriální meningitidy. Kultivujeme aerobně i anaerobně. Narostlý kmen ihned identifikujeme a otestujeme citlivost na antibiotika volby.

Alikvotní část nezpracovaného likvoru uchováváme v chladničce pro případné další testování (např. PCR), pokud se nepodaří prokázat původce konvenčními metodami.

Příprava před odběrem

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

- * U pacientů s rizikem vysokého intrakraniálního tlaku hrozí riziko herniace mozku do míšního kanálu, proto by tito rizikovití pacienti měli před odběrem podstoupit CT vyšetření.
- * Odběr je indikován před nasazením ATB terapie, pokud je to možné – přítomná antibiotika inhibují růst mikroorganismů a výsledek kultivace může být negativní. Léčbu antibiotiky je ale nutno zahájit neprodleně z důvodu vitální indikace, odběr nesmí její zahájení zpozdit!
- * Již před odběrem je vhodné **telefonicky informovat mikrobiologickou laboratoř** kvůli vytemperování potřebných diagnostik, aby nedošlo k prodlení při zpracování.

Odběrová souprava

Sterilní odběrová souprava bez konzervačního agens vhodná pro odběr + sterilní tampón pro provedení stěru z kůže v místě vpichu. Možný i odběr do pediatrické hemokultury.



Způsob odběru

- * Odběr prováděn **lumbální punkcí** bederní oblasti podle standardní metodiky. Důležité je zachování maximální **asepsy** při odběru. Místo vpichu se **desinfikuje**, po zaschnutí dezinfekce a uplynutí doporučené doby působení je proveden **kontrolní stěr před lumbální punkcí** na výtěrový tampón, který je po odběru zasunut do transportní půdy a transportován souběžně s likvorem. Pomůže odlišit případnou kontaminaci při odběru. První porce vytékajícího likvoru není doporučena pro kultivační vyšetření (největší riziko kontaminace), pokud je to možné a materiálu je dostatek, je vhodné zachytit až další část materiálu do sterilní odběrové nádoby. **Minimální množství materiálu je 1 ml, ideálně nejméně 2 ml**, aby bylo možno provést i přímou aglutinaci.
- * Pokud to stav pacienta dovolí, doporučujeme **souběžný odběr hemokultury** (cca **10 ml krve**). Jestliže se nezdaří odběr dostatečného množství krve (např. z důvodu šokového stavu pacienta), je možná inokulace do **pediatrické lahvičky** (množství potřebné krve je **0,5 – 5 ml**).
- * V případě, že je odběr prováděn mimo pracovní dobu laboratoře (v nočních hodinách), je výhodné část odebraného moku vstříknout do pediatrické hemokultivační lahvičky. Zvýší se šance na přežití citlivých patogenů.
- * Při podezření na meningokokovou etiologii doporučujeme odebrat i **výtěr z krku, případně stěr z vytlačené tekutiny z petechií**.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

- * Uchovávání likvoru se nedoporučuje, pokud je to možné, **ihned po odběru urychleně transportovat přímo do mikrobiologické laboratoře po předchozím telefonickém upozornění**.
- * Transport probíhá při **pokožkové teplotě**.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

- * Mimo pracovní dobu laboratoře je k dispozici telefonní číslo pro konzultaci urgentních vzorků, je možné domluvit zpracování i v odpoledních a večerních hodinách.
- * Jestliže je odběr prováděn v **noci**, uchovávejte materiál při **pokojevé teplotě** a ráno **ihned** transportujte do mikrobiologické laboratoře. V tom případě je výhodné inokulovat alespoň část odebraného materiálu do **pediatrické hemokultivační lahvičky**.

Doba odezvy

- * Výsledky mikroskopie a přímé aglutinace (pokud mohla být provedena) **telefonujeme ihned po odečtu – cca do 1 hodiny po doručení do laboratoře.**
- * **První odečet kultivace je možný za 18-24 hodin**, telefonujeme předběžný výsledek. Pokud je již narostlý kmen, provádíme ihned identifikaci a nasazujeme citlivost na antibiotika. Pokud je kultivace negativní, vyočkovává se pomnožení a kultivace se prodlužuje na dalších **24 hodin**.
- * Po 18-24 hodinách se rovněž vyočkovává pomnožený stěr z kůže před odběrem a kultivuje se do ~~de~~ 2. dne – výsledek je k dispozici do 48 hodin. Vykultivované mikroorganismy jsou vždy identifikovány a uchovány pro případné porovnání s vykultivovanými kmeny z likvoru. Pokud se shodují, je pravděpodobná kontaminace při odběru.
- * **Citlivost** je k dispozici do dalšího dne po nárůstu kmene na půdách – **nejdříve za 48 hodin** od dodání do laboratoře.
- * **Celková doba kultivace se u likvoru prodlužuje na 3 dny, pokud je nález negativní, je po této době uzavřen.**
- * Případné odebrané hemokultury kultivujeme průběžně a ihned po hlášení positivity nárůstu provádíme mikroskopii, inokulaci na půdy a předběžnou citlivost na antibiotika. Nález ihned telefonujeme na oddělení. Celková doba kultivace hemokultury je 5 dnů.

AUTOVAKCÍNY

Výrobu autovakcín na vyžádání zajišťujeme ve smluvní laboratoři LABIN.

Autovakcíny slouží jako imunomodulancia při recidivujících infekcích, především respiračních, kožních, urogenitálních. Nejvhodnější je příprava přímo od vykultivovaného kmene od pacienta, zejména pokud chronicky přetrvává. Odběr klinického materiálu doporučujeme při akutní exacerbaci infekce. Pro výrobu autovakcíny vybíráme patogenní a oportunně patogenní kmeny, které mohou být etiologickým agens infekce v dané lokalitě.

Čistou kulturu kmene zasíláme do smluvní laboratoře. Výroba trvá 1-2 týdny, smluvní laboratoř zhotoví perorální formu autovakcíny. Hotovou vakcínu odesílá zpět do naší laboratoře, my zajistíme následnou distribuci lékaři. Je možné vyzvednutí pacientem po dohodě přímo v naší laboratoři.

Je možné požadovat i vakcínu vyrobenou ze zásobních kmenů od jiných pacientů. Tato zásobní (STOCK) vakcína je možnou volbou v případě, kdy se nepodaří vykultivovat kmen od pacienta a existuje klinická indikace pro její podání. Nejčastější indikací je dodání STOCK vakcíny z *Candida albicans* pro pacientky s recidivující vulvovaginální kandidózou.

Požadavek na zhotovení autovakcíny napište prosím do žádanky o vyšetření a zašlete relevantní klinický materiál k vyšetření.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

MYKOLOGICKÁ KULTIVACE

V naší laboratoři zajišťujeme kultivaci a identifikaci kvasinek.

Vláknité mikromycety vykultivované v naší laboratoři z relevantních klinických materiálů zasíláme k identifikaci do smluvní mykologické laboratoře FN Olomouc.

Materiál odebraný k cílené mykologické kultivaci odesíláme přímo do smluvní laboratoře. Výsledek kultivace zasílá smluvní laboratoř přímo požadujícímu pracovišti.

Při požadavku na klasickou i mykologickou kultivaci napište tento požadavek na žádanku. Klasická kultivace bude prodloužena na 10 dnů a materiál bude kultivován při kultivačních teplotách $36 \pm 1^\circ \text{C}$ a $20 \pm 1^\circ \text{C}$. Pokud je kultivace na vláknité mikromycety (plísně) pozitivní, zašleme čistou kulturu kmene do smluvní laboratoře.

INFEKČNÍ SEROLOGIE

Popis vyšetření

Jedná se o vyšetření protilátek proti infekčním agens ze séra.

K vyšetření možno zaslat srážlivou krev nebo separované sérum.

Příprava před odběrem.

Krev odebíráme nejlépe ráno nalačno, večer před odběrem doporučujeme omezit tučná jídla. Ráno před odběrem je vhodné vypít 0,25 l vody nebo slabého čaje.

Odběrová souprava

K odběru krve je možno použít otevřený i uzavřený odběrový systém bez přídavku protisrážlivých činidel. Laboratoř dodává na vyžádání zkumavky pro odběrový systém SARSTEDT.

Způsob odběru, množství odebraného vzorku

Odběr žilní krve je proveden podle standardní metodiky daného pracoviště.

Množství požadované krve se řídí počtem požadovaných vyšetření, pro jednu metodu vyžadujeme cca **0,3 ml séra**. Pokud to stav pacienta dovolí nebo pokud je vyšší počet požadovaných serologických (imunologických) metod, je vhodné poslat plnou zkumavku odebrané krve (**7 ml**).

Při požadavku na vyšetření ve smluvní laboratoři je vhodné odebrat dvě zkumavky krve (nutná alikvotace).

Po odběru označit zkumavku jednoznačnou identifikací pacienta, vyplnit žádanku (viz. kapitola C-8) včetně data a času odběru, a zkumavku zaslat do laboratoře.

Omezení, interference

Hemolytické nebo výrazně **chylózní sérum** může interferovat s měřením a výsledek nemusí být validní. Pokud dojde k této situaci, požadujeme další vzorek pro opakované měření.

Uchovávání vzorku a transport do laboratoře

Po odběru je nutno zkumavku uchovat ve svislé poloze (30 minut při odběru do zkumavky bez aktivátoru srážení, při odběru s aktivátorem postačí 20 minut), aby došlo k oddělení séra a

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

krevního koláče. Transport před uplynutím této doby není doporučen, hrozí riziko znehodnocení odběru hemolýzou.

Riziko hemolýzy hrozí i při nešetrném zacházení se vzorkem (třepání).

Uchovávání do transportu: v chladničkové teplotě (2-8 °C)

Transport: do 2hod v chlazeném přepravním boxu (4-20 °C)

Doba odezvy

Podle počtu požadovaných vyšetření do 5 pracovních dnů.

Při vyšším počtu vyšetření u jednoho pacienta expedujeme průběžně uzavřené výsledky.

Při požadavku na statim výsledek doporučujeme kontaktovat laboratoř, případně dopsat požadavek na žádanku – laboratoř vzorek vyšetří podle možností (v závislosti na metodě a analyzátoru).

Výsledky ELISA a CLIA reakcí expedujeme jako hodnoty tzv. Indexu pozitivity **IP** (naměřená hodnota absorbance/cutt-off) nebo v mezinárodních jednotkách **IU/ml, AU/ml, mg/l**. Komentujeme je s ohledem na předchozí nálezy, většinou jsou opakované a kontrolní odběry důležité pro zhodnocení dynamiky tvorby protilátek a pravděpodobného vývoje onemocnění. Konečnou úvahu o výsledku vyšetření musí provést vždy ošetřující lékař s ohledem na klinický stav a anamnézu pacienta.

Seznam a frekvence vyšetření infekční sérologie a imunologie

Vyšetření	Metoda	Frekvence vyšetření
INFEKČNÍ SÉROLOGIE		
Adenoviry IgA, IgG	ELISA	1-2x týdně dle požadavků
Bordetella pertussis toxin IgA, IgG	ELISA	2x týdně
Bordetella parapertussis IgA, IgG	ELISA	2x týdně
Bordetella spp.konfirmace WB IgA, IgG	Imunoblot (rekombinantní)	2x týdně
Borelia IgM, IgG	ELISA	3xtýdně – Po, St, Pá
Borelia konfirmace WB IgM, IgG	Imunoblot (rekombinantní)	3xtýdně – Po, St, Pá
CMV IgM, IgG, avidita IgG	Chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích (CMIA Architect)	denně
EBV EBNA-1 IgM	ELISA	3xtýdně – Po, St, Pá
EBV VCA IgM, IgG, EBNA-1 IgG	Chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích (CMIA Architect)	denně
HAV IgM, IgG	Chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích (CMIA Architect)	denně
HCV (a-HCV)	Chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích (CMIA Architect)	denně

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

HBV (HBsAg, HBeAg, a-HBe, a-HBc IgM, a-HBc total, a-HBs)	Chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích (CMIA Architect)	denně
<i>Helicobacter pylori</i> IgA, IgG	ELISA	1-2x týdně dle požadavků
HIV 1+2, p24	Chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích (CMIA Architect)	denně
HSV 1+2 IgM, IgG	ELISA	1-2x týdně dle požadavků
<i>Chlamydia pneumoniae, trachomatis</i> IgM, IgA, IgG	ELISA	3xtýdně – Po, St, Pá
Chlamydia spp. konfirmace WB IgA, IgG	Imunoblot (rekombinantní)	3xtýdně – Po, St, Pá
Klíšťová encefalitis IgM, IgG	ELISA	1-2x týdně dle požadavků
Morbilli IgM, IgG	ELISA	1-2x týdně dle požadavků
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> IgM, IgA, IgG	ELISA	3xtýdně – Po, St, Pá
Parvovirus B19 IgM, IgG	ELISA	1-2x týdně dle požadavků
RS virus IgA, IgG	ELISA	1-2x týdně dle požadavků
Syfilis RRR	Aglutinace na mikrotitrační destičce	denně
Syfilis TP test	Chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích (CMIA Architect)	denně
<i>Toxocara</i> spp. IgG	ELISA	1-2x týdně dle požadavků
<i>Toxoplasma gondii</i> IgM, IgG, avidita IgG	Chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích (CMIA Architect)	denně
<i>Toxoplasma gondii</i> IgA	ELISA	1-2x týdně dle požadavků
VZV IgM, IgG	ELISA	1-2x týdně dle požadavků
IMUNOLOGIE		
a-CCP IgG	ELISA	2x týdně – Út, Čt
ECP	Chemiluminiscenční imunochemická reakce na pevné fázi (CLIA Immulite 2000XPi)	denně
ENA	ELISA	2x týdně – Út, Čt

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

ENA roztestování	Imunoblot	2x týdně – Út, Čt
Gliadin DA IgA, IgG	ELISA	2x týdně – Út, Čt
IgE total	Chemiluminiscenční imunochemická reakce na pevné fázi (CLIA Immulite 2000XPi)	denně
Kravné mléko IgA, IgM, IgG	ELISA	2x týdně – Út, Čt
Specifické IgE (alergeny)	Chemiluminiscenční imunochemická reakce na pevné fázi (CLIA Immulite 2000XPi)	denně
t-Transglutamináza IgA, IgG	ELISA	2x týdně – Út, Čt
Vankomycin, Gentamicin hladina	Chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích (CMIA Architect)	denně

Borrelie IgM, IgG				
Materiál, množství	Sérum - minimálně 0,3- 0,5ml Pro vyšetření interatekální syntézy protilátek nutný současný odběr séra a likvoru! Pro toto vyšetření využíváme smluvní laboratoř.			
Metoda vyšetření	ELISA			
Jednotky, referenční meze	Index positivity <table><tr><td>Negativní: < 0,900</td></tr><tr><td>Hraniční: 0,900 - 1,1</td></tr><tr><td>Pozitivní: > 1,1</td></tr></table>	Negativní: < 0,900	Hraniční: 0,900 - 1,1	Pozitivní: > 1,1
Negativní: < 0,900				
Hraniční: 0,900 - 1,1				
Pozitivní: > 1,1				
Informace o vyšetření				
Lymeská borrelióza je multisystémové infekční onemocnění vyvolané spirochetou <i>Borrelia burgdorferi</i>. Infekce je přenášena klíšťaty rodu Ixodes. Sérologická diagnostika borreliózy je složitá vzhledem k různým faktorům, jako je velká genetická diverzita druhu <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l., možná zkřížená reaktivita s nepříbuznými antigeny jiných mikroorganismů, bohatost borrelií na heat shock proteiny. Diagnostiku komplikují rovněž velké rozdíly sérologické reaktivity různých jedinců a její ovlivnění antibiotickou terapií. Tvorba protilátek v časně fázi může být extrémně pomalá. Na druhé straně IgG i IgM protilátky mohou přetrvávat deset i více let. EIA <i>Borrelia</i> recombinant je enzymoimunoanalytická souprava III. generace s vysokou diagnostickou citlivostí a specifitou, vhodná pro screeningové stanovení antiborreliových protilátek včetně průkazu intratekální syntézy u pacientů se suspektní neuroborreliózou. Jako vzorek k vyšetření může být použito lidské sérum, citrátová plazma, mozkomíšni mok a synoviální tekutina. Průkaz intratekální produkce protilátek je dle mezinárodního doporučení (EUCALB) nezbytný pro diagnostiku časně i pozdní neuroborreliózy. Samotný průkaz zvýšených protilátek v séru není				

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

dostatečný. Diagnostika neuroborreliózy spočívá v detekci hladiny specifických antiborreliových protilátek vytvářených v likvoru. K tomuto se využívá stanovení specifického protilátkového indexu – Antibody indexu (AI). Hlavním významem Antibody indexu je možnost potvrzení intratekální syntézy specifických protilátek v mozkomíšním moku.

Antibody index vyjadřuje poměr hladiny protilátek v mozkomíšním moku (likvoru) k výši hladiny protilátek v krevním séru ve vztahu ke stavu hematoencefalické bariéry a koncentraci celkových imunoglobulinů v likvoru a séru. Pro jeho stanovení je potřeba **současně odebrat vzorky likvoru a séra (plazmy), vyšetřit koncentraci albuminu a celkových IgG (IgM) v likvoru i séru současně s protilátkami proti borreliím v likvoru i séru.**

Intratekální produkci protilátek pro naši laboratoř

Borrelie Imunoblot IgM, IgG

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	Rekombinantní imunoblot
Jednotky, referenční meze	Pozitivní/hraniční/negativní

Informace o vyšetření

BlueBLOT-LINE Borrelia/HGA je souprava III. generace s vysokou diagnostickou citlivostí a specifitou. Je určena pro konfirmační stanovení specifických protilátek u vzorků, které byly metodami EIA nebo jiným serologickým vyšetřením určeny jako pozitivní nebo hraniční.

Součástí soupravy je i proužek pro stanovení specifických protilátek proti lidské granulocytární anaplazmóze (HGA). Jedná se o onemocnění vyvolané bakterií *Anaplasma phagocytophila*. Přenašečem u nás je klíště obecné – *Ixodes ricinus*. Současný výskyt protilátek proti antigenu p44 a borreliovým antigenům může znamenat koinfekci HGA a borreliózy. V případě pozitivního výsledku testu Anaplasma je vhodné provést další vyšetření pro vyloučení nebo potvrzení HGA.

V testu jsou použity vysoce specifické rekombinantní borreliové antigeny. Přesto se v ojedinělých případech může vyskytnout zkřížená reaktivita s jinými spirochetami, jako je *Treponema pallidum*. Pro eliminaci falešně pozitivních výsledků Borrelia obsahuje test antigen TpN17, který je vysoce specifickým a citlivým markerem infekce syfilis. V případě hraničního/pozitivního výsledku testu Treponema je třeba provést další vyšetření pro vyloučení nebo potvrzení syfilis.

Ve třídě IgM protilátek se může vyskytnout ojedinělá falešná pozitivita, která může být způsobena zkříženě reagujícími polyklonálními B-buňkami imunitního systému. Ta je eliminována přidáním antigenu VCA-p18. Tento antigen je specifickým markerem EBV infekce. V případě positivity je vhodné dotestovat reaktivitu EBV protilátek k vyloučení nebo potvrzení infekce EBV.

Princip vyšetření:

Rekombinantní antigeny jsou nanášeny na nitrocelulózovou membránu upevněnou na plastové podložce. V průběhu testu jsou jednotlivé stripky inkubovány s vyšetřovaným vzorkem, přičemž dochází k vazbě specifických protilátek přítomných ve vzorku na příslušné antigenní linie na stripu.

Přehled testovaných specifických antigenů

VISe Ba	
VISe Bg	

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

VlsE Bs	Variable major protein-like sequence, expressed (antigenně variabilní systém) – významný pro protilátkovou odpověď IgG; druhově specifický antigen (Ba – <i>B. afzelii</i> , Bg – <i>B. garinii</i> , Bs – <i>B. burgdorferi</i> sensu stricto)
p83 Ba	hlavní extracelulární protein (degradační produkt p100)
p58 Bg	OppA2 (oligopeptidová permeáza 2) - membránový transportér, považován za marker diseminovaného stádia Lymeské borreliózy
p41 Ba	vnitřní část flagelinu - vysoce specifický marker pro časnou protilátkovou odpověď
p39 Ba	BmpA (glykosaminopeptidový receptor) – znak pro pozdní imunitní odpověď IgG
OspB Bs	vnější povrchový protein B
OspA Ba	vnější povrchový protein A, ve třídě IgG vysoce specifický znak pro infekci borreliemi
OspA Bs	
OspA Bg	
OspC Bg	vnější povrchový protein C - hlavní imunogen v časně protilátkové odpovědi, imunodominantní znak odpovědi IgM; druhově specifický antigen (Ba – <i>B. afzelii</i> , Bg – <i>B. garinii</i> , Bs – <i>B. burgdorferi</i> sensu stricto, Bsp - <i>B. spielmanii</i>)
OspC Bs	
OspC Ba	
OspCBsp	
NapABs	Neutrofilní aktivační protein A - silný imunogen, jeden z významných faktorů v patogenezi Lymeské artritidy
OmpA	vnější membránový protein A - <i>Anaplasma phagocytophilum</i> , lipoprotein asociovaný peptidoglykany, významný faktor virulence
p17 Bg	DbpA (Decorin-Binding protein A) - vnější povrchový protein
P44	<i>Anaplasma phagocytophila</i> – hlavní marker protilátkové odpovědi HGA
TpN17	vysoce specifický membránový protein <i>Treponema pallidum</i>
VCA-p18	Viral Capsid Antigen p18 - důležitý marker EBV infekce
Výsledek vyšetření je interpretován jako negativní/hraniční/pozitivní podle výsledků reakce s jednotlivými antigeny. Současné jsou na výsledkovém listu uvedeny specifické antigeny, jejichž reakce byla hraniční nebo pozitivní.	

<i>Bordetella pertussis</i> toxin IgA, IgG		
Materiál, množství	Sérum – 0,5ml	
Metoda vyšetření	ELISA	
Jednotky, referenční meze	IgA IU/ml	IgG IU/ml
	<10 negativní	<40 negativní
	10-20 hraniční	40-100 hraniční
	>20 pozitivní	>100 pozitivní

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Informace o vyšetření

Pertusový toxin (PT) je protein produkovaný gramnegativní bakterií *Bordetella pertussis*, která je původcem černého (dávivého) kašle a je jedním z hlavních virulentních faktorů tohoto onemocnění. Během infekce způsobuje zánět až nekrózu řasinkového epitelu respiračního traktu a vyvolává řadu imunologických a patofyziologických odpovědí. Důležitou vlastností PT z hlediska diagnostiky je to, že tento toxin jsou schopny produkovat pouze bakterie *B. pertussis* a tudíž je specifický pouze pro tuto infekci.

B. pertussis způsobuje závažnější formu onemocnění, která obvykle trvá 6–8 týdnů a má tato stádia:

- * Inkubační (6–20 dní)
- * Katarální (1–2 týdny) - projevy odpovídají příznakům běžného nachlazení. Během tohoto stádia se suchý dráždivý kašel zhoršuje a přechází v záchvatovitý kašel.
- * Paroxysmální (2–6 týdnů) - projevují se typickým příznakem nemoci v podobě dráždivého, záchvatovitého kašle. Počet a závažnost záchvatů v průběhu tohoto stádia stoupá, záchvaty kašle bývají provázeny dávením i zvracením.
- * Rekonvalescentní (1–3 týdny) – je charakterizováno snížením počtu záchvatů a zmírněním kašle.

Sérologické vyšetření spočívá v průkazu specifických protilátek metodou ELISA. Protilátky ve třídě IgA se netvoří po očkování, jejich přítomnost může být proto použita jako vhodný indikátor k odlišení přirozené infekce od postvakcinační reakce. Přirozená infekce *B. pertussis* způsobuje totiž vzrůst IgA protilátek, zatímco imunizace zvyšuje hlavně IgM a IgG protilátkovou odezvu.

Specifické IgA protilátky proti PT mohou být stanoveny už po 1-2 týdnech a mohou persistovat 6–24 měsíců v závislosti na věku. IgG protilátky se vyskytují nejdříve za 2–3 týdny po začátku nemoci a dosahují svého maxima po 6–8 týdnech.

U dětí probíhá tvorba IgA protilátek pomaleji, u kojenců se v detekovatelné hladině objevují až cca 6–7 týdnů po infekci.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

***Bordetella parapertussis* IgA, IgG**

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	ELISA
Jednotky, referenční meze	Index positivity
	Negativní: < 0,900
	Hraniční: 0,900 - 1,1
	Pozitivní: > 1,1

Informace o vyšetření

Tato bakterie vyvolává syndrom dávivého kašle, klinické příznaky jsou podobné jako u pertusse, intenzita jejich vyjádření u pacientů je většinou nižší, doba trvání akutního stadia kratší. Až 40 % případů může probíhat asymptomaticky. Tento rozdíl je způsobený absencí pertusového toxinu u *B. parapertussis*. Na rozdíl od pertusse není toto onemocnění preventabilní očkováním. Postvaccinační ani postinfekční imunita proti *B. pertussis* nechrání proti onemocnění *B. parapertussis*. Je možná i současná infekce oběma typy bordetel (*B. pertussis* i *B. parapertussis*) – tyto případy probíhají závažněji.

Protilátky třídy IgA je možno detekovat po 1-2 týdnech, jejich perzistence je v závislosti na věku asi 6-24 měsíců. Nástup protilátek IgG je pozdější, detekovatelné jsou po 2-3 týdnech a přetrvávají dlouhodobě v řádu roků.

Pro upřesnění diagnózy je doporučen odběr párového séra za 3-4 týdny.

***Bordetella* spp. Imunoblot IgA, IgG**

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	Rekombinantní imunoblot
Jednotky, referenční meze	Pozitivní/hraniční/negativní

Informace o vyšetření

BLOT-LINE souprava k detekci specifických protilátek třídy IgA a IgG proti rekombinantním antigenům *Bordetella pertussis* a *Bordetella parapertussis* v lidském séru nebo plazmě.

B. pertussis a *B. parapertussis* jsou velmi příbuzné druhy bakterií, produkující podobné virulentní faktory. *B. pertussis* je považována za hlavního původce onemocnění pertuse (černý kašel, dávivý kašel), které bylo do zavedení očkování jedním z nejzávažnějších onemocnění novorozenců a dětí. *B. pertussis* způsobuje závažnější formu onemocnění, která obvykle trvá 6–8 týdnů.

Onemocnění vyvolané *Bordetella parapertussis* probíhá obvykle s mírnějšími klinickými příznaky a bez závažných komplikací, což je způsobeno tím, že bakterie *B. parapertussis* neprodukuje pertusový toxin.

Princip vyšetření:

Rekombinantní antigeny jsou naneseny na nitrocelulózovou membránu upevněnou na plastové podložce. V průběhu testu jsou jednotlivé stripy inkubovány s vyšetřovaným vzorkem, přičemž dochází k vazbě specifických protilátek přítomných ve vzorku na příslušné antigenní linie na stripu.

Přehled testovaných specifických antigenů

	Antigen	Popis
<i>Bordetella</i>	PT	Pertusový toxin (45 kDa) – základní faktor virulence, specifický

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

pertussis		pouze pro <i>B. pertussis</i> , nejvýznamnější antigen infekce černého kašle
	FHA	Filamentózní (vláknitý) hemaglutinin <i>B. pertussis</i> – adhezní protein, důležitý imunogen, vybraná část sekvence s vysokou specifitou
	ACT	Adenylátcyklázový toxin (CyaA) – významný faktor virulence <i>B. pertussis</i> s antifagocytárním účinkem
	TCF	Tracheální kolonizační faktor – protein produkováný pouze <i>B. pertussis</i> ; adhezin, zajišťující vazbu bakterie na povrch buněk řasinkového respiračního epitelu a fagocytujících buněk
Bordetella parapertussis	Pertactin	75 kDa, protein vnější membrány virulentních kmenů <i>B. parapertussis</i>
	FimN	Fimbriae N – adhezin, neprodukováný <i>B. pertussis</i>
	EntA	Entericidin A – membránový lipoprotein
Výsledek vyšetření je interpretován jako negativní/hraniční/pozitivní podle výsledků reakce s jednotlivými antigeny. Současně jsou na výsledkovém listu uvedeny specifické antigeny, jejichž reakce byla hraniční nebo pozitivní.		

CMV (Cytomegalovirus) IgM, IgG		
Materiál, množství	Sérum – 0,5ml	
Metoda vyšetření	Chemiluminiscence ARCHITECT	
Jednotky, referenční meze	IgM: index positivity IP	IgG : AU/ml
	<0,85 negativní	< 6,0 negativní
	0,85-1 hraniční	≥ 6,0 pozitivní
	≥1,0 pozitivní	
Informace o vyšetření		
Lidský cytomegalovirus (CMV, Human Herpesvirus 5, HHV 5) náleží do skupiny herpesvirů. K primární infekci lidským CMV dochází nejčastěji v dětství či adolescenci, a to různými způsoby přenosu (respirační, urogenitální). Klinický průběh je obvykle asymptomatický či mírný (zvýšená teplota, únava, symptomy mononukleózy). Po primární infekci CMV vstupuje virus do latentní fáze a následná reaktivace (sekundární infekce) nastupuje v závislosti na změnách ve vztazích mezi hostitelem a virem (těhotenství, vážné onemocnění, stres, imunosupresivní léčba). K reinfekci může dojít jiným kmenem CMV. Závažné riziko představuje primární infekce CMV v průběhu těhotenství (kongenitální infekce s různým stupněm poškození se vyskytují u 1/3 až 1/2 narozených dětí, zatímco u reaktivací pouze v 1 %). U imunokompromitovaných lidí (AIDS, transplantovaní apod.) se většinou vyvíjí symptomatické onemocnění s postižením různých orgánů, nejrůzněji s fatálními důsledky.		

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Protilátky třídy IgM jsou ukazatelem primoinfekce. Při reaktivaci dochází většinou rovněž k produkci IgM.

Specifické IgG protilátky jsou detekovatelné cca 1 týden po vzestupu IgM protilátek. Jejich sérokonverze (vzestup titru) indikuje primární infekci.

Detekce protilátek není použitelná u imunosuprimovaných pacientů, zde je nutno detekovat virovou DNA přímo v klinickém materiálu.

CMV (Cytomegalovirus) avidita IgG

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml			
Metoda vyšetření	Chemiluminiscence ARCHITECT			
Jednotky, referenční meze	CMV IgG avidita	hodnota	hodnocení	jednotky
		<50	Nízká avidita	%avi
		50-59,9	Šedá zóna (hraniční)	
		≥60	Vysoká avidita	
Informace o vyšetření				
Avidita značí funkční vazebnou afinitu, neboli pevnost vazby protilátek. S délkou trvání imunitní odpovědi proti infekci se zvyšuje, nízká avidita tedy svědčí pro primární infekci, zatímco vysoká avidita pro dříve proběhlou infekci, případně rekurenci (reinfekci, reaktivaci infekce). Toto vyšetření pomáhá rozlišit primární infekci, což má velký význam zejména u vyšetření těhotných, novorozenců nebo osob s alterovanou imunitní odpovědí. Vyšetření avidity provádíme u všech pozitivních výsledků IgG.				

EBV (Epstein-Baarové virus) EBNA-1 IgM, VCA IgM, VCA IgG, EBNA-1 IgG

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml			
Metoda vyšetření	Chemiluminiscence ARCHITECT: VCA IgM, VCA IgG, EBNA-1 IgG ELISA: EBNA-1 IgM			
Jednotky, referenční meze	Protilátky	Referenční meze	jednotky	
	EBNA-1 IgM	Negativní: < 0,900 Hraniční: 0,900 - 1,1 Pozitivní: > 1,1	Index positivity IP	
	Protilátky	Referenční meze	jednotky	
	EBNA -1 IgG	< 0,5 negativní 0,5-1,0 hraniční ≥1,0 pozitivní	Index positivity IP	

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

	VCA IgG	< 0,5 negativní 0,5-1,0 hraniční ≥1,0 pozitivní	Index positivity IP
	VCA IgM	< 0,5 negativní 0,5-1,0 hraniční ≥1,0 pozitivní	Index positivity IP

Informace o vyšetření

Virus Epstein – Barrové (EBV) patří do skupiny herpetických virů (HHV4). Zdrojem infekce je nakažený člověk. Virus se přenáší kapénkovou infekcí nebo přímým kontaktem. EB virus je etiologickým agens infekční mononukleózy (IM) a má také vztah k Burkittovu lymfomu a nazofaryngeálnímu karcinomu. 90 % nákaz proběhne v dětském věku. Po inkubační době (1-2 měsíce) dochází k rozvoji IM s těmito charakteristickými příznaky – horečka, faryngitida, generalizované zvětšení lymfatických uzlin. Projevy EB virózy jsou ovlivněny věkem a stavem imunitního systému organismu. Po proděláním primární infekce EBV nevymizí z organismu úplně, přetrvává v latentním stavu a může se reaktivovat.

V diagnostice onemocnění je důležitá anamnéza, klinický obraz pacienta a výsledky laboratorních testů. K průkazu infekce a určení fáze infekce se nejčastěji využívá metoda ELISA, pomocí které se zjišťuje přítomnost specifických protilátek třídy IgA, IgG a IgM proti jednotlivým antigenům EBV (VCA, EBNA-1, EA-D) v séru nebo plazmě.

VCA: Protilátky anti-VCA třídy IgA a IgM jsou markery akutní infekce a mohou se tvořit jak při primární infekci, tak při reaktivaci EBV infekce. Protilátky třídy IgM dosahují vysokých hladin v akutní a rekonvalescenční fázi infekční mononukleózy. Obě třídy protilátek mohou perzistovat až několik měsíců. Protilátky třídy IgG mají anamnestický charakter a přetrvávají ve vysokých titrech po celý život u většiny infikovaných osob. Sérokonverze IgG může být detekována už v časně fázi primoinfekce, signifikantní vzestup doprovází i reinfekci a reaktivaci. Stanovení avidity IgG umožňuje rozlišit primární a dříve prodělanou infekci.

EBNA-1: Protilátky anti-EBNA-1 třídy IgM jsou detekovatelné v průběhu akutní fáze primoinfekce několik týdnů až měsíců a tvoří se i při reaktivaci. Protilátky třídy IgG se objevují s větším časovým odstupem a jsou detekovatelné po celý život. Dlouhodobá absence IgG protilátek u infikovaných osob může indikovat imunodeficit.

EA-D: Protilátky anti-EA-D třídy IgM a IgG jsou doplňkové markery primární infekce EBV. Vysoké titry anti-EA-D IgG jsou typické pro pozdní akutní a rekonvalescentní fázi IM.

Helicobacter pylori IgA, IgG			
Materiál, množství	Sérum – 0,5ml		
Metoda vyšetření	ELISA		
Jednotky, referenční meze	IgA: Index positivity IP		IgG: AU/ml
	Negativní: < 0,900		Negativní: < 8
	Hraniční: 0,900 - 1,1		Hraniční: 8-12

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

	Pozitivní: > 1,1		Pozitivní: > 12	
Informace o vyšetření				
<i>Helicobacter pylori</i> řadíme do rodu <i>Helicobacter</i>. Jako patogen se uplatňuje při infekcích žaludeční sliznice, a to zejména v oblasti antra a duodena. Je původcem chronické gastritidy typu B, na jejímž podkladě se může později rozvinout vředová choroba, případně může přejít ve formu atrofickou s rizikem vzniku žaludečního karcinomu. Infekce <i>H. pylori</i> je spojována rovněž s dyspeptickými potížemi, epigastrickými bolestmi, vředovou chorobou gastroduodena, příp. MALT lymfomem. Neinvazivní ELISA testy jsou vhodné pro sledování efektivity terapie, vyhledávání infekce a reinfekce. Eradikace mikroba je následována poklesem hladiny protilátek. IgA protilátky jsou přítomny nejen v akutní fázi onemocnění, ale i při chronické infekci žaludeční sliznice spolu s protilátkami třídy IgG. Jejich zvýšení je popsáno také u pacientů s rizikem karcinomu žaludku. Přítomnost IgG protilátek potvrzuje kontakt s <i>H. pylori</i>, není však indikátorem aktivity infekce. Sérokonverze nastává cca 2 měsíce po primoinfekci.				

<i>Chlamydia pneumoniae, Chlamydia trachomatis</i> IgM, IgA, IgG	
Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	ELISA
Jednotky, referenční meze	Index positivity
	Negativní: < 0,900
	Hraniční: 0,900 - 1,1
	Pozitivní: > 1,1
Informace o vyšetření	
Chlamydie jsou gramnegativní bakterie, obligatorní intracelulární parazité. Onemocnění probíhají často jako chronický zánět s výraznou fibroprodukcí. <i>Chlamydia (Chlamydophila) pneumoniae</i> je ze všech druhů chlamydií v lidské populaci nejrozšířenější. K primoinfekci většinou dochází mezi 5. až 18. rokem života. Nejčastějšími klinickými projevy infekce jsou: rhinitis, sinusitis, otitis media, pharyngitis, bronchitis, atypická pneumonie s neproduktivním kašlem a nevýrazným poslechové nálezem, reaktivní artritida. <i>Chlamydia trachomatis</i> je nejčastějším sexuálně přenášeným bakteriálním patogenem a původcem pohlavních chorob na světě. Nejvíce ohroženou skupinou jsou mladí lidé, nejvíce ve věkové skupině 15–30 let. Urogenitální chlamydiové infekce často probíhají ve formě tzv. postgonokokového zánětu. Cervikální chlamydiová infekce je v současné době považována za jeden z rizikových faktorů pro vznik karcinomu děložního hrdla. <i>Chlamydia trachomatis</i> je nejčastější příčinou neplodnosti u žen i u mužů. Způsobuje záněty u žen (endometritida, adnexitida, perihepatitida, periapendicitida, peritonitida, reaktivní artritida...), mužů (epididymitida, prostatitida, posturetritická reaktivní artritida...) i novorozenců (konjunktivitida, pneumonie). Průkaz protilátek metodou ELISA je založen na průkazu druhově specifických protilátek IgM, IgA a IgG proti komplexu membránových proteinů MOMP. IgM protilátky svědčí pro časnou fázi primoinfekce, IgA pro akutní, chronickou nebo perzistující infekci a IgG pro infekci prodělanou. Nástup druhově specifických protilátek je cca 3-6 týdnů po infekci a časté je jejich dlouhodobé	

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

přetrvávání, zejména ve třídě IgG. Nález protilátek není možno hodnotit izolovaně, vždy je nutno hodnotit v souvislosti s klinickým stavem pacienta.

Při interpretaci výsledků vyšetření nutno vzít v úvahu:

- Protilátky mohou být prokázány u klinicky zcela zdravých osob, pouhý nález protilátek není indikací k antibiotické léčbě
- Je možná zkřížená reaktivita mezi antigeny *Ch. trachomatis* a *Ch. pneumoniae*
- Polyklonální stimulace B-lymfocytů při EBV infekci může způsobit nespecifickou reaktivitu ve třídě IgM
- Laboratorní výsledky je nutno vždy posuzovat v souvislosti s klinickým obrazem, efekt terapie nemusí korespondovat s indexem positivity prokázaných protilátek v séru odebraného po léčbě. Často dochází po léčbě ke zvýšení titru.

***Chlamydia* spp. Immunoblot IgA, IgG**

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	Rekombinantní imunoblot
Jednotky, referenční meze	Pozitivní/hraniční/negativní

Informace o vyšetření

BLOT-LINE souprava k detekci specifických protilátek třídy IgA a IgG proti rekombinantním antigenům *Chlamydia* species v lidském séru nebo plazmě. Současně vyšetří specifické antigeny proti druhům *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis* a *Chlamydia psittaci*.

Princip vyšetření:

Rekombinantní antigeny jsou naneseny na nitrocelulózovou membránu upevněnou na plastové podložce. V průběhu testu jsou jednotlivé stripky inkubovány s vyšetřovaným vzorkem, přičemž dochází k vazbě specifických protilátek přítomných ve vzorku na příslušné antigenní linie na stripku.

Přehled testovaných specifických antigenů

	Antigen	Popis
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	MOMP Cp	dominantní povrchový druhově specifický membránový protein - funkce strukturálního proteinu; metabolická funkce
	MOMP 1	izoforma antigenu MOMP, vzniklá posttranslační modifikací
	OMP2 Cp	povrchový druhově specifický membránový protein – základní složka povrchového membránového komplexu chlamydií
	OMP 4	vnější membránový protein
	OMP 5	vnější membránový protein
	P 54	imunodominantní povrchový antigen, vysoce specifický pro <i>Ch. pneumoniae</i> – citlivý marker pro diagnostiku akutní

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

		infekce
<i>Chlamydia trachomatis</i>	MOMP Ct	dominantní povrchový druhově specifický membránový protein - funkce strukturálního proteinu; metabolická funkce
	OMP2 Ct	povrchový druhově specifický membránový protein – základní složka povrchového membránového komplexu chlamydií
	HSP 60	protein teplotního šoku (GroEL); marker chronického zánětu
<i>Chlamydia psittaci</i>	MOMP Cps	dominantní povrchový druhově specifický membránový protein - funkce strukturálního proteinu; metabolická funkce
	OMP2 Cps	povrchový druhově specifický membránový protein – základní složka povrchového membránového komplexu chlamydií
Výsledek vyšetření je interpretován jako negativní/hraniční/pozitivní podle výsledků reakce s jednotlivými antigeny. Současně jsou na výsledkovém listu uvedeny specifické antigeny, jejichž reakce byla hraniční nebo pozitivní.		

<i>Mycoplasma pneumoniae</i> IgA, IgM, IgG	
Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	ELISA
Jednotky, referenční meze	Index positivity
	Negativní: < 0,900
	Hraniční: 0,900 - 1,1
	Pozitivní: > 1,1
Informace o vyšetření	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> je primárním patogenem dýchacího traktu. Způsobuje pneumonie doprovázené zvýšenou teplotou, nevolností, zimnicí, kašlem a únavou. Onemocnění je vleklé, ale dobře léčitelné antibiotiky. Nákaza je přenosná vzduchem, kapénkovou infekcí. K epidemiím dochází zpravidla ve velkých zejména dětských kolektivech v jarních a podzimních měsících. Diagnostika onemocnění je založena na klinickém obrazu, epidemiologické anamnéze a laboratorních testech. Vzhledem k obtížné kultivaci <i>Mycoplasma pneumoniae</i> je pro rutinní diagnostiku vhodnou možností stanovení specifických protilátek tříd IgA, IgG a IgM v séru nebo plazmě metodou ELISA. Při primoinfekci dochází k tvorbě protilátek třídy IgM 1. až 2. týden po infekci, maxima dosahují cca 1 měsíc od začátku onemocnění a mohou perzistovat více než 1 rok. Výskyt specifických IgM protilátek u pacientů do 20 let je 80 %, u pacientů nad 20 let je 40 %. Při reinfekcích zpravidla nedochází k jejich vzestupu.	

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

K tvorbě protilátek třídy **IgA** dochází obvykle později než u IgM, častý je jejich časnější pokles. Význam mají zejména v případě absence IgM u některých pacientů a dále u reinfekcí.

U protilátek třídy **IgG** může docházet k vzestupu titru už po 2–3 týdnech od začátku výskytu příznaků, maximálních hladin dosahují za delší dobu, někdy až za 6 měsíců, perzistují déle než 1 rok, jsou známy případy perzistence déle než 4 roky. v případě reinfekcí je nutno hodnotit dynamiku protilátek u párových vzorků, odebraných s odstupem 1–2 týdny.

Souprava používá směs vysoce specifických rekombinantních antigenů, které zvyšují specifitu výsledků testu.

Klíšťová encefalitida (TBE virus) IgM, IgG

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml	
Metoda vyšetření	ELISA	
Jednotky, referenční meze	IgM: Index positivity	IgG: AU/ml
	Negativní: < 0,900	Negativní: < 18
	Hraniční: 0,900 - 1,1	Hraniční: 18-22
	Pozitivní: > 1,1	Pozitivní: > 22

Informace o vyšetření

Klíšťová encefalitida je infekční virové onemocnění, jehož původce řadíme mezi arboviry do čeledi *Flaviviridae*. Jedná se o nákazu s přírodní ohniskovostí. Rezervoárem viru jsou drobná i větší lesní zvířata a přenašečem různá vývojová stadia klíštěat. Člověk se nejčastěji nakazí po přisátí (i krátkodobém) infikovaného klíštěte, výjimečně požitím tepelně nezpracovaného infikovaného mléka. Nejvíce hlášených případů klíšťové encefalitidy je v létě a na podzim. Až 70 % infekcí TBE je klinicky inaparentních. Manifestní onemocnění má často dvoufázový průběh. Po inkubační době (3-14 dní) nastupují nespecifické chřipkové příznaky (horečka, bolesti hlavy a svalů, malátnost). Následuje několikadenní zlepšení stavu a poté dochází k rozvoji neurální fáze nemoci (prudké bolesti hlavy, poruchy vidění, zvracení, malátnost, meningeální příznaky, poškození hlavových nervů, parézy končetin). Akutní fáze klíšťové encefalitidy trvá 1-3 týdny. Těžší průběh, často i s trvalými následky, lze pozorovat u seniorů.

Pro diagnostiku klíšťové encefalitidy je důležitá anamnéza, klinický obraz onemocnění a výsledky laboratorních testů. Jedná se především o biochemické a cytologické vyšetření likvoru a dále o serologické stanovení protilátek třídy **IgM a IgG** v séru. Serologickým markerem akutní infekce jsou protilátky třídy IgM. Jejich tvorba může v ojedinělých případech přetrvávat až 10 měsíců. Protilátky třídy IgG zajišťují ochranu vůči nové nákaze a lze je detekovat dlouhodobě (několik let) po prodělané infekci či vakcinaci.

Morbili (spalničky) IgM, IgG

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	ELISA
Jednotky, referenční meze	Index positivity IP

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

	<table><tr><td>Negativní: < 0,800</td></tr><tr><td>Hraniční: 0,800 - 1,2</td></tr><tr><td>Pozitivní: ≥ 1,2</td></tr></table>	Negativní: < 0,800	Hraniční: 0,800 - 1,2	Pozitivní: ≥ 1,2	
Negativní: < 0,800					
Hraniční: 0,800 - 1,2					
Pozitivní: ≥ 1,2					
Informace o vyšetření					
Virus morbilli (angl. Measles) způsobuje exantematické onemocnění spalničky. Přenos se děje kapénkami od nemocné osoby, případně kontaminovanými sekrety z nosu, nosohltanu. Inkubační doba je průměrně 10-13 dní, nakažený člověk je infekční od objevení se prvních klinických příznaků až do cca 5. dne po objevení se vyrážky. Akutní stadium je charakterizováno úporným štekavým kašlem, který napomáhá rozsevu infekčních kapének. Nakažlivost je velmi vysoká. Dalšími projevy jsou horečka, rýma, zánět spojivek, výskyt typických skvrn na sliznici dutiny ústní (Koplikovy skvrny) a vyrážka, která se objeví 3.-5. den a šíří se postupně přes hlavu a krk na trup a končetiny. Infekce může být komplikována otitis media, pneumonií, encefalitidou. Očkování jejich výskyt výrazně snížilo, v současné době vzhledem ke snižující se proočkovanosti dochází k opětovnému výskytu tohoto závažného onemocnění. Při průkazu negativních protilátek IgG (po prodělaném onemocnění nebo po vakcinaci) je možné přeočkování jednou dávkou vakcíny. Průkaz protilátek IgM svědčí pro akutní onemocnění, izolovaný průkaz IgG pro prodělané onemocnění nebo postvakcinační imunitu.					

HSV 1+2 (Herpes simplex virus) IgM, IgG		
Materiál, množství	Sérum – 0,5ml	
Metoda vyšetření	ELISA	
Jednotky, referenční meze	IgM: Index positivity IP	IgG: Index positivity IP
	Negativní: < 0,900	Negativní: < 0,800
	Hraniční: 0,900 - 1,1	Hraniční: 0,800 - 1,2
	Pozitivní: > 1,1	Pozitivní: > 1,2
Informace o vyšetření		
Herpes simplex virus se vyskytuje ve dvou typech (HSV-1 a HSV-2), patří do skupiny herpetických virů. Oba typy virů mají společné antigeny a reagují zkříženě v sérologických testech. Přírodním hostitelem infekce je pouze člověk. Infekce se šíří kapénkami nebo úzkým osobním kontaktem. Místem primárního množení viru jsou sliznice oka, úst, nosu nebo genitálií. K primární infekci HSV-1 dochází zpravidla již v dětském věku. HSV-1 obvykle infikuje spojivku oka nebo sliznici dutiny ústní. Nákaza proběhne často asymptomaticky či může vést k vzniku herpetických lézí. Infekce HSV-2 patří k nejčastěji se vyskytujícím pohlavním nákazám ve formě lézí genitálních sliznic. Vzácně může být transplacentárně infikován plod, častěji dochází k infekci dítěte cervikálním sekretem v průběhu porodu. K nejzávažnějším projevům infekce HSV patří herpetická encefalitida.		

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Charakteristickou vlastností HSV je sklon k perzistenci v organismu. Za určitých okolností (stres, snížená imunita) může docházet k reaktivaci viru.

Primární infekce je vždy spojena s častou produkcí specifických protilátek třídy IgM. Jsou detekovatelné už 1 týden po infekci a přetrvávají po dobu asi 6 týdnů. Signifikantní vzestup hladiny IgG je zaznamenáván při vyšetření párových sér jak u primárních, tak i u rekurentních infekcí. Specifické IgG protilátky se objevují 2 až 3 týdny po primární infekci, ale mohou se objevit i za několik měsíců a zůstávají většinou v nízkých hladinách po celý život.

VZV (Varicella zoster virus) IgM, IgG

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml		
Metoda vyšetření	ELISA		
Jednotky, referenční meze	IgM: Index positivity IP		IgG: Index positivity IP
	Negativní: < 0,900		Negativní: < 0,800
	Hraniční: 0,900 - 1,1		Hraniční: 0,800 - 1,2
	Pozitivní: > 1,1		Pozitivní: > 1,2

Informace o vyšetření

Virus Varicella zoster (VZV, HHV-3) patří do skupiny herpetických virů a způsobuje infekční onemocnění plané neštovice (primární infekce) a pásový opar (reaktivace).

K primární infekci VZV dochází nejčastěji v dětství, a to kapénkovou infekcí. Po kontaktu s infikovanou osobou onemocní až 90 % lidí bez specifických protilátek. Příznaky infekce zahrnují horečku, zimnici, žaludeční potíže nebo průjem, svědění nebo bolest kůže v místech, kde se později objeví charakteristický exantém. Onemocnění zpravidla odezní bez následků. Primoinfekce u adolescentů a dospělých mívají těžší průběh, někdy s vážnými komplikacemi (např. encefalitidy, pneumonie a záněty jater), a to zvláště u jedinců s oslabenou imunitou.

Virus prostupuje také placentou a následná infekce plodu může vést k těžkým vrozeným defektům. Dojde-li k nákaze séronegativní matky (bez specifických protilátek) kolem termínu porodu, je novorozenec vážně ohrožen na životě.

Charakteristickou vlastností VZV je sklon k perzistenci v organismu. Při snížení obranyschopnosti může docházet k reaktivaci viru a vzniku pásového oparu.

Toxoplasma gondii IgM, IgA, IgG, avidita IgG

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml		
Metoda vyšetření	Chemiluminiscence ARCHITECT, ELISA		
Jednotky, referenční meze	IgM: Index positivity IP		IgG: IU/ml
	Negativní: < 0,500		Negativní: < 1,6
	Hraniční: 0,5 – 0,6		Hraniční: 1,6-3
	Pozitivní: > 0,6		Pozitivní: > 3
	IgA: Index positivity IP		

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

		Negativní: < 0,9	
		Hraniční: 0,9-1,1	
		Pozitivní: > 1,1	
	Avidita IgG: %avi		
		Nízká avidita: < 50	
		Šedá zóna: 50-60	
Vysoká avidita ≥ 60			

Informace o vyšetření

Toxoplasmóza je parazitární onemocnění, jehož původcem je prvok *Toxoplasma gondii*. Jedná se o parazita se složitým vývojovým cyklem, který se vyskytuje v několika morfologicky odlišných stádiích. Primárním hostitelem jsou kočkovité šelmy, které vylučují infekční oocysty. Člověk a ostatní teplokrevní obratlovci jsou pouze mezihostiteli, můžou se nakazit buď primárně infikovanou potravou – masem jiných mezihostitelů obsahujícím tkáňové cysty (nedostatečně tepelně upravené maso), nebo pozřením infekční oocysty z trusu koček na neomytých potravinách (zelenina, ovoce...) nebo různých substrátech (písek, hlína atd.).

Průběh onemocnění:

- 1. Inkubační doba:** cca 2 týdny (5-23 dní)
- 2. Akutní fáze:** začne po uplynutí inkubační fáze. U neimunního jedince dochází k šíření parazita ve formě **tachyzoitů** krevní cestou do orgánů hostitele, vznikají typické histopatologické změny. Trvá cca 4 měsíce od nákazy. V této fázi bývají diagnostikovatelné **IgM, IgA**, postupně stoupají **IgG s nízkou aviditou**.
- 3. Postakutní fáze:** začíná cca po 4 měsících od infekce. Díky aktivaci účinné buněčné i protilátkové imunity dochází k eliminaci tachyzoitů, ale toxoplasmy nadále přežívají ve formě **bradyzoitů** v tkáňových cystách. Laboratorně dochází k **poklesu hladin IgA, IgM** klesají pomaleji (někdy přetrvávají i 18 měsíců), **IgG** jsou již stabilní, **s vysokou aviditou**.
- 4. Latentní fáze:** v této fázi jsou již toxoplasmy neaktivní, přežívají v tkáňových cystách ve formě bradyzoitů. Toto přetrvávání je celoživotní. U imunokompetentních jedinců udržuje imunitní systém stav, který chrání před reaktivací i reinfekcí. Pokud dojde k imunosupresi, hrozí reaktive latentní infekce. Laboratorně nacházíme pozitivní **IgG s vysokou aviditou**, IgM a IgA jsou negativní.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Schéma tvorby protilátek při toxoplasmové infekci:

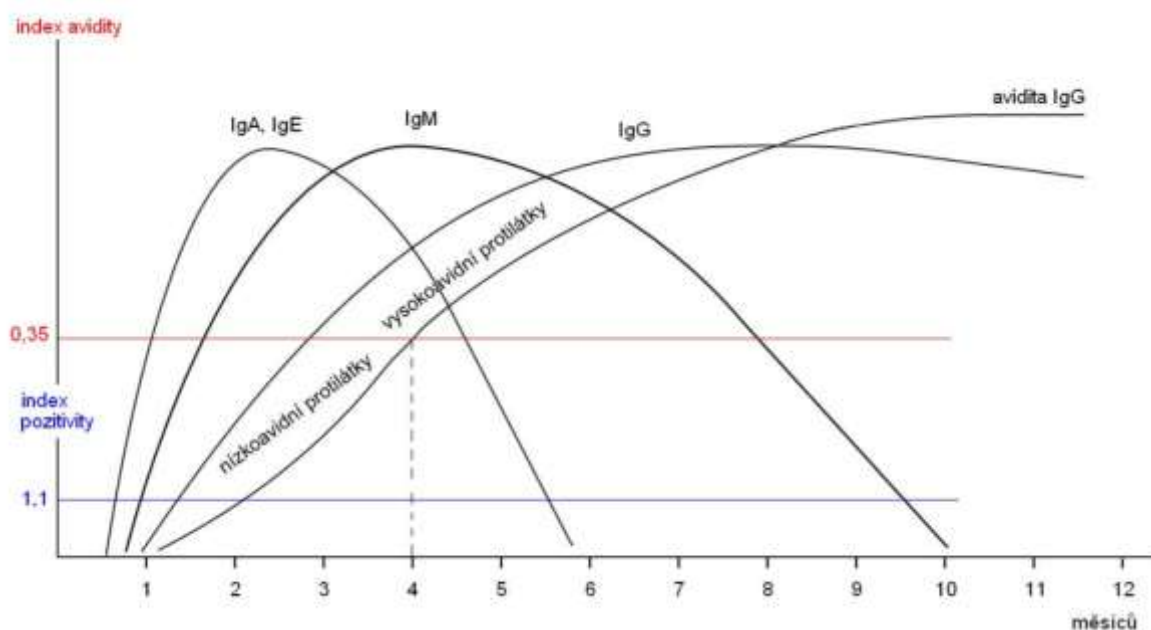
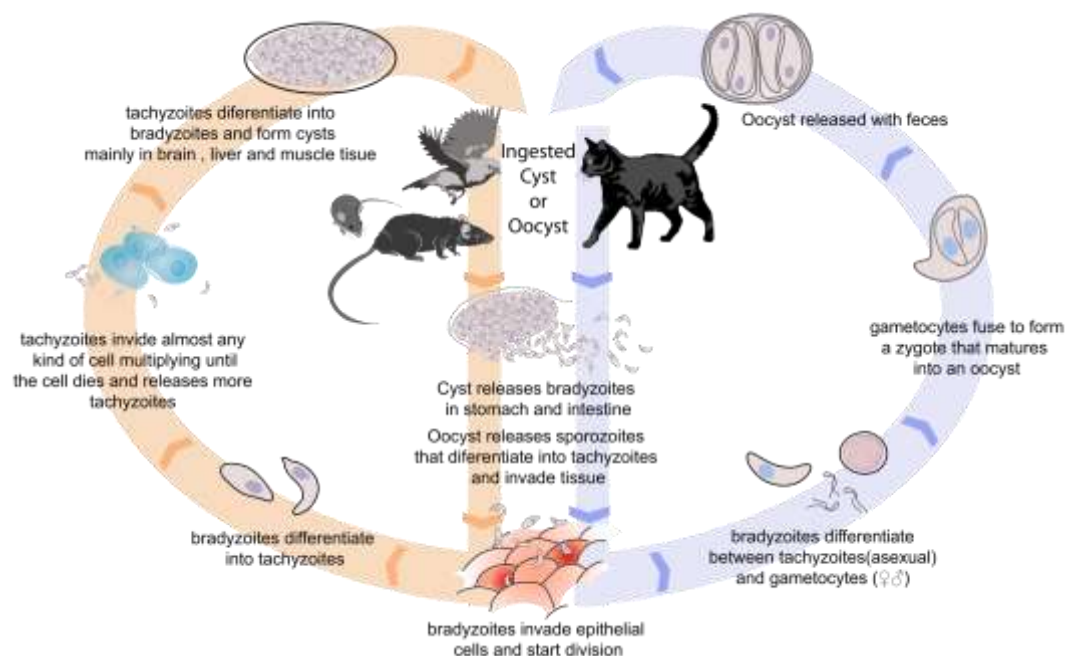


Schéma životního cyklu parazita:



Autor: LadyofHats – Made by myself using this information as source: [1], [2], [3],[4], as well as the article in wikipedia between others, Volné dílo, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=9739354>

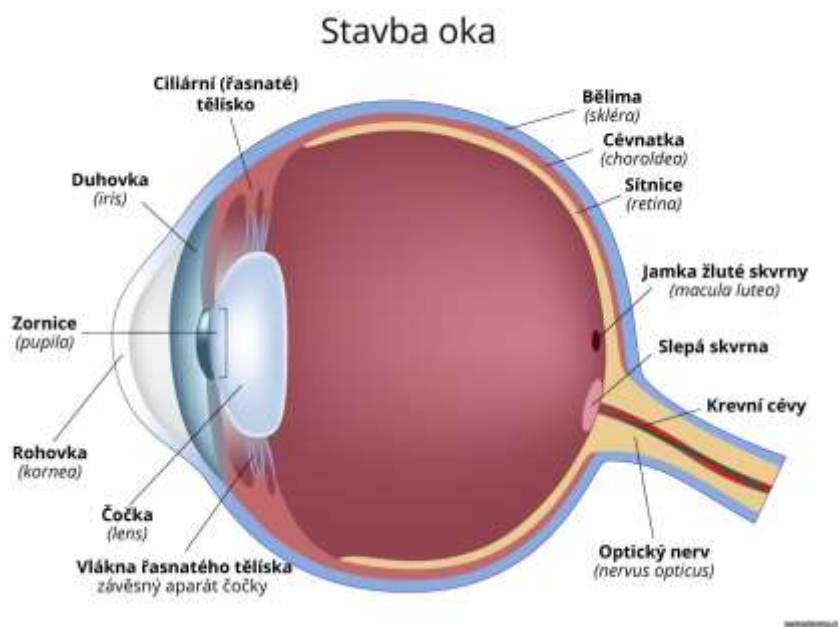
Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Klinický obraz:

U imunokompetentních pacientů: průběh bývá nejčastěji asymptomatický nebo abortivní, příznaky jsou mírné – chřipkové (bolesti svalů, hlavy, subfebrilie), součástí může být únavový syndrom přetrvávající týdny až měsíce.

U 10-20 % pacientů je přítomno zvětšení lymfatických uzlin (lokalizovaná nebo generalizovaná **lymfadenopatie**), uzliny nekolikují. Typickou lokalizací jsou krční a záhlavní uzliny. Velikost uzlin je až několik centimetrů, jsou volné, bolestivé na pohmat. Přetrvávání lymfadenopatie může trvat i několik měsíců.

Následkem proběhlé infekce (po odeznění akutní fáze) může být **oční forma toxoplasmózy**, která se prezentuje jako toxoplasmová chorioretinitida (zánět cévnatky a sítnice).



U imunokompromitovaných pacientů může onemocnění probíhat velmi závažně, jako generalizované onemocnění. Hrozí u nich i riziko reaktivace latentní infekce.

K vzácným formám patří hepatitida, pneumonie, polymyositida atd.

Kongenitální toxoplazmóza:

Vrozená (kongenitální) toxoplazmóza je způsobena přenosem infekce z matky na plod. Je důsledkem primoinfekce matky krátce před otěhotněním nebo v graviditě. Může vést k abortu, porodu mrtvého dítěte nebo porodu dítěte s různým stupněm poškození (kalcifikace mozku, hydrocefalus, poruchy zraku, ovlivnění duševního vývoje). Riziko kongenitální infekce je nejnižší, pokud k nákaze došlo v 1. trimestru gravidity (10-25 %). Pokud došlo k nákaze naopak ve 3. trimestru, je riziko infekce plodu nejvyšší (až 60-90 %).

Doporučené vyšetřovací schéma těhotných (dle Doporučeného postupu pro diagnostiku a léčbu

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

toxoplasmózy, Společnost infekčního lékařství, ČLS JEP):

1. Screeningové vyšetření: IgG, IgM
2. Suspekce na akutní fázi: kontrolní odběr - IgM, IgA, IgG, avidita IgG

Séra pacientů svědčící pro akutní nebo probíhající toxoplazmózu zasíláme na potvrzení do NRL pro toxoplazmózu (SZÚ Praha).

Toxocara spp. IgG

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	ELISA
Jednotky, referenční meze	Index positivity IP
	Negativní: < 0,900
	Hraniční: 0,900 - 1,1
	Pozitivní: > 1,1

Informace o vyšetření

Larvální toxokaróza je helmintóza lidské tkáně způsobená psími škrkavkami (*Toxocara canis*) a kočičími škrkavkami (*Toxocara cati*) v larválním stadiu. Larvy po vylíhnutí z infikovaných vajíček postupují do lidského střeva, prostupují přes střevní stěnu a přes krev a lymfatický systém migrují do jater, plic, centrálního nervového systému, očí, svalů a ostatních orgánů. Jejich migrace vede k různým klinickým patologiím jako je syndrom larva migrans, oční toxokaróza a neurotoxokaróza. Diagnóza se zakládá na posouzení různých údajů: anamnézy, klinických příznaků a výsledků laboratorních vyšetření. Stanovení specifických protilátek IgG představuje zásadní diagnostický nástroj: vzhledem k neúplnému životnímu cyklu larev a nespecifické symptomatologii je přítomnost specifických protilátek proti exkrečnímu-sekrecnímu antigenu (ES) spolehlivým indikátorem přítomnosti onemocnění u lidí.

Adenoviry IgA, IgG

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	ELISA
Jednotky, referenční meze	Index positivity IP
	Negativní: < 0,900
	Hraniční: 0,900 - 1,1
	Pozitivní: > 1,1

Informace o vyšetření

Adenoviry jsou největší neobalené viry. Dosud bylo u člověka popsáno 51 serotypů, rozdělených

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

na 6 druhů. Nejvíce adenovirových infekcí nalezneme u dýchacího ústrojí, kdy se jedná od konjunktivitidy po gastroenteritidu. Adenovirové infekce jsou běžným a častým onemocněním a k nákaze dochází převážně v dětském věku. Přenáší se slinami a stolicí, z osoby na osobu prostřednictvím kapénkovou infekcí.

Většina infekcí je asymptomatických. Asi 5 % nachlazení dětí má na svědomí adenovirus. Virus se může mezi lidmi šířit v zalidněných oblastech a působit epidemie. Adenovirové infekce je možné detekovat buďto přímo nebo serologickými metodami KFR a ELISA.

V normální populaci lze prokázat vysokou séropozitivitu, která je následkem infekcí různými podtypy získanými v dětství. V případě akutních adenovirových infekcí zaznamenávají normální serologické postupy výrazný nárůst titru u dvou vzorků sér získaných v intervalu 8–10 dní. Ačkoliv má stanovení IgM v případě primárních infekcí diagnostickou hodnotu, představuje stanovení IgA spolu s IgG hlavní imunitní odezvu u pacientů postižených adenovirovou infekcí.

Parvovirus B19 IgM, IgG

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	ELISA
Jednotky, referenční meze	Index positivity IP
	Negativní: < 0,800
	Hraniční: 0,800 - 1,2
	Pozitivní: > 1,2

Informace o vyšetření

Parvovirus B19 je nejmenší známý virus. Je charakterizován vysokou stabilitou vůči faktorům životního prostředí a čisticím prostředkům.

Infekce způsobené Parvovirem B19 se vyskytují na celém světě, zejména na jaře. Epidemie se mohou vyskytovat ve školkách a školách. Virus se přenáší ve formě aerosolu, prostřednictvím krve a jejích derivátů nebo přes placentu; jeho inkubační doba se pohybuje od 4 do 14 dnů a může být zjištěn v séru infikovaných pacientů mezi třetím a šestnáctým dnem po infikování.

U dospělých zdravých osob vyhledávání protilátek přináší pozitivní výsledky v přibližně 70 % případů. Akutní infekce jsou nejčastější ve věku od 6 do 15 let. U dětí virus způsobuje pátou nemoc (erythema infectiosum).

Když se objeví vyrážka, pacient již není nakažlivý. U některých jedinců může dojít k výskytu artrotických symptomů doprovázených bolestí kloubů. Virus se rozmnožuje v erytroblastech a způsobuje dočasnou anémii. Infekce může vést ke komplikacím u imunokompromitovaných pacientů. Infekce během těhotenství může vést k inhibici erythropoézy plodu, což má za následek fetální anémii a hydrops plodu, a může vést dokonce až k smrti.

Stanovení protilátek proti Parvovirus B19 metodou ELISA představuje standardní metodu pro diagnózu infekcí způsobených Parvovirem: IgM jsou detekovány nejdříve a přetrvávají 3-5 měsíců po infikování, IgG se objeví ve třetím týdnu po infikování a perzistují v organismu po celý život.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

RS virus IgA, IgG	
Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	ELISA
Jednotky, referenční meze	Index positivity IP
	Negativní: < 0,900
	Hraniční: 0,900 - 1,1
	Pozitivní: > 1,1
Informace o vyšetření	
Respirační syncytiální virus (RSV) je hlavním původcem respiračních onemocnění v pediatrickém věku. Většina infekcí se projevuje během prvních 6–12 měsíců života, často v podobě náhlých sezónních epidemií. Vzhledem k závažnosti onemocnění, která RSV způsobuje (bronchiolitidy, pneumonie), lze tento virus považovat za virus s nejvyšší morbiditou v raném dětství, s nímž je spojena také určitá mortalita, zejména u jedinců trpících jinými závažnými onemocněními. Stanovení protilátek třídy IgG u dospělých umožňuje kromě epidemiologických opatření také potvrzení přítomnosti probíhající infekce, pokud dojde ke zjištění vysoké hladiny protilátek IgG nebo významného zvýšení hladiny protilátek IgG mezi dvěma odběry provedenými s odstupem přibližně 2 týdnů. Ukázalo se však, že protilátková odpověď ve třídě IgG není relevantní u dětí, zejména v prvním roce života. U nich byla prokázána převážně tvorba protilátek třídy IgA. 87 % dětí s probíhající infekcí vykazuje vysokou hladinu IgA, zatímco pouze u 20 % jsou přítomny protilátky třídy IgG.	

HIV 1+2, p24 antigen	
Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	CHEMILUMINESCENCE ARCHITECT CLIA (HIV Ag/Ab COMBO)
Jednotky, referenční meze	Index positivity IP
	Negativní: < 1,0
	Reaktivní: ≥ 1,0
Informace o vyšetření	
Virus lidského imunodeficitu (Human Imunodeficiency Virus) dělíme na dva subtypy HIV-1 a HIV-2. Zdrojem infekce je infikovaný člověk, a to od počátku infekce po celou dobu nákazy. Přenos viru se děje pohlavním stykem (heterosexuálním i homosexuálním), infikovanou krví a přenosem z infikované matky na dítě (transplacentárně, během porodu nebo kojením). Vnímavé k infekci jsou buňky nesoucí receptor CD4⁺ (makrofágy, lymfocyty). Prostřednictvím těchto buněk dochází k šíření do regionálních lymfatických uzlin a krve. V období virémie (přítomnosti viru v krvi) je možno prokázat v séru hlavní kapsidový antigen p24. Běžné testy na protilátky jsou v tomto stadiu zpravidla negativní (nedošlo k sérokonverzi). S rozvojem imunitní reakce klesá virémie a postupně je možno detekovat protilátky v krvi. Detekce protilátek je spolehlivá až po 3 měsících po infekci.	

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Imunologické okno pokrývá detekce antigenu p24, který je součástí testu.

Všechny suspektně pozitivní (reaktivní) nálezy je nutno confirmovat nezávislou metodou v **Národní referenční laboratoři pro HIV/AIDS**, aby byla vyloučená falešná pozitivita. Laboratoř zasílá reaktivní nález do NRL a výsledek uzavírá až po vyloučení/potvrzení reaktivity. K výsledku z laboratoře přikládá i výsledek confirmace z NRL.

Diagnostika LUES (syfilis)

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml		
Metoda vyšetření	CHEMILUMINISCENCE ARCHITECT (CLIA) RRR (Rychlá Reaginová Reakce)		
Jednotky, referenční meze	TP test: Index positivity IP <table><tr><td>Negativní: < 1,0</td></tr><tr><td>Reaktivní: ≥ 1,0</td></tr></table> RRR: kvalitativní průkaz reagínových nespecifických protilátek výsledek: pozitivní, negativní	Negativní: < 1,0	Reaktivní: ≥ 1,0
Negativní: < 1,0			
Reaktivní: ≥ 1,0			

Informace o vyšetření

Syfilis je onemocnění způsobené spirochetou ***Treponema pallidum***.

Přenáší se pohlavním stykem, včetně análního a orálního. Možná je také infekce plodu během těhotenství nebo kojení - tímto způsobem vzniká u dětí vrozená syfilis. V největším ohrožení jsou promiskuitní jedinci, drogově závislí, homosexuálové, lidé provozující nechráněný styk a osoby spojované s prostitucí.

Neléčená získaná syfilis probíhá ve 3 stádiích:

Primární stadium – průměrně nastupuje za 3 týdny po styku s infikovaným člověkem, typickým projevem je tzv. „**tvrdý vřed**“, který se objevuje nejčastěji v místě vstupu infekce. Během několika týdnů dochází ke spontánnímu zhojení, a to i v případě, že nebyla aplikována antibiotická terapie.

Pokud není nasazena specifická terapie, dochází k přechodu do:

Sekundárního stadia – rozvoj projevů je za 4-10 týdnů od objevení se vředu.

- * Typická je **vyrážka** po celém těle včetně plošek nohou tvořená drobnými červenohnědými puchýřky, které jsou vysoce nakažlivé.
- * Dalším typickým projevem sekundárního stadia jsou **condylomata lata** – vystouplé puchýře pokryté bílošedým páchnoucím povlakem (nejčastěji v oblasti třísel, genitálií, podpaží). Jsou rovněž velmi infekční.
- * Kromě toho je toto stadium doprovázeno systémovými projevy infekce (zvýšená teplota, bolesti kloubů, svalů, celková únava, zvětšené mízní uzliny.....).

Pokud se pacient neléčí, onemocnění přechází do tzv. **latentního stadia**, kdy je klinicky bezpříznakový, není infekční pro své okolí, ale v krvi jsou prokazatelné protilátky. Pokud dojde k otěhotnění, plod je ohrožen vrozenou syfilis. Toto stadium může trvat různě dlouho, až 30 let.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Asi u třetiny pacientů dochází poté k přechodu do:

Terciárního stadia – příznaky jsou

- * **Kardiovaskulární**
- * **Gummata** - zánětlivá ložiska lokalizovaná po celém těle a tvořící otevřené vředy
- * případně může dojít k projevům **neurosyfilis** se závažným postižením CNS (tabes dorsalis, progresivní paralýza, poruchy osobnosti.....)

VROZENÁ SYFILIS (syphilis congenita): postižení plodu nebo novorozence, buď tranplacentárně nebo v průběhu porodu. Následkem může být spontánní potrat, předčasný porod, narození nemocného dítěte.

V případě onemocnění dítěte rozlišujeme:

- * **syphilis congenita praecox** – objevuje se po narození (hepatosplenomegalie, kostní abnormality, zánětlivá ložiska, vyrážka) – zpravidla vede ke smrti do 1 roku věku
- * **syphilis congenita tarda** – objevuje se od 5 let věku do adolescence (Hutchinsonova trias – hluchota, slepota, deformace kostí, případně i tabes dorsalis a progresivní paralýza).

Vyšetření syfilis je povinně prováděno dvěma testy – nespecifickým a specifickým.

RRR (RPR) - Rychlá Reaginová Reakce (Rapid Plasma Reagin) je testem prokazujícím nespecifické antikardiolipinové protilátky, které se při tomto onemocnění vyskytují. Jedná se o aglutinační metodu ze séra, výhodou je snadná proveditelnost a rychlost. **Protilátky se vyskytují cca za 4 týdny od začátku infekce.**

Může být zatížena **falešnou pozitivitou** způsobenou např. autoimunitními onemocněními, malignitami, jinými infekčními onemocněními (hepatitida, příušnice, infekční mononukleóza, VZV....), antifosfolipidovým syndromem.

Falešná negativita bývá nejčastěji způsobena vyšetřením v počátečním stadiu před sérokonverzí, u akutní syfilis je příčinou tzv. **zonální fenomén** (u 1-2 % sér), kdy je vyšetření neředěného séra negativní a teprve při postupném ředění se objevuje pozitivita. To by mohlo způsobit únik akutních onemocnění, standardně se negativní séra dále neředí. Proto je každý netreponemový test nutno doplnit dalším specifickým testem, který případné protilátky zachytí.

TP test prokazuje chemiluminiscenční metodou **specifické protilátky proti *Treponema pallidum* (TP)**. **Sérokonverzi zachytí cca 5. – 6. týden po infekci.**

Je třeba počítat s možností **falešně pozitivních výsledků**, příčiny jsou podobné jako u RRR testu (autoimunity, malignity, virové infekce, infekce jinými spirochétami – borreliemi,).

Falešná negativita je způsobena především odběrem v inkubační době a na počátku I. stadia před sérokonverzí.

Všechny suspektně pozitivní (**reaktivní**) nálezy musí být zaslány ke konfirmačnímu vyšetření do NRL pro syfilis, aby byla vyloučena falešná pozitivita. Laboratoř zasílá reaktivní nález do **NRL pro syfilis** a výsledek uzavírá až po vyloučení/potvrzení reaktivity. K výsledku z laboratoře přikládá i výsledek konfirmace z NRL.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Hepatitidy: VHA (virová hepatitida A) VHB (virová hepatitida B) VHC (virová hepatitida C)		
Materiál, množství, interference	Sérum – 0,5ml (podle počtu požadovaných metod úměrně více) Interferenci mohou vykazovat vzorky silně hemolytické, směsné nebo neúplně koagulované (to může být způsobeno terapií heparinem – vzorek krve na vyšetření je nutno odebrat před zahájením heparinové terapie)	
Metoda vyšetření	CHEMILUMINISCENCE ARCHITECT (CLIA)	
Jednotky, referenční meze	HAV:	
	Protilátky	jednotky
	a-HAV IgM	meze
		<0,8 negativní
		0,8-1,2 hraniční
	a-HAV IgG	meze
		<1,0 negativní
		≥1,0 pozitivní
	HBV:	
	HBsAg	meze
		<1,0 negativní
	HBeAg	meze
		<1,0 negativní
	a-HBc IgM	meze
		<1,0 negativní
	a-HBc total	meze
		<1,0 negativní
	a-HBe	meze
		≤1,0 pozitivní
	a-HBs	meze
		<10,0 negativní
	HCV:	
	a-HCV	meze
		<1,0 negativní

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Informace o vyšetření

Virová hepatitida A je infekční onemocnění jater způsobené **virem HAV** (RNA virus, *Picornaviridae*). Virus je odolný vůči zevnímu prostředí a šíří se **fekálně-orální cestou** („nemoc špinavých rukou“, kontaminovanou potravou, vodou). Vstupní bránou infekce je zažívací trakt, vylučuje se stolicí už cca 2 týdny před vznikem klinických příznaků, infekčnost nemocného je nejvyšší na konci inkubační doby.

Průběh onemocnění:

- * Inkubační doba: 15-48 dnů
- * Prodromální (preikterické) stadium: únava, dyspepsie, teplota, hubnutí.....
- * Symptomatické (ikterické) stadium: ikterus, tmavá moč, acholická (nápadně světlá) stolice
- * Rekonvalescence může trvat i několik měsíců

Průběh může být někdy i zcela bezpříznakový.

Virová hepatitida A nepřechází do chronického stadia.

Laboratorní diagnostika je založena na průkazu protilátek **IgM**, které se objevují v **akutní fázi** onemocnění a jsou téměř vždy detekovatelné při nástupu symptomů. Maximální hladiny dosahují asi po měsíci, přetrvávat mohou až 6 měsíců.

Protilátky **IgG** svědčí pro **proběhlou infekci**, mohou být také známkou **postvakcinační imunity**.

Virová hepatitida B je infekční onemocnění postihující játra, způsobené **virem hepatitidy B** (HBV, DNA virus, *Hepadnaviridae*). Virus se přenáší krví (nitrožilní aplikací léků, drog, poraněním o infikovanou jehlu, tetováním, piercingem.....), tělesnými tekutinami při pohlavním styku (sperma, poševní sekret, sliny), z matky na dítě v průběhu porodu.

Inkubační doba je 4-6 měsíců, po jejím skončení mohou být přítomny klinické příznaky charakterizované únavou, slabostí, nechutenstvím, kožní vyrážkou, ikterem, tmavou močí, světlou stolicí. U většiny osob po této akutní fázi dochází k uzdravě, u oslabených, dětí a starších jedinců může dojít k přechodu do chronicity, kdy se virus dále množí a pacienti jsou nadále zdrojem infekce pro okolí. Jaterní buňky jsou ničeny cytotoxickými T-lymfocyty, onemocnění může vyústit v jaterní cirhózu až hepatocelulární karcinom.

Laboratorní diagnostika se opírá o průkaz antigenů viru a protilátek proti těmto antigenům.

HBsAg (surface antigen)

Povrchový antigen VHB (australský antigen), slouží k navázání na jaterní buňku a je cílem neutralizačních protilátek. Objevuje se **1-10 týdnů po infekci a 2-8 týdnů před vznikem klinických příznaků**. Jedná se o **první serologický marker infekce HBV**. Přetrvává během akutní fáze, vymizí během rekonvalescence. Pokud nevymizí během 6 měsíců, stává se člověk chronickým nosičem viru.

Všechny suspektně pozitivní (reaktivní) nálezy zasíláme ke konfirmačnímu vyšetření do NRL pro virové hepatitidy, aby byla vyloučená falešná pozitivita. Laboratoř zasílá reaktivní nález do NRL a výsledek uzavírá až po vyloučení/potvrzení reaktivity. K výsledku z laboratoře přikládá i výsledek konfirmace z NRL. Součástí konfirmačního vyšetření může být po dohodě s lékařem průkaz HBV-DNA, (PCR metoda, prokazuje aktuální přítomnost a množení viru v krvi).

HBeAg (envelope antigen)

Solubilní antigen VHB který je vylučován pouze ve fázi replikace viru, je proto markerem vysoké infekciozity nemocného. Může přetrvávat i při chronické hepatitidě společně s HBsAg.

a-HBe

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Protilátky proti antigenu HBeAg jsou přítomny po prodělané infekci , ne ve fázi replikace viru						
a-HBc IgM, total (core antigen)						
Protilátky IgM jsou detekovány u pacientů s akutní infekcí , jsou proto spolehlivým markerem akutní fáze. Přetrvávají i v rekonvalescenci, zpravidla déle než HBsAg, poté postupně vymizí. Protilátky a-HBc total nerozliší mezi akutní a chronickou infekcí, jsou přítomny v akutní fázi i po vymizení HBsAg před nástupem protilátek a-HBs. Jsou pouze indikátorem probíhající nebo proběhlé infekce HBV.						
a-HBs (neutralizační protilátky)						
Váží se na antigen HBsAg, touto vazbou znemožní vstup viru do jaterní buňky. Jsou přítomny v séru osob, které prodělaly hepatitidu , nebo v séru osob očkovaných . Při sledování účinnosti vakcinace je stanovena jako dostačující hladina ≥ 10 mIU/ml. Tento marker je možno použít i k monitorování rekonvalescence po prodělané VHB.						
Hodnocení nálezu						
	HBsAg	a-HBs	HBeAg	a-HBe	a-HBc IgM	a-HBc total
Akutní VHB	+		+		+	+
Chronická aktivní infekce	+		+		+/-	+
Chronická inaktivní infekce	+			+		+
Prodělaná infekce		+		+		+
Vakcinace		+				
Virová hepatitida C je infekční onemocnění postihující především játra způsobené virem hepatitidy C (HCV) . Virus se přenáší krví (nitrožilní aplikace drog, nesterilní zdravotní pomůcky, transfúze, pohlavním stykem s použitím nestandardních praktik). Může dojít i k přenosu infekce z matky na plod. Postižena jsou především játra, nemoc přechází do chronicity, chronická infekce může být příčinou jaterní cirhózy, selhání jater nebo hepatocelulárního karcinomu. Onemocnění může probíhat zcela asymptomaticky. Laboratorní diagnostika je založena na screeningovém průkazu anti-HCV protilátek . Průkaz anti-HCV protilátek signalizuje infekci HCV nebo chronické nosičství viru . Všechny suspektně pozitivní (reaktivní) nálezy zasíláme ke konfirmačnímu vyšetření do NRL pro virové hepatitidy, aby byla vyloučená falešná pozitivita. Laboratoř zasílá reaktivní nález do NRL a výsledek uzavírá až po vyloučení/potvrzení reaktivity. K výsledku z laboratoře přikládá i výsledek konfirmace z NRL. Součástí konfirmačního vyšetření může být po dohodě s lékařem průkaz HCV-RNA, (PCR metoda, prokazuje aktuální přítomnost a množení viru v krvi).						

Monitorování hladin vankomycinu a gentamicinu

VANKOMYCIN	
Název metody	Vankomycin hladina
Název metody na výsledkovém	Vankomycin hladina

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

protokolu	
Jednotky	mg/l
Indikace vyšetření	Monitorování koncentrací antibiotika dosažených v krvi je podmínkou správného nastavení udržovací dávky, která omezí nefrotoxicitu i ototoxicitu a zajistí dostatečnou hladinu pro terapeutický účinek. Měření by mělo být provedeno před aplikací 5. dávky (cca 1-2 hodiny před podáním – měříme nejnižší, tzv. údolní koncentraci). Další vyšetření dle doporučení antibiotického střediska, intervaly jsou individuální podle dosažené hodnoty a eliminačních funkcí pacienta (u standardních pacientů 2x týdně, u nestabilních i denně nebo obden). Vankomycin je eliminován v 90 % ledvinami v nezměněné formě, sérový poločas je 6 hodin u pacientů s normální funkcí ledvin. Současně s odběrem na hladinu antibiotika nutno odeslat i sérum na biochemii k monitoraci renálních parametrů. Pro výpočet dávek je nutná aktuální hladina kreatininu.
Odběr u dialyzovaných pacientů	• Odběr před zahájením dialýzy. • U kontinuálních eliminačních metod kontrola hladiny před podáním dávky jako u nedialyzovaných pacientů, první kontrola po 48 hod.
Interpretace výsledků	Účinnost léčby vankomycinem závisí na celkové expozici antibiotikem během celého dávkovacího intervalu, proto je v současné době doporučeno měřit nejnižší (údolní) koncentrace. U stabilních pacientů v dobrém stavu je vhodné udržovat údolní koncentrace mezi 10-20 mg/l , u septických stavů mezi 15-20 mg/l . Tyto koncentrace by měly být dostatečně účinné pro eliminaci mikroorganismů a zároveň bezpečné z hlediska nežádoucích účinků (nefrotoxicity a ototoxicity).
Typ vyšetřovaného materiálu	Venózní krev (sérum)
Množství odebraného materiálu	5 ml
Množství séra potřebné pro vyšetření	150 µl
Stabilita materiálu při pokojové teplotě	≤ 3dny (separované i neseparované od koagula)
Stabilita materiálu při teplotě 2-8 °C	≤ 8dnů (separované od koagula)
Stabilita materiálu při teplotě -20 °C	≤ 3 měsíce (separované od koagula)
Interference	Hemoglobin nad 4 g/l, bilirubin nad 345 µmol/l, triacylglyceroly nad 28,5 mmol/l

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Dostupnost vyšetření	V pracovní době mikrobiologické laboratoře (MKB)
Doba odezvy výsledku pro rutinní vyšetření	Do 4 hodin od příjmu v MKB laboratoři
Doba odezvy výsledku pro statim vyšetření	do 1 hod od příjmu v MKB laboratoři (<u>při požadavku na statim nutno doručit přímo do MKB – budova J!</u>).
Referenční meze	Optimální terapeutická hladina: 10-20 mg/l, resp. 15-20 mg/l u septických stavů
GENTAMICIN	
Název metody	Gentamicin hladina
Název metody na výsledkovém protokolu	Gentamicin hladina
Jednotky	mg/l
Indikace vyšetření	Gentamicin je antibiotikum s úzkým terapeutickým indexem, jeho baktericidní účinek je závislý na peakových koncentracích a jeho farmakokinetika je individuální a těžce predikovatelná. Monitorování koncentrací antibiotika dosažených v krvi je podmínkou správného dávkování. Antibiotikum je nefrotoxické a ototoxické a správné dávkování je závislé na funkci ledvin, které jsou odpovědné za eliminaci 80-90% antibiotika při poločase 6 hodin. Mělo by být indikováno u všech pacientů, u kterých se předpokládá délka léčby delší než 3-5 dní. Pro stanovení peakové (nejvyšší) sérové koncentrace je doporučen odběr po 30 min po i.v. podání nebo 60 min po i.m. podání antibiotika. Pro stanovení udržovacích dávek má zásadní význam pravidelné monitorování údolních (nejnižších) hladin těsně před podáním další dávky. Je možno odebrat hladinu i mezi dávkovacími intervaly, na žádanku nutno napsat čas (v hod) od dokapání poslední dávky. Interval vyšetření hladin je doporučeno u nestabilních pacientů obden, u stabilních 2x týdně. Při pulsním dávkování (1x denně) aminoglykosidů je vhodné vyšetřit hladinu již před 2. dávkou, u konvenčního podávání (3x denně) před 3.-4. dávkou. Současně s odběrem na hladinu antibiotika nutno odeslat i sérum na biochemii k monitoraci renálních parametrů. Pro výpočet dávek je nutná aktuální hladina kreatininu.
Odběr u	Odběr po podání antibiotika a před zahájením dialýzy.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

dialyzovaných pacientů	Při odběru po dialýze je vhodné dodržet odstup 2-4 hodiny.
Interpretace výsledků	Pro optimální účinek terapie jsou doporučeny sérové hladiny 5-10 mg/l (doporučená hladina podle MIC mikroorganismu, peaková koncentrace by měla dosahovat 8-10 násobku MIC), nejnižší (údolní) koncentrace by neměly překračovat 1 mg/l , aby bylo riziko nefrotoxicity a ototoxicity co nejnižší.
Typ vyšetřovaného materiálu	Venózní krev (sérum)
Množství odebraného materiálu	5 ml
Množství séra potřebné pro vyšetření	200 µl
Stabilita materiálu při pokojové teplotě	≤ 24 hod (separované i neseparované od koagula)
Stabilita materiálu při teplotě 2-8 °C	≤ 7 dnů (separované od koagula)
Interference	Hemoglobin nad 5 g/l, bilirubin nad 342 µmol/l, triacylglyceroly nad 34,2 mmol/l
Dostupnost vyšetření	V pracovní době mikrobiologické laboratoře (MKB)
Doba odezvy výsledku pro rutinní vyšetření	V den příjmu do MKB laboratoře (před měřením nutné promytí analyzátoru, proto měříme buď na začátku nebo na konci pracovní doby).
Referenční meze	Optimální terapeutická hladina (peak): 5-10 mg/l Údolní hladina: do 1 mg/l

IMUNOLOGIE

Celkové (total) IgE				
Materiál, množství	Sérum – 0,5ml			
Metoda vyšetření	CHEMILUMINISCENCE IMMULITE			
Jednotky, referenční meze	Muži + ženy do 10 roků	0,00-50,0	kU/l	
	Muži + ženy do 15 roků	0,00-200	kU/l	
	Muži + ženy nad 15 roků	0,00-100	kU/l	
Informace o vyšetření				
Imunoglobulin E je jednou ze tříd imunoglobulinů v lidském séru, tvoří asi 0,004 % z celkového				

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

množství imunoglobulinů. Fyziologicky odpovídá za antiparazitární imunitu.

Hraje roli v patogenezi přecitlivělosti 1. typu – alergická rýma, astma, urtikárie. Zvýšení hladiny IgE v pupečnickové krvi se považuje za predispozici k alergii. Při nálezů vyšších hodnot IgE u dětí je vhodné vyloučit parazitární infekci. U alergiků a atopiků by mělo následovat vyšetření vyvolávajícího antigenu (např. specifického IgE). Hodnoty celkového a specifického IgE nemusejí korelovat, normální hodnoty fyziologického IgE nevylučují alergii. U syndromu hyperimmunoglobulinémie E může hladina IgE dosahovat velmi vysokých hodnot (řádově i desetitisíce kU/l).

ECP (Eosinofilní kationický protein)

Materiál, množství	Sérum – 0,5 ml
Metoda vyšetření	CHEMILUMINISCENCE IMMULITE
Jednotky, referenční meze	0-24 µg/l (bez věkové variability)

Informace o vyšetření

ECP - eosinofilní kationický protein, je jedním ze čtyř bazických proteinů, obsažených v sekundárních granulích eosinofilů, který se uvolňuje při jejich aktivaci. Svými cytotoxickými účinky přispívá mimo jiné k poškození bronchiální sliznice. Slouží jako vhodný marker ke stanovení tíže chronicky probíhající eosinofilního zánětu (např. u bronchiálního astmatu) a k monitorování jeho průběhu.

Zvýšené hladiny mohou být nalezeny i u pacientů s jiným onemocněním Th₂ fenotypu, např. s atopickou dermatitidou, parazitárními nemocemi, apod.

Srážení krve: 60 – 120 min při pokojové teplotě 20 – 24 °C (teplota nesmí kolísat). Centrifugace musí být provedena nejdříve 60 minut po odběru a nejpozději do 120 min po odběru při 1000-1300 g po dobu 10 min při pokojové teplotě. Sérum musí být okamžitě staženo do čisté testové zkumavky.

Nutnost dodání zkumavky s krví do laboratoře do 90 minut po odběru!

Gliadin deaminovaný (DA) IgA, IgG

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	ELISA
Jednotky, referenční meze	Index positivity
	Negativní: < 0,900
	Hraniční: 0,900 - 1,1
	Pozitivní: > 1,1

Informace o vyšetření

Gliadin je jednou ze základních stavebních složek lepku (glutenu) a nachází se u pšenice i v zrnech jiných cereálií. Zvýšená vnímavost na lepek se u geneticky predisponovaných jedinců projevuje jako chronické zánětlivé onemocnění tenkého střeva – celiakie. V patogenezi celiakie se uplatňují

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

deamidované epitopy gliadinu. Tkáňová transglutamináza specificky deaminuje místa gliadinu, kde se vyskytuje aminokyselina glutamin. Vzniklé deamidované peptidy navozují autoimunitní reakci a produkci protilátek.

Specifické IgA a IgG protilátky proti deamidovanému gliadinu jsou jedním ze základních diagnostických markerů celiakie společně s protilátkami proti tkáňové transglutamináze a endomysiu. Protilátky proti gliadinu mají vyšší význam u dětí do 2 let věku, kdy protilátky proti endomysiu a tkáňové transglutamináze nemusejí být ještě detekovatelné. Protilátky proti gliadinu rychle klesají po bezlepkové dietě a vzrůstají ihned po výskytu glutenu ve stravě. Jsou tedy vhodné pro monitorování bezlepkové diety. Mohou být přítomny i u dalších diagnóz (IBD, přecitlivělost na kravské mléko).

t- Transglutamináza IgA, IgG

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	ELISA
Jednotky, referenční meze	Index positivity
	Negativní: < 0,900
	Hraniční: 0,900 - 1,1
	Pozitivní: > 1,1
Informace o vyšetření	
Gliadin je jednou ze základních stavebních složek lepku (glutenu) a nachází se u pšenice i v zrnech jiných cereálií. Zvýšená vnímavost na lepek se u geneticky predisponovaných jedinců projevuje jako chronické zánětlivé onemocnění tenkého střeva – celiakie.	
Tkáňová transglutamináza je hlavním enzymem, který se přímo účastní v patogenezi onemocnění. Je to enzym, který katalyzuje deaminaci gliadinu v buňkách střevní sliznice, a právě jeho komplex s gliadinem může stimulovat imunitní systém k tvorbě protilátek. Přítomnost protilátek třídy IgA je vysoce citlivým a specifickým laboratorním průkazem glutenové enteropatie, spolu se stanovením protilátek proti endomysiu dosahuje citlivost a specifita hodnoty až 100 %.	
U pacientů s deficitem tvorby protilátek třídy IgA je indikováno i stanovení protilátek ve třídě IgG. Pozitivní IgG protilátky proti tkáňové transglutamináze se mohou vyskytovat i nespecificky u různých zánětlivých onemocnění střev.	

ENA Screen

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	ELISA
Jednotky, referenční meze	Index positivity
	Negativní: < 0,900
	Hraniční: 0,900 - 1,1
	Pozitivní: > 1,1
Informace o vyšetření	

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

ENA (extrahovatelné nukleární antigeny) jsou významnou skupinou antinukleárních protilátek lokalizovaných v jádře, případně cytoplasmě buňky. Vyšetření ENA screen obsahuje směs nativních a rekombinantních antigenů (Ro52/SS-A, Ro60/SS-A, La/SS-B, RNP-A, RNP-C, RNP-68, SmB, SmD, Scl-70, Jo-1 a centromera B).

Nízké titry autoimunitních protilátek jsou přirozenou součástí séra (plazmy). Vysoké titry, zejména určitých protilátek bývají asociovány s některými autoimunitními onemocněními. Screeningové vyšetření klinicky významných autoprottilátek má význam v diferenciální diagnostice klinických stavů s předpokládaným autoimunitním původem (SLE, autoimunitní hepatitis, smíšené onemocnění pojivových tkání, myositis, Sjogrenův sy).

Pozitivní vzorky roztestováváme imunoblotem ANA 8 DOT IgG.

ENA roztestování

ANA8 DOT IgG - detekce protilátek proti lidským nukleárním antigenům Sm, Sm/RNP, SSA/Ro 60kD, SSB (La), Jo1, Scl-70, PM-Scl 100 a CENP-A/B

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	Rekombinantní imunoblot (BLUEDIVER)
Jednotky, referenční meze	Arbitrární jednotky AU
	Negativní: < 5
	Hraniční: 5-10
	Pozitivní: > 10

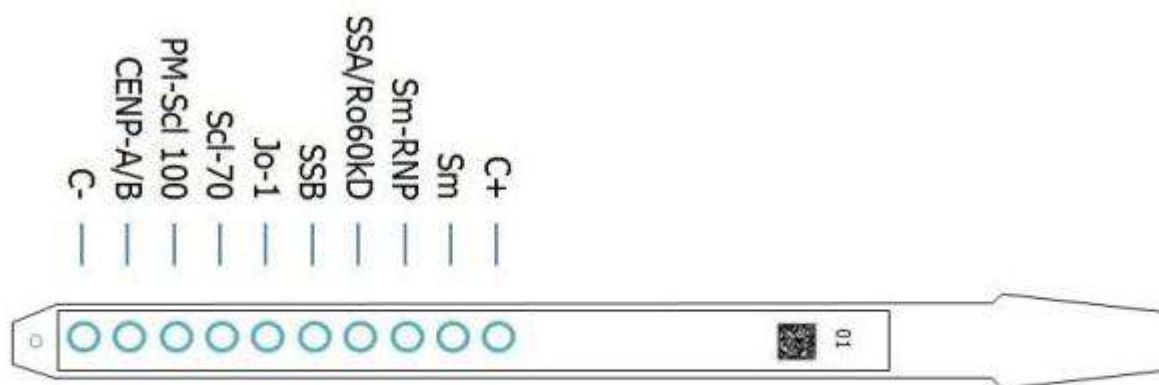
Informace o vyšetření

Protilátky proti SS-A/Ro a SS-B/La se často vyskytují u pacientů se SS a SLE. Vysoce specifickým markerem a jedním z diagnostických kritérií pro SLE jsou protilátky proti Sm antigenu. U pacientů se SLE jsou často přítomny i protilátky proti RNP antigenu (součást komplexu Sm/RNP), jejichž

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

průkaz je vysoce specifickým diagnostickým kritériem pro MCTD (zejména při absenci protilátek anti-Sm).

Další skupinu orgánově nespecifických autoimunitních onemocnění tvoří myositidy. V jejich diagnostice se uplatňuje průkaz protilátek proti antigenu Jo-1. Protilátky proti antigenu Scl-70 a centromeře B jsou významné pro diagnostiku systémové sklerózy (zvláště jejich progresivních



forem).

aCCP IgG

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	ELISA
Jednotky, referenční meze	Index positivity
	Negativní: < 0,900
	Hraniční: 0,900 - 1,1
	Pozitivní: > 1,1

Informace o vyšetření

Protilátky proti cyklickému citrulinovému peptidu (aCCP) jsou autoprotiátky, které se vyskytují u revmatoidní artritidy. Jsou převážně třídy IgG a mají 96 % specifičnost pro revmatoidní artritidu. Vyskytují se ve velmi časném stadiu nemoci a mají vysokou prediktivní hodnotu. U pacientů s pozitivními anti-CCP protilátkami se rozvíjí značně větší radiologicky detekovatelné kloubní poškození, než u pacientů anti-CCP negativních. Vyšetření má vyšší specifitu než stanovení revmatoidního faktoru (RF) (a-CCP 96 % proti 63 % u RF) při stejné citlivosti (a-CCP: 80%, RF 79 %).

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Kravske mléko IgA, IgG, IgM

Materiál, množství	Sérum – 0,5ml
Metoda vyšetření	ELISA
Jednotky, referenční meze	Index pozitivity
	Negativní: < 0,900
	Hraniční: 0,900 - 1,1
	Pozitivní: > 1,1

Informace o vyšetření

Intolerance kravského mléka je onemocnění vyvolané nesnášenlivostí bílkovinných složek kravského mléka (casein, α -lactalbumin, β -lactoglobulin). Při intoleranci tělo vytváří IgA, IgM a IgG protilátky proti těmto složkám. Hlavním projevem jsou zvracení, průjem, bolest břicha, příp. možnost vzniku malabsorbního syndromu. Projevy intolerance se objevují v průběhu několika hodin až dnů od požití mléka a liší se tak od alergie na mléko, která je charakteristická tvorbou IgE protilátek a klinickými příznaky (rýma, otoky, vyrážka, svědění, anafylaktický šok) dostavujícími se do 2 hod od požití mléka.

Klinické příznaky podobné intoleranci může mít i deficit střevní laktázy. Nesnášení laktózy není alergií a není to ani intolerance podmíněná tvorbou protilátek, neboť není zprostředkována imunitním systémem. Dávky laktózy do 10 g/den jsou většinou dospělých s deficitem laktázy plně tolerovány.

Specifické IgE protilátky

Materiál, množství	Sérum – 0,5 ml		
Metoda vyšetření	CHEMILUMINISCENCE IMMULITE		
Jednotky, referenční meze	kU/l	RAST třída	Reaktivita vzhledem k jednotlivým alergenům
	0,10-0,35	RAST 0	Velmi nízká
	0,35-0,70	RAST 1	Nízká
	0,70-3,50	RAST 2	Střední
	3,50-17,5	RAST 3	Vysoká
	17,5-52,5	RAST 4	Velmi vysoká
	52,5-100,0	RAST 5	
	>100,0	RAST 6	

Informace o vyšetření

Alergen specifické IgE protilátky se uplatňují přímo v patogenezi alergické reakce vůči danému alergenů. Nález zvýšených hladin specifického IgE může znamenat fázi senzibilizace (klinicky zatím němé, bezpříznakové období) nebo již alergii s klinickými projevy (alergická rýma, průduškové astma, alergie na hmyzí bodnutí...).

Stanovení koncentrace specifických IgE protilátek v periferní krvi představuje nejrozšířenější in

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

vitro diagnostiku alergií zprostředkovaných IgE.

PCR DIAGNOSTIKA

PCR diagnostiku provádí laboratoř na přístroji **GenXpert®Dx System** firmy **Cepheid**, který pracuje výhradně s **Cepheid Xpert®** testy.



Jedná se o automatizovaný uzavřený systém, který spojuje komplexní přípravu vzorků (extrakci nukleové kyseliny), amplifikaci nukleové kyseliny a analýzu cílové sekvence v klinických vzorcích za použití polymerázové řetězové reakce (PCR) v reálném čase.

Výsledky vyšetření jsou k dispozici ve velmi krátkém čase a s minimálním rizikem křížové kontaminace vzorků, protože kazety pro jednotlivé pacienty jsou zcela oddělené.

Každý test obsahuje kontrolu správného zpracování vzorků (SPC – Sample processing control) a kontrolu sondy (PCC – Probe check control QC1, QC2). Tyto kontroly zajistí kontrolu správného průběhu metody a validity interpretace.

PCR Chřipka + RSV (Flu A(H1N1)/B/RSV Xpress)

Informace o vyšetření

Xpert®Xpress Flu/RSV Cepheid je test založený na **multiplexové RT-PCR**, využívající **reverzní transkriptázu**. Slouží ke kvalitativní detekci RNA viru chřipky typu A (většina subtypů včetně H1N1), typu B a lidského respiračně syncytiálního viru RSV.

Test je zaměřený na detekci více genových cílů v genomu chřipky a RSV pro spolehlivější detekci variantních kmenů s bodovými mutacemi.

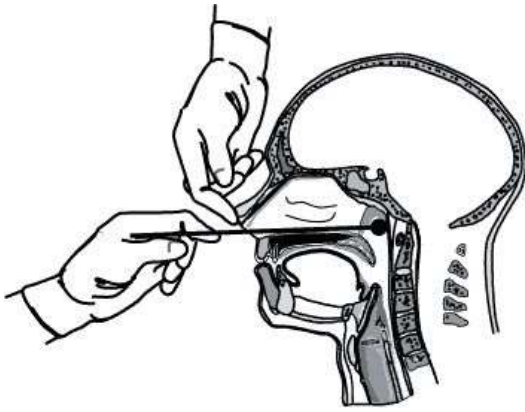
Používané cíle, primery a sondy:

Chřipka typu A: matrixový gen (M), InfA basic polymeráza (PB2), InfA acidický protein (PA)

Chřipka typu B: matrixový gen (M), InfB nestrukturální gen (NS)

RSV A a B: nukleokapsid

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

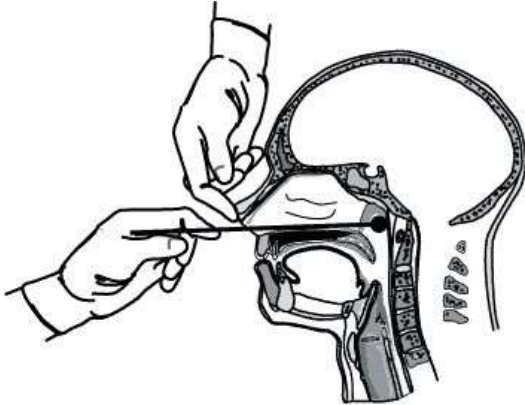
Způsob odběru, odběrový systém	Výtěr z nosohltanu nebo nosu odebraný tampónem do transportního média pro PCR (3ml média). Odběrové soupravy dodá na vyžádání laboratoř podle aktuálních skladových zásob. Soupravy se liší podle různých dodavatelů. Je možné vytříit obě nosní dírky dvěma tampóny, které lze vložit do jednoho transportního média. V tomto případě je jako druhý tampón použit tampón dodaný laboratoří pro tento účel – vhodné jsou flockované (Flocked Swabs) nebo dakronové tampóny na plastové tyčince. Nejsou vhodné vatové tampóny – jsou velmi nasákové, sekret není možno dokonale vytřepat do transportního média a hrozí riziko falešné negativy vyšetření. <u>Provedení výtěru z nosohltanu:</u> Tampón jemně zasouváme přes nosní průduch těsně podél nosní přepážky a po spodní stěně nosní dutiny až k zadní stěně nosohltanu (pro představu – délka zasunuté části drátku přibližně odpovídá vzdálenosti nosní křídlo - tragus). Několikrát jemně pootočíme a tampón vytáhneme. U dětí je nutná fixace, odběr je velmi nepříjemný. Poté se tampón vyjme, zlomí se na vyznačené čáře a vloží se do transportního média. 
Skladování, transport	Dle doporučení výrobce je možné po odběru do transportního média pro PCR vzorek skladovat při teplotě 15-30 °C až 24 hod. Delší skladování nutné při teplotě 2-8 °C. Přestože výrobce připouští skladování při chladničkové teplotě až 7 dnů, doporučujeme vzorek po odběru doručit do laboratoře do 48 hod, pokud je to možné. Transport odebraného vzorku při pokojové teplotě 15-30 °C.
Doba odezvy	Vzorek je po příjmu do laboratoře vyšetřen co nejdříve v závislosti na kapacitě analyzátoru. Standardně je výsledek k dispozici v den odběru. Pozitivní výsledky hlásíme na oddělení nebo odebírajícímu lékaři. Při požadavku na prioritní zpracování vyznačte do žádanky požadavek STATIM, vzorek předradíme před ostatní. Vlastní doba trvání testu je 30 minut.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Výsledky vyšetření	Výsledky jsou exportovány elektronicky a vytištěné ve formátu: PCR Influenza A: pozitivní/negativní/neurčitý PCR Influenza B: pozitivní/negativní/neurčitý PCR RSV: pozitivní/negativní/neurčitý <u>Pozitivní výsledky podléhají povinnému hlášení na KHS.</u> Neurčitý výsledek může být způsobený nesprávně provedeným odběrem, transportem, nebo technickou chybou. V případě klinické indikace doporučujeme nově provedený odběr zaslaný do laboratoře k opakovanému vyšetření. Falešně negativní výsledek může být způsobený velmi malým množstvím virové RNA ve vzorku, která je pod detekčním limitem testu. Proto při podezření na probíhající infekci rovněž doporučujeme nový kontrolní odběr. Falešná negativita může být rovněž způsobena mutací v cílovém místě. Výsledek je vždy nutno hodnotit s ohledem na tyto skutečnosti. Laboratorní vyšetření má pouze pomocnou funkci při diferenciální diagnostice, důležitý je celkový klinický stav pacienta. Falešně pozitivní výsledek může způsobit nedávné očkování proti chřipce (bez bližšího upřesnění). Pozitivní výsledek značí průkaz RNA viru, ale nevypovídá o infekčnosti pacienta. Může se jednat pouze o neživotaschopné zbytky RNA. Proto není tento test vhodný ani k monitoraci efektu léčby pacienta.

PCR SARS-CoV-2 (Xpert®Xpress SARS-CoV-2) - diagnostika onemocnění Covid-19	
Informace o vyšetření	Xpert®Xpress SARS-CoV-2 Cepheid je test založený na RT-PCR v reálném čase. Slouží ke kvalitativní detekci RNA viru SARS-CoV-2. Test je zaměřený na detekci dvou genových cílů v genomu viru. Používané cíle, primery a sondy: E strukturální protein N2 strukturální protein
Způsob odběru, odběrový systém	Výtěr z nosohltanu odebraný tampónem do transportního média pro PCR (3ml média). Odběrové soupravy dodá na vyžádání laboratoř podle aktuálních skladových zásob. Soupravy se liší podle různých dodavatelů.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

	Další možností je odběr nosního výplachu/aspirátu v množství cca 3ml ve sterilní zkumavce. a) <u>Provedení výtěru z nosohltanu:</u> Tampón jemně zasouváme přes nosní průduch těsně podél nosní přepážky a po spodní stěně nosní dutiny až k zadní stěně nosohltanu (pro představu-délka zasunuté části drátku přibližně odpovídá vzdálenosti nosní křídlo - tragus). Několikrát jemně pootočíme a tampón vytáhneme. U dětí je nutná fixace, odběr je velmi nepříjemný. Poté se tampon vyjme, zlomí se na vyznačené čáře a vloží se do transportního média.  Pro ostatní druhy materiálů není metoda validovaná.
Skladování, transport	Výrobce neuvádí maximální dobu skladování. Naše laboratoř doporučuje skladování maximálně 24 hodin. Pokud je vzorek doručen v den odběru, je možné ho uchovávat při pokojevé teplotě 15-30 °C v transportním médiu pro PCR. Skladování přes noc již doporučujeme při chladničkové teplotě 2-8 °C. Transport odebraného vzorku při pokojové teplotě 15-30 °C. Vzorky musí být transportovány přímo do MKB laboratoře v bezpečném trojobalu – zkumavka zabalena v své vrstvě (např. buničině) vložena do plastového uzavíratelného sáčku. Tento balíček vložit do pevného plastového obalu uzavíratelného ideálně šroubovacím víkem. Žádanku o vyšetření zasílat zvlášť – nesmí přijít do kontaktu s odebraným vzorkem! Žádanka musí obsahovat údaje o pacientovi, které laboratoř vkládá do registru ÚZIS (ISIN) – bydliště (aktuální) a kontakt (telefonický – u dětí kontakt na rodiče). V rámci nemocnice požadujeme kopii žádanky ÚZIS a odeslání elektronické žádanky z AKORDu. Od externích žadatelů přijímáme žádanky, které obsahují požadované údaje – nejméně: • Jméno a příjmení pacienta • Rodné číslo pacienta (nebo číslo pojištěnce) • Odebírající pracoviště (IČP nebo KHS) • Aktuální bydliště (místo pobytu) • Kontakt na pacienta

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Doba odezvy	Vzorek je po příjmu do laboratoře vyšetřen co nejdříve v závislosti na kapacitě analyzátoru. Standardně je výsledek k dispozici v den odběru . Při větším počtu vzorků do 48 hodin. <u>Pozitivní výsledky hlásíme na oddělení nebo odebírajícímu lékaři/KHS.</u> Při požadavku na prioritní zpracování vyznačte do žádanky požadavek STATIM, vzorek předradíme před ostatní. Vzorky z nemocnice zpracováváme vždy před vzorky od externích žadatelů. Vlastní doba trvání testu je 60 minut.
Výsledky vyšetření	Výsledky jsou exportovány elektronicky a vytištěné ve formátu: PCR SARS-CoV-2: pozitivní/negativní/neurčitý <u>Pozitivní výsledky podléhají povinnému hlášení na KHS!</u> Neurčitý výsledek může být způsobený nesprávně provedeným odběrem, transportem, nebo technickou chybou. Může se jednat i o velmi malé množství zbytkové RNA. V případě klinické indikace doporučujeme nově provedený odběr zaslaný do laboratoře k opakovanému vyšetření. Neurčité výsledky odesíláme ke confirmaci do NRL pro chřipku a nechřipkovou respirační onemocnění SZÚ Praha (http://www.szu.cz/narodni-referencni-laborator-pro-chripku) Falešně negativní výsledek může být způsobený velmi malým množstvím virové RNA ve vzorku, která je pod detekčním limitem testu. Proto při podezření na probíhající infekci rovněž doporučujeme nový kontrolní odběr. Všechny výsledky vyšetření laboratoř zapisuje do registru ISIN, který je součástí registrů ÚZIS. Zápis do těchto registrů je povinný a je nutno ho uskutečnit v den odběru nebo nejpozději následující dopoledne po odběru. Současně laboratoř vyplňuje statistiku vyšetření pro chytou karanténu (COVID FORMS APP).

C-6) Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku

V laboratoři jsou přijímány pouze řádně vyplněné žádanky a řádně označené vzorky biologického materiálu, které mají na štítku čitelně napsáno jméno a rodné číslo pacienta. Žádanky od hospitalizovaných pacientů mohou být přijímány v elektronické podobě, laboratoř ale vyžaduje i tištěnou formu (vytištěnou žádanku z NIS). Po kontrole přijatého materiálu a žádanky jsou identifikační znaky pacienta dle požadavkového listu zadány do laboratorního informačního systému (LIS).

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

C-7) Vyšetření samoplátců

Laboratoř poskytuje své služby i samoplátcům. Cena vyšetření je kalkulována podle platného ceníku výkonů dostupného na webových stránkách nemocnice

<http://www.nemocnicešumperk.cz/pro-pacienty-a-navstevniky/cenik-placenych-sluzeb>.

Vytištěná faktura je v případě žadatelů z nemocnice zaslána na oddělení, které odběr indikovalo.

U externích žadatelů bude vystavena faktura odebírajícímu lékaři nebo přímo pacientovi (standardně fakturujeme odebírajícímu lékaři, pokud chce fakturu zaslat pacientovi, musí tuto skutečnost uvést na žádanku společně s adresou pacienta).

Je možná i přímá platba pacientem – samoplátcem na pokladně nemocnice.

Fakturace externím žadatelům a následná platba je provedena podle vnitřních pokynů Nemocnice Šumperk a.s.

Laboratoř umožňuje i vyšetření samoplátců na vlastní žádost bez indikace lékaře:

Odběr krve je u těchto samoplátců prováděn na hematologické ambulanci nemocnice, laboratoř nemá vlastní odběrovou místnost. **Vyšetření je vždy potřeba domluvit v MKB laboratoři, která vydá samoplátcům přesné instrukce.** Výsledky jsou samoplátcům předávány osobně, je možno je zaslat i elektronicky jako chráněný soubor, případně telefonicky na základě sdělení domluveného hesla pro sdělení výsledku.

Nález podléhající povinnému hlášení hlásíme na KHS i v případě pozitivního nálezu u samoplátce.

C-8) Nezbytné operace se vzorkem, stabilita

Po odebrání primárních vzorků a jejich řádném označení jménem a rodným číslem pacienta (nebo alespoň rokem narození) jsou odběrové nádoby skladovány tak, aby byly dodrženy podmínky preanalytické fáze, které jsou určeny typem požadovaných vyšetření při pokojové nebo chladničkové teplotě (viz. C-5 *Manuál odběru vzorků*). Je nutné plánovat odběr i podle dostupnosti transportu do laboratoře (u mimoústavních pacientů). U ústavních pacientů je vždy vhodné vzorek transportovat neprodleně po odebrání. S tím souvisí i vhodné načasování odběru v době provozu laboratoře u vyšetření, která je možno naplánovat.

C-9) Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky

Na základě vyhlášky MZ č. 306/2012 Sb byly stanoveny tyto zásady pro bezpečnost práce s biologickým materiálem:

- Každý vzorek doručený do laboratoře je nutné považovat za potenciálně infekční.
- Žádanky ani vnější strana zkumavky nesmí být kontaminovány biologickým materiálem - toto je důvodem k odmítnutí vzorku.
- Vzorky od pacientů s již diagnostikovaným přenosným virovým onemocněním mají být viditelně označeny.
- Vzorky jsou přepravovány v uzavřených odběrových nádobkách, které jsou vloženy do stojánku nebo přepravního kontejneru tak, aby během přepravy vzorku do laboratoře nemohlo dojít k rozlití, potřísnění biologickým materiálem nebo jinému znehodnocení vzorku.
- Laboratoř a všechny spolupracující subjekty jsou povinny tyto pokyny uplatňovat v plném

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

rozsahu.

C-10) Informace k dopravě vzorků a k zajištění svozu vzorků

Doprava vzorků do laboratoře je zajištěna několika způsoby.

- V rámci nemocnice se jedná o osobní dodání pracovníky příslušných oddělení, sanitářem zajišťujícím přenos vzorků v nemocnici. V MKB vzorky předají a spolu s laborantkou, která materiál přebírá, zkontrolují, zda je materiál řádně označen. Vzhledem k velmi krátké době transportu (minuty) nepožadujeme monitoraci teploty, vzorek je transportován v uzavřeném přepravním kontejneru při pokojové teplotě.
- Z pracovišť mimo nemocnici zajišťuje dopravu svozová služba Nemocnice Šumperk a.s., případně jiná svozová služba. Materiál je přepravován v pevných přepravních kontejnerech, vložen do stojánku tak, aby nedošlo během přepravy k rozlití, rozbití nebo jinému znehodnocení odebraného materiálu a následné kontaminaci. Pokud se jedná o materiál ze vzdálenějších zařízení, pak je nutno materiál během přepravy chladit (chladicí přepravní box) a monitorovat teplotu (4-20° C).
- Laboratoř přijímá i vzorky přímo od pacientů, nejčastěji zaslaných tímto způsobem lékaři ze spádových ambulancí. Vzorky přebírá laborantka, při převzetí kontroluje shodu údajů na žádance a odebraném materiálu. Případné neshody řeší s odebírajícím lékařem. Je důležité, aby lékař poučil pacienta o bezpečném transportu vzorků, především tekutých, aby nedošlo během transportu k vylití a kontaminaci.
- Vzorky jsou přijímány i od lékařů, kteří mohou dopravit materiál osobně do laboratoře. I v tomto případě se při přebírání materiálu kontroluje shoda mezi údaji na žádance a odebraném materiálu.

D. Preamalytické procesy v laboratoři

D-1) Příjem žádanek a vzorků

Základním kritériem pro příjem vzorku je úplná identifikace pacienta – jméno, příjmení, rodné číslo nebo náhradní RČ u cizinců. Laboratoř si musí být jistá, že nemůže dojít k záměně vzorků.

D-2) Kritéria pro odmítnutí dodaných vzorků

Laboratoř může odmítnout:

- žádanku s biologickým materiálem, na které chybí nebo jsou nečitelné základní údaje (číslo pojištění, příjmení a jméno, IČP odesílajícího lékaře nebo pracoviště) nebo obsahuje-li požadavek (požadavky) na vyšetření, která laboratoř neprovádí ani nezajišťuje
- žádanku nebo odběrovou nádobu znečištěnou biologickým materiálem
- nádobu s biologickým materiálem, kde není způsob identifikace materiálu z hlediska nezaměnitelnosti dostatečný
- nádobu s biologickým materiálem, kde zjevně došlo k porušení obalu nebo otevření při přepravě
- neoznačenou nádobu s biologickým materiálem

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

- biologický materiál bez žádanky

D-3) Postup při chybné nebo neúplné identifikaci pacienta na žádance

Jestliže na průvodce k materiálu chybí údaje, které jsou nezbytné pro identifikaci pacienta, pokusí se pracovníci laboratoře tyto údaje zjistit na základě telefonického dotazu klinickému pracovišti, které vyšetření indikovalo. Je nutné, aby byl uveden alespoň odesílající lékař nebo identifikace pracoviště, nejlépe s telefonickým kontaktem. Chybějící údaje na žádance jsou v laboratoři doplněny, zapisující pracovník provede zápis o tomto kroku do LIS (Neshody na příjmu) a materiál se zpracuje. Jestliže chybí kontakt na odebírajícího lékaře (případně se nepodaří jej kontaktovat) i základní identifikace pacienta, materiál není zpracován, je proveden záznam do LIS (exitová metoda), případně je popsána neshoda.

D-4) Postup při chybné identifikaci vzorku

Není-li dodaný vzorek materiálu označen jménem nebo rodným číslem, nebo pokud se neshodují údaje na žádance a odebraném vzorku, materiál nemůže být zpracován. Odebírající pracoviště je vždy telefonicky informováno (pokud je to možné) a vyzváno k opakovanému odběru. Vždy se provede zápis o neshodě do LIS, materiál je ihned zavřen jako exitová metoda, je zaslán výsledkový protokol o nezpracování materiálu lékaři.

D-5) Postup při nedodání vzorku do laboratoře

Tato situace může nastat u hospitalizovaných pacientů, kteří mají elektronickou žádanku zadanou před odběrem vzorku. Tato žádanka je již vyexpedovaná z NIS do LIS a laboratoř čeká na materiál. Jestliže materiál není odebrán v den naplánovaného odběru, žádanka je přijata do LIS a okamžitě uzavřena s komentářem „NEVYŠETŘENO, MATERIÁL NEBYL DODÁN“.

Jestliže tento stav nastane u externích lékařů (do laboratoře je dodána pouze vyplněná žádanka bez materiálu), laboratoř nejprve telefonicky u lékaře ověří příčinu a další řešení záleží konkrétní situaci. Pokud je materiál odebrán, je možno jej dodat dodatečně, ale je třeba splnit podmínky preanalytické fáze (především dobu a podmínky skladování vzorku). Pokud není odebrán, je žádanka přijatá do LIS a okamžitě uzavřena s komentářem „NEVYŠETŘENO, MATERIÁL NEBYL DODÁN“.

D-6) Vyšetřování smluvními laboratořemi

- Laboratoř dle potřeby využívá služeb národních referenčních laboratoří (NRL) SZÚ při typizaci vykultivovaných kmenů, confirmaci citlivosti na antibiotika, confirmaci výsledků serologických vyšetření, confirmaci výsledků PCR, případně jiné konzultační činnosti. Výsledky z NRL jsou zasílány zpět do MKB, která následně zajistí jejich předání na příslušné oddělení. Originál výsledku uchovává v laboratoři ve složce „Vyšetření zaslaná ke confirmaci“, kopii odesílá lékaři.
- V oblasti **mykologické diagnostiky** (identifikace vykultivovaných vláknitých hub, kultivace klinického materiálu) spolupracuje s mykologickou laboratoří Ústavu mikrobiologie FN Olomouc. Výsledky vyšetření jsou zasílány ze smluvní laboratoře přímo odebírajícímu lékaři.
- **Imunologická, serologická a PCR vyšetření**, která neprovádíme v naší laboratoři, zasíláme do

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

smluvní laboratoře LabIN Karlovy Vary. Pokud je sérum alikvotováno a část požadovaných vyšetření je zaslána do smluvní laboratoře, lékař obdrží výsledek s metodami, které byly odeslány. Žádanky smluvní laboratoře jsou k dispozici v naší laboratoři na vyžádání, případně na

https://www.nemocnicesumperk.cz/uploads/ckeditor/attachments/374/objednavka_odberovy_ch_souprav_mikrobiologie_NS.pdf.

- Výsledky vyšetření z laboratoře LabIN jsou zasílány elektronicky do MKB, kde jsou vytištěny s hlavičkou Nemocnice Šumperk a distribuovány standardní cestou lékařům. Na výsledkovém protokolu je uvedeno, že byl materiál zpracován ve smluvní laboratoři.
- Vzorky k **mykobakteriologickému vyšetření** zasíláme do laboratoře CityLab Praha. V naší laboratoři provedeme orientační přímou mikroskopii dle Ziehl-Neelsena, k dalšímu vyšetření odesíláme materiál do smluvní laboratoře. Nabídka vyšetření je k dispozici na žádance, kterou dodá na požádání naše laboratoř, je možné ji objednat přes objednávkový formulář https://www.nemocnicesumperk.cz/uploads/ckeditor/attachments/374/objednavka_odberovy_ch_souprav_mikrobiologie_NS.pdf
- Vytištěné výsledkové protokoly z laboratoře CityLab jsou distribuovány lékařům prostřednictvím svozu, případně poštou.

Všechny odeslané vzorky jsou evidovány, laboratoř zakládá kopie všech žádanek odeslaných vzorků.

Přehled smluvních laboratoří			
Laboratoř	Druh vyšetření	Kontakt	Odpovědná osoba
Ústav mikrobiologie Fakultní nemocnice Olomouc I.P.Pavlova 6 Laboratoř mykologie	Zasílání materiálu k mykologické kultivaci Dourčení izolovaných plísň, konzultační služby k antimykotické terapii	http://www.fnol.cz/ustav-mikrobiologie-zakladni-informace-sekce_343.html tel. 585 632 403	Doc. MUDr. Petr Hamal PhD. petr.hamal@fnol.cz
Laboratoř LabIN Bezručova 10, Karlovy Vary 360 01	Imunologie	https://labin.cz/	MUDr. Jitka Podroužková jitka.podrouzkova@labin.cz 724 031319
	Infekční sérologie	Tel.800 183 675, 800 100 590 SangLab, Klinická laboratoř s.r.o.	
	PCR metody	Tel. 800 100 316 Karlovarské imunologické centrum s.r.o.	
	Mykobakteriologická diagnostika	Tel.775 892 100 CITYLAB s.r.o.	RNDr. Mária Müllerová

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Nejčastěji využívané Národní referenční laboratoře			
NRL pro virové hepatitidy Šrobárova 48, Praha 10	Konfirmace reaktivních nálezů	Státní zdravotní ústav http://www.szu.cz/narodni-referencni-laborator-pro-virove-hepatitidy tel. 267082455	RNDr. Vratislav Němeček, CSc.
NRL pro HIV/AIDS Šrobárova 48, Praha 10	Konfirmace reaktivních nálezů	Státní zdravotní ústav http://www.szu.cz/narodni-referencni-laborator-pro-aids tel. 267082560	RNDr. Vratislav Němeček, CSc.
NRL pro syfilis Šrobárova 48, Praha 10	Konfirmace reaktivních nálezů	Státní zdravotní ústav http://www.szu.cz/narodni-referencni-laborator-diagnostiku-syfilis tel. 267082795	MUDr. Hana Zákoucká
NRL pro toxoplazmózu Šrobárova 48, Praha 10	Konfirmace pozitivních nálezů	Státní zdravotní ústav http://www.szu.cz/narodni-referencni-laborator-pro-toxoplazmozu tel. 267082105	RNDr. Petr Kodým, CSc.
NRL pro chřipku a nechřipkovou respirační virovou onemocnění Šrobárova 48, Praha 10	Konfirmace SARS-CoV-2	Státní zdravotní ústav http://www.szu.cz/narodni-referencni-laborator-pro-chripku tel. 267082421	RNDr. Helena Jiřincová
CDI Lab (Diagnostická laboratoř <i>C. difficile</i> infekcí)	Ribotypizace toxigenního kmene <i>Clostridium difficile</i>	Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN v Motole http://www.cdilab.cz/ tel. 224435355	MUDr. Otakar Nyč, Ph.D. Mgr. Marcela Krůtová, Ph.D.

E. Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří

E-1) Informace o formách vydávání výsledků, typy nálezů a laboratorních zpráv

Výsledky vyšetření jsou po uzavření uvolněny vysokoškolákem se specializací a vytištěny. Vytisknuté výsledkové listy jsou dále distribuovány lékařům. Výsledky vyšetření indikovaných nemocničními

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

lékaři jsou po uzavření předány na příslušná oddělení. Mimoústavní lékaři obdrží výsledky buď prostřednictvím nemocniční svozové služby, nebo poštou.

Všechny výsledky pro nemocniční oddělení jsou po uzavření a uvolnění vysokoškolem distribuovány elektronicky v rámci komunikace mezi laboratorním informačním systémem (ENVIS) a nemocničním informačním systémem (AKORD). V tomto systému jsou zálohovány a archivovány, je možné je opět vyhledat a vydat. Záloha je archivována po celou dobu fungování laboratoře. Za tuto činnost zodpovídá IT oddělení Nemocnice Šumperk a.s.

Výsledky terénním specialistům na vyžádání zasíláme také elektronicky prostřednictvím Distribučního portálu.

Výsledky ze smluvní laboratoře jsou vytištěny v MKB, na protokolu je záznam, kdo v MKB výsledky vytiskl.

Telefonické sdělování výsledků: touto formou sděluje laboratoř výsledky pouze odebírajícímu lékaři nebo sestře v případě, že nevznikne pochybnost o identifikaci dotazovatele. Pacientům výsledky vyšetření nesdělujeme, výjimku tvoří vyšetření samoplátců.

Telefonicky hlásit uzavřené výsledky bez interpretace nálezu mohou laborantky a VŠ, hlášení s interpretací nálezu nebo konzultací antibiotické terapie provádějí pouze oprávnění vysokoškoláci.

Předat výsledek přímo pacientovi nebo jeho zákonnému zástupci je možné na žádost odebírajícího lékaře po ověření jeho totožnosti, výsledkový list předáváme v zalepené obálce. Současně provedeme zápis do *formuláře Osobně předaných výsledků*. V zápise musí být uvedeno, kdo předával, komu, datum a čas.

Výsledky samoplátců předáváme osobně bez zápisu po zaplacení účtované částky.

E-2) Hlášení výsledků v kritických intervalech

Laboratoř hlásí neprodleně odebírajícímu lékaři tyto výsledky:

- Pozitivní nález v hemokultuře
- Nález v likvoru po odběru (mikroskopie, přímá aglutinace) a kulturační pozitivitu likvoru
- nález obligátních střevních patogenů podléhajících povinnému epidemiologickému hlášení (*Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Campylobacter sp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, *EHEC*, *EPEC*)
- nález antigenu střevních virů (rotaviry, adenoviry, noroviry, astroviry, enteroviry) imunochromatograficky
- nález antigenu *Streptococcus pneumoniae* v moči imunochromatograficky
- nález antigenu *Legionella pneumophila* v moči imunochromatograficky
- nález střevních parazitů
- záchyt MRSA
- záchyt VRE
- záchyt MBL, KPN
- záchyt ESBL, AmpC betalaktamáz
- záchyt toxinu *C. difficile* ve stolici
- záchyt histotoxických klostridií, případně podezření na jejich přítomnost ve vzorku
- reaktivní nález HIV, syfilis, HCV, HBV + výsledek z NRL
- Průkaz IgM viru klíšťové encefalitidy

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

- Průkaz IgM, IgA *Toxoplasma gondii*
- Pozitivní výsledek PCR – Influenza A,B,RS virus, SARS-CoV-2

Nálezy, jejichž výskyt je nutno hlásit na Krajskou hygienickou stanici, odbor epidemiologie:

ZDROJ: Vyhláška č. 473/2008 Sb.

Mikroorganismus	Nález	Zaslání do NRL
<i>Bordetella pertussis</i>	Kultivační pozitivita výtěru z nosohltanu Signifikanční vzestup protilátek svědčící pro aktivní infekci	NRL pro pertusi a difterii
<i>Neisseria meningitidis</i>	Z primárně sterilního materiálu-mok, hemokultura, výpotek	NRL pro meningokokové nákazy
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Kultivační nález	
<i>Campylobacter</i> spp.	Kultivační nález	
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Kultivační pozitivita výtěru	Ověření produkce toxinu NRL pro pro pertusi a difterii
Enterohemorragické, enteropatogenní <i>E.coli</i> (EPEC, EHEC)	Všechny séro skupiny	Národní referenční laboratoře pro <i>Escherichia coli</i> a shigely (sero skupiny O157, O26, O11, O103, O145)
<i>Haemophilus influenzae</i>	Z primárně sterilního materiálu-mok, hemokultura, výpotek	NRL pro hemofilové nákazy
<i>Salmonella</i> spp.	Pozitivní sérotypizace	Do NRL pro salmonely zasíláme kmeny, který neumíme dourčit do druhu (nemáme specifická séra)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Z primárně sterilního materiálu-mok, hemokultura, výpotek Kultivace nebo průkaz antigenu	NRL pro streptokoky a enterokoky
HIV	Pozitivní průkaz protilátek/antigenu p-24 v séru potvrzený konfirmací v NRL	NRL pro AIDS
Klíšťová encefalitida	Pozitivita IgM v séru nebo v likvoru	

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

	Průkaz sérokonverze nebo významného vzestupu titru IgG protilátek	
Lymeská borelióza	Průkaz protilátek v likvoru, synoviální tekutině	
Syphilis	Pozitivní výsledek screeningového testu (RRR nebo TP test) potvrzený konfirmací v NRL	NRL pro syfilis
Toxoplasma gondii	Průkaz sérokonverze titru IgG. Průkaz IgM a IgA potvrzený konfirmací v NRL	NRL pro toxoplazmózu.
VHA	Detekce specifických IgM potvrzený konfirmací v NRL	Konfirmace nálezu NRL pro virové hepatitidy
VHB	HBsAg pozitivita potvrzená konfirmací v NRL Detekce specifických protilátek a-HBc-IgM potvrzená konfirmací v NRL	Konfirmace nálezu NRL pro virové hepatitidy
VHC	Přítomnost specifických protilátek proti viru VHC potvrzených konfirmací v NRL	Konfirmace nálezu NRL pro virové hepatitidy
Clostridium difficile	Imunochromatografie – POZITIVNÍ TOXIN A, B	
Legionella pneumophila	Imunochromatografie POZITIVNÍ ANTIGEN V MOČI	Odběr biologického materiálu a jeho zaslání k ověření do NRL pro legionely
Střevní viry (rotaviry, adenoviry, astroviry, noroviry, enteroviry)	Imunochromatografie POZITIVNÍ ANTIGEN VE STOLICI	
Campylobacter jejuni	Imunochromatografie POZITIVNÍ ANTIGEN VE STOLICI	
Influenza A,B, RS virus	Pozitivní výsledek PCR	
SARS-Cov-2	Pozitivní výsledek PCR	NRL pro chřipku a nechřipková respirační virová onemocnění

Zápis o hlášení je proveden do Výstupního komentáře v LIS, kde je uveden datum, čas, identifikace hlásícího a osoby, které byl nález nahlášen. Tato hlášení je možno zpětně dohledat ve Statistice hlášení ENVIS. Současně hlásí tyto nálezy nemocniční hygieničce.

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Vyšetření odléhající povinnému hlášení nahlásí na KHS, o hlášení je proveden záznam do výstupního komentáře výsledkového listu.

Po uzavření je výsledek distribuován standardní cestou ošetřujícímu lékaři.

Zároveň může mikrobiolog telefonicky konzultovat s odebírajícím lékařem jakýkoli výsledek vyšetření, který považuje za závažný nebo vyžadující konzultaci.

E-3) Změny výsledků a nálezů

Jestliže laboratoř vydala chybný výsledek, musí provést opravu, vytisknout a vydat výsledek správný.

- v případě, že byl výsledek již vytištěn a chyba ve výsledku byla bezprostředně odhalena, provede vysokoškolák, který vyšetření uvolnil, nápravu a nepořizuje zápis o opravě výsledku.
- pokud byla chyba ve výsledku odhalena až poté, co byl výsledek zaslán lékaři písemně nebo elektronicky, je nutno opravit výsledkový protokol, zaslat neprodleně správný výsledek a oznámit chybu odebírajícímu lékaři. V tomto případě musí být proveden písemný zápis o opravě výsledku, v komentáři na výsledkovém protokolu je uvedeno, že se jedná o opravu výsledku číslo XXXX ze dne DD. MM.RRRR. Zápis se provádí do *formuláře Záznam o neshodě*. Je nutno archivovat chybný i opravený výsledek.

E-4) Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku

Tyto orientační časové údaje jsou uvedeny v části C-5 *Manuál odběru vzorků* a v příloze č.1 *Stručný manuál odběru vzorků*)

E-5) Způsob řešení stížností

Podle formy doručení stížnosti do laboratoře dělíme tyto na ústní a písemné.

- Ústní stížnosti:
 - stížnosti charakteru drobné připomínky, které je možno okamžitě vyřešit, řeší neprodleně pracovník, který stížnost přijal nebo vedoucí oddělení. Záznam se neprovádí.
 - Stížnosti, u nichž vzniká pochybnost o oprávněnosti, vždy řeší odpovědný pracovník. Jedná-li se o drobnou stížnost, která je okamžitě vyřešena, zápis se neprovádí. Pokud je stížnost závažnějšího charakteru a prokáže se jako neoprávněná, je proveden záznam o obsahu i řešení do *Záznamu o stížnosti*.
 - Rovněž oprávněnou stížnost závažnějšího charakteru řeší vedoucí pracovník, o jejím obsahu a způsobu řešení provede záznam do *Záznamu o stížnosti*. Vyžaduje-li stěžovatel písemnou odpověď, vedoucí pracovník ji vypracuje a odešle. Kopie odpovědi je založena v laboratoři.
- Písemné stížnosti:
 - Každá písemná stížnost je zaevidována v *Záznamu o stížnosti* a předána vedoucímu oddělení k řešení.
 - Písemná odpověď s řešením problému je zaslána stěžovateli vedoucím oddělení buď ihned, nebo po době potřebné k nalezení řešení. Zápis v *Záznamu o stížnosti* obsahuje

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

datum příjmu stížnosti a datum odeslání odpovědi. Kopie odpovědi je založena v laboratoři.

- Jestliže stížnost nemůže vyřešit vedoucí oddělení, je podstoupena k řešení vedení nemocnice

E-6) Konzultační činnost laboratoře

Konzultační činnost poskytuje laboratoř po celou pracovní dobu. Akutní konzultace na kontaktních mobilních telefonech i mimo pracovní dobu. Pokud se týkají indikací vyšetření, interpretace výsledků a citlivosti na antibiotika, poskytují je pouze vysokoškoláci. Informace obecného charakteru o způsobu odběru, transportu vzorků apod. mohou poskytovat i laborantky.

Příloha č. 1 LP-MKB/04 Stručný manuál odběru vzorků

Použité zkratky:

VT-TP	Výtěrový tampon s transportní půdou Amies
VTD-TP	Výtěrový tampon na drátku s transportní půdou Amies
VTF	Výtěrový tampon Flocked Schwabs
SP	Sterilní sputovka
ZK	Sterilní zkumavka
ZK-K	Zkumavka pro odběr krve
ST	Stříkačka sterilní
PAR	Parazitologická odběrová souprava s lopatičkou
PT	Pokojová teplota 15-30 °C
CHT	Chladničková teplota 2-8 °C
MT	Mrazničková teplota (-20 °C)
CHPB	Chlazený přepravní box (teplota 4-20 °C)
D	Den
M	Měsíc
h	Hodina

	Vyšetření	Odběr	Odběrová souprava	Uchovávání	Transport	Doba odezvy nejkratší/standardní
Dýchací cesty	Výtěr z krku	Výtěr z tonzil, patrových oblouků	VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Výtěr z nosu	Výtěr z dutiny nosní	VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Výtěr z nosohltanu	Výtěr z nosohltanu – cílená kultivace <i>B. pertussis</i> , <i>B.parapertussis</i>	VT-TP	2h/PT	2h/PT	4D/6D
	Výtěr z dutiny ústní	Stěr ze sliznice dutiny ústní	VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Cílená kultivace <i>N. meningitidis</i>	Výtěr z krku, nosu, petechií, vyšetření sputa	VT-TP	24h/PT	2h/PT	2D/5D
	Punktát z paranazálních dutin	Tekutý materiál získaný punkcí dutiny	ST, VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/6D
	Bronchiální výplach	Odsátý materiál výplachu velkých bronchů	SP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Bronchoalveolární laváž	Odsátý materiál z výplachu plicních sklípků	SP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Endotracheální aspirát	Aspirát získaný z intubace dýchacích cest	SP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Výtěr z tracheostomie	Výtěr z tracheostomické kanyly	VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Sputum	Odkášlané sputum (hnisavý sekret z dýchacích cest)	SP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Průkaz antigenu <i>Streptococcus pneumoniae</i> v moči, likvoru	Moč nebo likvor k přímému průkazu antigenu	ZK, SP	24h/PT	2h/PT, CHPB	1h/1D
				14D/CHT moč		
				7D/CHT likvor		
				14D/MT		

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

	Vyšetření	Odběr	Odběrová souprava	Uchovávání	Transport	Doba odezvy nejkratší/standardní
Urogenitální trakt	Kultivace moče	Moč střední proud, cévkovaná permanentní katetr	ZK	24h/CHT	2h/PT, CHPB	1D/3D
	Průkaz antigenu <i>Legionella pneumophila</i>	Moč k přímému průkazu antigenu		24h/PT 14D/CHT	2h/PT, CHPB	1h/1D
	URICULT	Moč střední proud, cévkovaná moč	Uricult	24h/PT	2h/PT, CHPB	1D/3D
	Výtěr z pochvy a cervixu	Výtěr ze zadní klenby poševní, stěr z cervixu	VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/4D
	Výtěr z uretry	Výtěr z uretry	VTD-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/4D
	MOP (2 sklíčka – MOP+ <i>Trichomonas vaginalis</i>)	Mikroskopický preparát z poševního sekretu rozetřeného na podložní sklíčko	Podložní sklo	PT, CHPB	2h/PT, CHPB	1D/2D
	Cílená kultivace <i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS)	Výtěr z pochvy	VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	1D/2D
	Kultivace <i>Trichomonas vaginalis</i>	Výtěr z pochvy	CAT Swab	24h/PT	2h/PT	5D
	Kultivace IUD (nitroděložního tělíska)	Vyjmuté nitroděložní tělísko	Sterilní sputovka	12 hod/PT	2hod/PT	10-15 dnů
	Urogenitální mykoplasmata	Výtěr z pochvy, cervixu, uretry Sperma, moč	Transportní médium – žluté víčko VTF ZK na moč, sperma	Výtěry: 20h/PT 56h/CHT Moč: 24h/CHT	2h/PT, CHPB	1D/2D

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Urogenitální trakt	Průkaz antigenu <i>Chlamydia spp.</i>	Výtěr z cervixu, uretry Moč u mužů	VTF ZK na moč	24h/PT 7D/CHT 6M/MT	<u>Výtěry:</u> Do 24 hod po odběru PT, CHPB delší doba CHT <u>Moč:</u> CHT	1D
	Plodová voda	Odběr plodové vody při porodu	ZK	24/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Ejakulát	Ejakulát získaný masturbací	ZK	24/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Prostatický sekret	Sekret získaný masáží prostaty	VT-TP	24/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Vyšetření sekretu z Bartoloniho žlázy	Sekret získaný punkcí žlázy	ST, ZK, VT-TP	24/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Vyšetření tekutiny z adnex	Tekutina z adnex získaná při operaci	ST, ZK, VT-TP	24/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D

	Vyšetření	Odběr	Odběrová souprava	Uchovávání	Transport	Doba odezvy nejkratší/standardní
Gastrointestinální trakt	Výtěr z konečníku	Výtěr z recta	VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Průkaz antigenu a toxinu <i>Clostridium difficile</i>	Stolice velikosti lískového oříšku nebo tekutá stolice	PAR	24h/CHT	2h/PT, CHPB	2h/2h
	Kultivace <i>C.difficile</i>	Stolice zaslaná k vyšetření toxinu	PRA	Ihned do laboratoře	Co nejrychleji/CHPB	2h/2h
	Průkaz antigenu rotavirů, adenovirů a norovirů, astrovirů a enterovirů ve stolici	Stolice velikosti lískového oříšku nebo tekutá stolice	PAR	24h/CHT	2h/PT, CHPB	2h/2h

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

	Průkaz antigenu <i>Helicobacter pylori</i> ve stolici	Stolice velikosti lískového oříšku	PAR	24h/CHT	2h/PT, CHPB	2h/1D
	Průkaz antigenu <i>Campylobacter spp.</i> ve stolici	Stolice velikosti lískového oříšku	PAR	3 dny/CHT	2h/PT, CHPB	2h/1D

	Vyšetření	Odběr	Odběrová souprava	Uchovávání	Transport	Doba odezvy nejkratší/standardní
Gastrointestinální trakt	Vyšetření žluče	Obsah žlučových cest získaný při operaci, ECRP, punkcí, drenáží.....	ST, ZK, VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Bipsie sliznice na průkaz <i>H. pylori</i>	Kousky sliznice získané při gastrokopii	SP s 20% glukózy	2h/PT	2h/PT, CHPB	1D
	Parazitologické vyšetření stolice	Stolice velikosti lískového oříšku	PAR	24h/CHT Améby ihned do laboratoře	2h/PT, CHPB	2D/4D
	LEPEX (průkaz <i>Enterobius vermicularis</i>)	Průhledná lepící páska	Podložní sklíčko s lepící páskou	24h/PT, CHT	2h/PT, CHLB	1D/2D
	Vyšetření	Odběr	Odběrová souprava	Uchovávání	Transport	Doba odezvy nejkratší/standardní
Stěry, výtěry	Výtěr z ucha	Výtěr ze zevního zvukovodu	VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Výtěr z oka	Výtěr ze spojivky	VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Stěr z kožní léze	Stěr z kožních eflorescencí, lézí	VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D
	Výtěr z rány	Výtěr z periferie rány, kde nelze odebrat tekutý hnis	VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/6D
	Výtěr z defektu	Výtěr z defektu, dekubitu, bércového vředu....	VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/6D

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Strana přílohy č.1: 6/7

	Vyšetření	Odběr	Odběrová souprava	Uchovávání	Transport	Doba odezvy nejkratší/standardní
Hluboké defekty, rány, tekutý hnis, tekutý materiál z primárně sterilních míst	Výtěry z hlubokých ran a defektů	Výtěr nebo několik výtěrů z různých míst rány, defektu na aerobní a anaerobní kultivaci	VT-TP	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/6D
	Hnis z abscesu, patologické dutiny	Aspirace hnisu z abscesu nebo odběr materiálu z patologické dutiny aspirací	ST, ZK	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/6D
	Obsah primárně sterilní dutiny	Pleurální punktát, synoviální tekutina, ascites, dialyzát, peritoneální tekutina.....možný i odběr do pediatrické hemokultury	ST, ZK BACTEC Peds	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/6D Prodloužená kultivace 15-16 dnů.
	Vyšetření	Odběr	Odběrová souprava	Uchovávání	Transport	Doba odezvy nejkratší/standardní
Cizorodý materiál	Vyšetření cizorodého materiálu z míst primárně sterilních	Odstřižená špička (4cm) cévního katetru, chirurgického drénu, stenty, část kloubní náhrady	Sterilní nádoba, kontejner – vložit na sucho	24h/PT	2h/PT, CHPB	2D/5D

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Sonikát	Vyšetření kloubních komponent (implantátů) nebo jiného cizorodého materiálu sonikací	Kloubní komponenty (hlavice, jamka, dřík, šrouby...), kardiální implantáty (chlopeň, kardiostimulátor....)	Sterilní nádobka, kontejner – vložit na sucho	Ihned do laboratoře	2h/PT	14 dnů/16 dnů
----------------	---	--	---	---------------------	-------	---------------

	Vyšetření	Odběr	Odběrová souprava	Uchovávání	Transport	Doba odezvy nejkratší/standardní
Likvor	Vyšetření mozkomíšního moku mikroskopicky, aglutinačně a kultivačně	Odběr likvoru lumbální punkcí + odběr stěru z místa vpichu Množství alespoň 1ml moku	ZK	Ihned do laboratoře 24h/PT	2h/PT, CHPB	1hod/1D/4D

	Vyšetření	Odběr	Odběrová souprava	Uchovávání	Transport	Doba odezvy nejkratší/standardní
Hemokultura	Kultivační vyšetření	Odběr žilní krve periferní venepunkcí, při podezření na katetrovou infekci i ze zavedeného katetru (10 ml do aerobní a anaerobní lahvičky, u dětí 3ml, novorozenci alespoň 1ml)	Hemokultura aerobní Hemokultura anaerobní Hemokultura pediatrická	Co nejdříve do laboratoře 24h/PT	2h/PT	1D/5D
	Vyšetření	Odběr	Odběrová souprava	Uchovávání	Transport	Doba odezvy nejkratší/standardní

Nemocnice Šumperk a.s.	LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	LP-MKB verze 06
Mikrobiologická laboratoř		Platnost od: 20. 7. 2020

Serologie Imunologie	Infekční sérologie	Odběr žilní krve otevřeným nebo uzavřeným odběrovým systémem, cca 0,5ml na 1 požadované vyšetření	Zkumavky pro odběr krve	24h/CHT	2h/PT, CHPB	1D/5D
	Imunologie	Po odběru netřepat, nechat 30 min stát (oddělení krevního koláče od séra), plnou krev nemrazit!				
PCR	Influenza A/B/RS virus	Výtěr z nosohltanu, nosu	Odběrové médium pro PCR	24hod/PT 48 hod při CHT	PT	60min/1D
	SARS-CoV-2	Výtěr z nosohltanu Aspirát/výplach z nosu	Odběrové médium pro PCR	12 hod/PT 24 hod/CHT	PT	90 min/1 den/48hod

Příloha č. 2 LP-MKB/01/01 Prohlášení o mlčenlivosti

Pracovníci laboratoře nakládají s údaji pacientů podle předpisu č. 372/2011 Sb. – Zákon o zdravotních službách a jejich poskytování, a to podle paragrafu 51 o zachování mlčenlivosti a podle paragrafu 65 o nahlížení do zdravotnické dokumentace.