



# Zpravodaj Centra MPI

## Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

www.zuova.cz

2/2008/Ročník 4  
Datum vydání 20. 10. 2008

### Nová organizační struktura Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě

více na str.2

#### Proč je třeba v ambulantních zdravotnických zařízeních dezinfikovat?

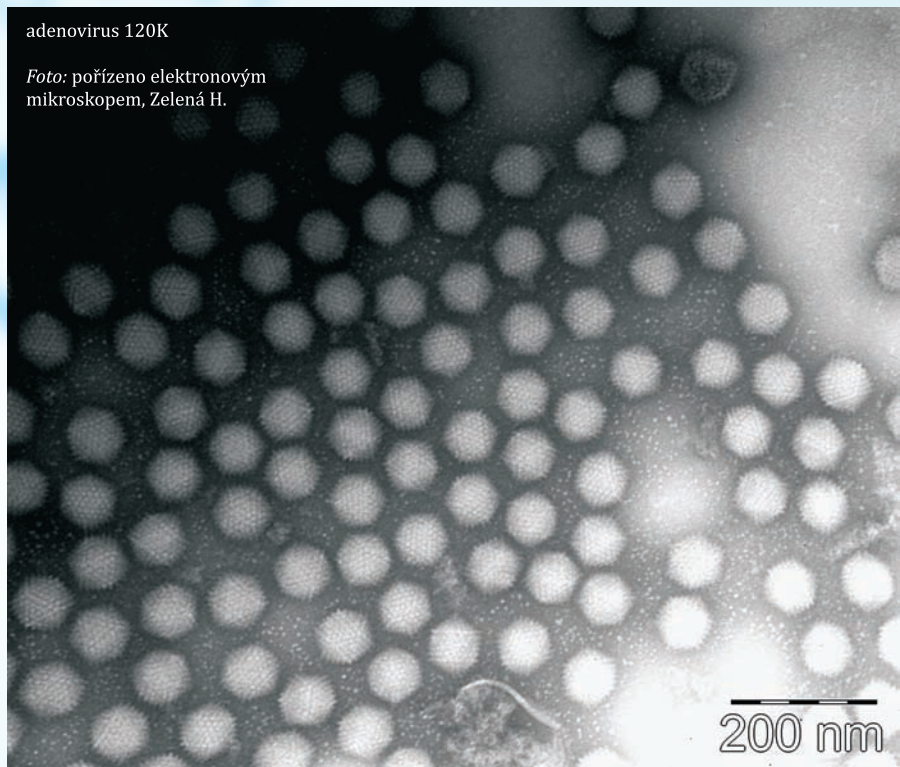
Pazdziora E., Matějová K.  
ZÚ Ostrava, antibiotické středisko

Vztah mezi zdravotnickým personálem a pacientem je v ambulantních zařízeních z hlediska šíření nákaz těsný a oboustranný. Pacient může být pro zdravotníka zdrojem jeho profesionálního onemocnění, zdravotnický pracovník může být zdrojem a prostředím ambulance faktorem přímého i nepřímého přenosu aktuálních původců nákaz. Uvedené příklady šířících se infekcí i vlastní zkušenosti nás vedou k přesvědčení, že dřívější pohledy na infekční riziko v ambulantních zařízeních je třeba přehodnotit a respektovat aktuální epidemiologickou situaci.

více na str. 3-5

adenovirus 120K

Foto: pořízeno elektronovým mikroskopem, Zelená H.



#### Novinky v laboratorní diagnostice na oddělení imunologie a alergologie ZÚO

Novák V., Kloudová A.  
ZÚ se sídlem v Ostravě, Odd. imunologie a alergologie

Oddělení imunologie a alergologie ZÚ se sídlem v Ostravě, které vzniklo v rámci restrukturalizace CMPI k 1.8.2008 z bývalého odboru imunologie a alergologie, se dlouhodobě vyznačuje snahou o nabídku co nejefektivnějších a nejrationálnějších služeb v oboru alergologie a klinické imunologie. Trvale sledujeme nejmodernější trendy v této oblasti a podle svých poznatků a reálných možností přizpůsobujeme nabídku svých služeb tak, aby umožňovala moderní a zároveň racionální přístup k diagnostice a léčbě. Vycházíme jednak z průběžného sledování periodik s imunologickou problematikou, dále z prezentací na tuzemských i zahraničních odborných akcích a v neposlední řadě reagujeme přímo na podněty klinických pracovníků prakticky všech odborností.

Tento článek shrnuje novinky nabízené našim pracovištěm v laboratorní diagnostice v poslední době. Velká část níže uvedených informací se týká laboratorní diagnostiky autoimunitních onemocnění gastrointestinálního traktu (GIT), která koresponduje se zvýšeným zájmem gastroenterologů právě o tuto problematiku.

více na str. 5-6

#### Upozornění pro lékaře:

##### *Bordetella pertussis* - vzrůstající incidence černého kašle (pertuse)

Jančová J.,<sup>1</sup> Lysková P.,<sup>2</sup>  
ZÚ Ostrava<sup>1</sup> Odd. bakteriologie Ostrava, <sup>2</sup>odd. bakteriologie Havířov

Původcem černého kašle je *Bordetella pertussis*. Od zavedení očkování v roce 1958 výskyt onemocnění postupně klesal. Avšak v posledních letech, navzdory očkování, je opět sledován vzestup. Převážná většina prokázaných případů byla zaznamenána u dětí a adolescentů v rozmezí 0-19 let. Celosvětově se pak případy nemocných pertusí posouvají do vyšších věkových skupin 10-19letých bez ohledu na druh použité vakcíny (celulární, acelulární).

více na str. 7

## Vážení a milí kolegové a spolupracovníci,

s cílem maximálního zvýšení efektivity a racionalizace práce došlo ke dni 1.8. 2008 ke zjednodušení organizační struktury Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě. Zrušením organizační jednotky „odbor“ jsme se dostali na dvoustupňové řízení, kdy přímo pod vedením Centra mikrobiologie, parazitologie a imunologie pracuje 9 oddělení:

### **Centrum mikrobiologie, parazitologie a imunologie**

Vedoucí centra: Mgr. Hana Bílková Fránková

#### **• Oddělení bakteriologie a mykologie Ostrava •**

Vedoucí oddělení: RNDr. Vladislav Holec

Vedoucí laborantka: Miroslava Topínková

#### **• Oddělení imunologie a alergologie Ostrava •**

Vedoucí oddělení: RNDr. Ivo Lochman, Csc.

Vedoucí laborantka Anna Macečková

#### **• Oddělení virologie Ostrava •**

Vedoucí oddělení: MUDr. Jiří Januška

Vedoucí laborantka: Alena Hladíková

#### **• Oddělení parazitologie a lékařské zoologie Ostrava •**

Vedoucí oddělení: RNDr. Zdeněk Doležil

Vedoucí laborantka: Eva Pavelková

#### **• Oddělení molekulární biologie Ostrava •**

Vedoucí oddělení: Mgr. Jakub Mrázek

Vedoucí laborantka: Zuzana Lazarová

#### **• Oddělení mikrobiologické technologie Ostrava •**

Vedoucí oddělení: Ing. Iva Porazilová

Vedoucí laborantka: Dana Sovová

#### **• Oddělení bakteriologie Havířov •**

Vedoucí oddělení: RNDr. Jana Fránková

Vedoucí laborantka: Marcela Pištěková

#### **• Oddělení parazitologie a imunologie Karviná •**

Vedoucí oddělení: Mgr. Hana Bílková Fránková

Vedoucí laborantka: Jiřina Kmecová

#### **• Oddělení bakteriologie a parazitologie Bruntál •**

Vedoucí oddělení: MUDr. Alena Seidlerová

Vedoucí laborantka: Hana Smetanová

Naše zákazníci jsme s touto změnou seznámili prostřednictvím informace zveřejněné na www stránkách 4. 8. 2008. Spektrum poskytovaných služeb zůstalo nezměněno, kvalita i rozsah vyšetření, které byly prováděny na jednotlivých odborech CMPI jsou zachovány. Kontinuita je samozřejmě zachována rovněž v zavedeném systému managementu kvality dle ČSN EN ISO 15189 Zdravotnické laboratoře - Zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost, podle něhož všechna oddělení CMPI již několik let pracují. V roce 2006 jsme u Českého institutu pro akreditaci, o.p.s. akreditovali 365 standardních operačních postupů. Jejich seznam je zveřejněn rovněž na www stránkách ZÚ se sídlem v Ostravě. Pro reakreditaci, která proběhne na počátku roku 2009, připravujeme fúzování částí metod, kde celkový počet SOP snížíme, důležité však je, že procento akreditovaných postupů jednoznačně navýšíme.

Podrobné informace o spektru prováděných metod, manuály pro odběr vzorků, vzory žádanek, informace o plánovaných seminářích a další naleznete na [www.zuova.cz](http://www.zuova.cz).

Pevně věříme, že budeme i nadále velmi dobře spolupracovat, našim hlavním cílem je vaše maximální spokojenost.

## Proč je třeba v ambulantních zdravotnických zařízeních dezinfikovat?

Erich Pazdziora, Kateřina Matějová

ZÚ se sídlem v Ostravě, Antibiotické středisko

Na tuto otázku je zdánlivě jednoduchá odpověď: protože to ukládá vyhláška 195/2005 Sb. a hrozí přenos původců nozokomiálních a profesionálních nákaz.

Podívejme se na celou věc poněkud z jiného pohledu.

Každé zdravotnické pracoviště má schválený provozní řád, který pamatuje na cílené používání dezinfekčních prostředků. Ambulantní zdravotnické pracoviště má svá specifika, kterými se liší od lůžkového zdravotnického zařízení. Pohyb osob a vlastní lékařské a ošetrovatelské výkony probíhají na podstatně menší ploše a rizikové manipulace nejsou dostatečně odděleny. Již při vstupu do čekárny praktického nebo odborného ambulantního lékaře nás zarazí zjevné křížení provozu. Přicházejí sem pacienti s respiračními infekcemi, zvláště v době epidemického šíření virových nákaz, pacienti na injekční aplikace léků, nemocní na převazy a vedle nich jsou pacienti žádající vyšetření nebo jen vystavení receptu.

Malý nedostatečně větraný prostor čekárny je vhodným prostředím pro přenos původců šířených vzduchem. Mikroorganismy jsou důležitou součástí aerosolu vnitřního prostředí. Jsou jednou z kontaminantů prostředí, která se může při přenosu významně uplatnit a vlastně jedinou živou složkou prostředí, která má proto schopnost se ve vnitřním prostředí za určitých podmínek nejen hromadit, ale i rozmnožovat. Částice velikosti pod 5 µm jsou respirabilní, schopné pronikat až do alveol plic. Představují vážný problém zejména pro pacienty s oslabeným imunitním systémem.

Uvědomujeme si dostatečně tento faktor přenosu při protiepidemických opatřeních? Předpisy – v našem případě vyhláška č. 6/2003 Sb. na toto riziko pamatuje a stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností staveb zdravotnických zařízení, ústavů sociální péče a dalších. Nepřípustný je viditelný nárůst plísni na zdech a povrchu pobytových místností. Požadavky na kvalitu vnitřního prostředí staveb se pokládají za splněné, nepřekročili-li koncentrace bakterií 500 kolonie tvořících jednotek (CFU) v 1 m<sup>3</sup> vzduchu a koncentrace plísni vyšší než 500 CFU v m<sup>3</sup> vzduchu. Podřizujeme tomu i způsob úklidu, větrání a povrchové dezinfekce?

Další problém nás napadne při měření krevního tlaku a EKG. Jakou roli mohou hrát při přenosu manžety tonometrů, fonendoskopy nebo gely při použití elektrod? Stačí čas k zaschnutí antiseptika a k jeho dezinfekčnímu účinku před vpichem při odběru krve? Uplatňujeme kontrolu, abychom si zpětnou vazbou ověřili dostatečnou účinnost preventivních opatření?

Na odběr krve a dalšího biologického materiálu pamatuje vyhláška 195/2005 Sb. – požaduje takový prostor, který splňuje základní hygienické požadavky. Optimální je samostatný prostor pracovny zdravotní sestry. To mimo jiné znamená vybavení kvalitními čistitelnými manipulačními plochami. Běžná bakteriální kontaminace ploch je 10<sup>3</sup> CFU na cm<sup>2</sup>. Na místech, kde se manipuluje s biologickým materiálem je zatížení ploch až 10<sup>8</sup> CFU na cm<sup>2</sup>. Obdobnou kontaminací můžeme předpokládat u použitých zdravotnických prostředků, tj. nástrojů a pomůcek používaných při odběrech biologického materiálu. Navíc se dá očekávat kontaminace viry, bakteriálními spory a mikroskopickými vláknitými houbami.

Je zřejmé, že při takové práci je ochrana rukou personálu nutností.

Kontaminované ruce jsou ve zdravotnických zařízeních bezesporu velmi významným faktorem přenosu původců infekcí. Jak postupovat, abychom snížili jejich podíl, se dozvíme z Metodického opatření č. 6/2005 Věstníku MZ ČR: Hygienické zabezpečení rukou ve zdravotní péči. Stanoví zásady osobní hygieny, péče o ruce a jejich přípravu ke zdravotnickým úkonům při vyšetřování a ošetrování pacientů. Popisuje přesné postupy při mechanickém mytí, při hygienické a chirurgické dezinfekci rukou. Sjednocení postupů vede k šetrnému ošetrování rukou. Důkladné seznámení se s uvedeným opatřením přesvědčí každého zdravotnického pracovníka, který dosud lpěl jen na mytí rukou z obavy před podrážděním pokožky a vzniku alergií, že méně mytí a více hygienické dezinfekce je skutečnou ochranou před profesionálními i nozokomiálními nákazami i před poškozením pokožky rukou.

Musíme si uvědomit, že pokožka rukou je osídlena stálou, trvalou (rezidentní mikroflórou) a vedle ní také přenosnou a přechodnou (tranzientní) mikroflórou. Nepochybuje se o tom, že se především tranzientní mikroflóra uplatňuje při přenosu mikroorganismů mezi pacientem a zdravotníkem a naopak. Vždyť na ruce se dostala kontaktem při manipulaci s biologickým materiálem a kontaminovanými předměty. Také její převažující složení tomu napovídá, protože je často kopií biocenózy,

kteřou zjišťujeme v ordinaci pomocí stěrů nebo otisků. Převažují gramnegativní fermentující a nefermentující tyčinky (z čel. Enterobacteriaceae, pseudomonády, acinetobaktery, enterobaktery), streptokoky a kandidy. Jsou však přítomné i mykobakterie a viry (enteroviry, rotaviry, reoviry, paramyxoviry, viry hepatitid a další), které nejsme schopni svými odběrovými postupy zachytit.

Vedou se diskuse, zda stále osídlení kůže má význam při přenosu infekcí. I na viditelně čistých rukou jsou dlouhodobě přítomné stafylokoky (koaguláza negativní) i Staphylococcus aureus včetně methicillin rezistentních kmenů, papillomaviry, herpesviry i nepatogenní sarciny, korynebakterie, mikrokoky. Podle našich zkušeností i experimentů bude záležet na schopnosti jednotlivých druhů perzistovat.

Přežívání na pokožce se liší od délky přežívání na anorganickém povrchu. Jako příklad si můžeme uvést druhy několika rodů na rukou a na manipulačních plochách:

Mikroorganismus	Na rukou v minutách	Na manipulačních plochách
Acinetobacter sp.	více než 150	3 dny až 5 měsíců
Escherichia coli	6-90	2 dny až 6 měsíců
Klebsiella sp.	120	2 hod až 30 měsíců
Proteus vulgaris	více než 30	1 - 2 dny
Pseudomonas aeruginosa	30 - 180	6 hod až 16 měsíců
Serratia marcescens	více než 30	3 dny až 2 měsíce
Salmonella sp.	do 180	6 hod až 4,2 roků
Staphylococcus aureus	více než 150	4 týdny až 7 měsíců
S. aureus (MRSA)	není známo	4 týdny až 6 měsíců
Enterokoky (VRE)	až 60	5 dní až 4 měsíce
Kvasinky (Candida, Torulopsis)	60	1 - 150 dní
Virus chřipky	10 - 15	12 - 48 hod
Virus hepatitidy A	několik hodin	2 hod až 60 dní
Rotavirus	až 260	6 - 60 dní
Clostridium difficile	není známo	24 hod, spory až 5 měsíců

Z těchto údajů plyne, jak je významné průběžné odstraňování mikroorganismů z prostředí i z rukou. Nejde jen o riziko kumulace mikrobů v prostředí, nýbrž také riziko přenosu přežívajících agens na rukou do prostředí domova a reálné nebezpečí přenosu na členy vlastní rodiny.

Při přenosu je důležitý contamination rate vyjádřený v procentech. Představuje podíl zdravotnických pracovníků z celkového počtu, kteří jsou v kontaminovaném prostředí vůči kontaminaci exponováni a infikují se.

Věrohodných údajů není mnoho, ale pro nejvýznamnější mikroorganismy byly zjištěny:

Mikroorganismus	Contamination rate (v %)
Acinetobacter sp.	3 - 15
Escherichia coli	není známo (nz)
Klebsiella sp.	17
Jiné gramnegativní tyčinky	21 - 86,1
Proteus vulgaris	1,3 - 25
Serratia marcescens	15,4 - 24
Salmonella sp.	nz
Staphylococcus aureus	10,5 - 78,3
S. aureus (MRSA)	16,9
Enterokoky (VRE)	41
Kvasinky (Candida, Torulopsis)	23 - 81
Virus chřipky	nz
Virus hepatitidy A	nz
Virus hepatitidy C	8 - 23,3
Rotavirus	19,5 - 78,6
Bacillus cereus	37
Clostridium difficile	14 - 59

Hodnoty nad 50% by nás měly vést k zamyšlení a k opatřením.

Podívejme se nyní na aktuální bakteriální infekce, které mohou ohrožovat pacienty i personál ambulantních pracovišť. Od roku 2000 jsou to methicillin rezistentní kmene Staphylococcus aureus, v posledních letech Clostridium difficile a již dříve Escherichia coli a další gramnegativní tyčinky – producenti širokospektrých

betalaktamáz (ESBL). Je třeba zdůraznit, že nejde jen o nemocniční kmeny, ale především o kmeny komunitní. Ty cirkulují mezi pacienty v nemocnicích i v LDN, obyvateli domovů důchodců a kolonizují zdravé osoby na pracovištích i v jejich rodinách.

Vedle značných mezidruhových rozdílů můžeme najít i některé společné znaky při šíření v populaci. Uvedení původci v komunitních podmínkách kolonizují nebo infikují osoby nebo zvířata, kontaminují potraviny a vodu. Vylučují se stolicí, odloučenými epitelálními buňkami kůže a sliznic, exsudátem z ran i kapátkami a jsou schopny se šířit rukama, kontaminovanými povrchy, oděvy i úklidovými prostředky. Cesty přenosu jsou inhalace, ingesce, kontakt s kůží, sliznicí a s ranou.

Uvedme si podrobněji alespoň dva zástupce: *Staphylococcus aureus* a *Clostridium difficile*. Patří ke zcela odlišným skupinám, ale z hlediska dezinfekce nám mohou posloužit k pochopení otázky uvedené v názvu příspěvku.

*Staphylococcus aureus* je příčinou řady závažných infekcí. Již koncem čtyřicátých let se stávají první kmeny *S. aureus* rezistentními vůči penicilinu. K možnosti efektivní terapie těchto kmenů byla na přelomu padesátých a šedesátých let uvedena na trh skupina tzv. semisyntetických penicilinů s prvním zástupcem této skupiny – methicilinem. Dále se repertoár účinné terapie rozrostl o skupinu penicilinových antibiotik doplněných o inhibitor betalaktamázy, cefalosporiny a antibiotika s odlišným mechanismem účinku (makrolidy, linkosamidy). Roku 1961 byl však popsán první případ rezistence *S. aureus* vůči celé skupině betalaktamových a pak k řadě ostatních antibiotik způsobený alterací PBP-2a (penicillin-binding protein). Takto charakterizované kmeny jsou dále označovány akronymem MRSA. V dalších letech se tak možnost antibiotické terapie redukuje zejména u nemocničních kmenů MRSA. U komunitních kmenů MRSA jsou možnosti antibiotické terapie často širší, avšak s výraznou demografickou vazbou.

Z hlediska epidemiologického, genetického i z pohledu terapeutického je problematika methicillin rezistentního stafylokoka dále členěna na komunitní a nemocniční MRSA. Komunitní kmeny jsou celosvětově příčinou asi 30-37 % infekcí MRSA u hospitalizovaných pacientů a jsou charakterizovány na jedné straně vyšší virulencí v důsledku přítomnosti Pantanova-Valentinova leukocidinu oproti nemocničním MRSA. S komunitními kmeny se zdravotníci v ambulancích setkávají velmi často. Z anamnézy pacienta kolonizovaného komunitním kmenem plyne absence pobytu ve zdravotnickém zařízení v posledním roce, nepoužívání katetrů, negativní kultivace MRSA, chybí rizikové kontakty s dalšími pacienty apod. Pokud je pacient kolonizován methicillin rezistentním stafylokokem, pravděpodobnost, že kolonizace přejde v infekci v průběhu hospitalizace z různých příčin se pohybuje až k 60%. *Staphylococcus aureus* citlivý na methicillin, tzv. MSSA, je součástí běžné kožní flóry v oblasti nosních průduchů u 40% zdravé populace, v jiných lokalizacích (axily, inguiny, perineum, intertriginózní prostory) až u 60% zdravé populace, stejně tak jako MRSA, kde se kolonizace u zdravé populace uvádí v rozmezí 1-3%. U nemocných s diabetes mellitus a syndromem diabetické nohy je MRSA stále častějším patogenem, podílejícím se v rámci polymikrobiální infekce na vývoji onemocnění. Ve srovnání s infekcí MSSA je popisována téměř dvojnásobná mortalita. Vzhledem k častým případům opakované infekce MRSA v rané po přechodně antibiotické léčbě docílené negativitě stěrů je v poslední době doporučována účinná dekolonizace takových pacientů. Doporučované postupy pro dekolonizaci vycházejí z předpokladu neefektivnosti antibiotické terapie na nosičství MRSA. Skládají se z koupelí celého těla v dezinfekčních přípravcích (ředěná antiseptika s PVP jodem Braunol, Betadine), nejudové preparáty (Octenisept, Skinsept Mucosa, chlorhexidin). Nosičství MRSA po dekolonizační terapii může být obnoveno. Rizika spočívají v samotné charakteristice patogena a jeho odolnosti, opakovaná kolonizace šatstvem, lůžkovinami či předměty denní potřeby není vzácná. Dekolonizace by měla být součástí profylaxe infekčních komplikací u nosiče před plánovanými chirurgickými zákroky.

V loňském roce se v Kanadě a v USA vyskytlo několik případů vyvolaných novým, vysoce virulentním kmenem bakterie *Clostridium difficile*, které byly spojeny s vysokou úmrtností. U pacientů léčených antibiotiky může tato bakterie způsobovat akutní průjem a těžký střevní zánět. Infekce vyžadují dlouhodobý pobyt v nemocnici a v případě nepříznivého vývoje onemocnění mohou být smrtelné. Původcem je náročná anaerobní gram pozitivní tyčinková bakterie z rodu *Clostridium*. Ačkoli byla tato bakterie poprvé popsána již v roce 1935, její role patogenního původce průjmu a střevních zánětů spojených s léčbou antibiotiky zůstávala nerozpoznána až do druhé poloviny 70. let minulého století. Stejně jako u všech klostridií má patogen schopnost vytvářet endospory v nepříznivých okolních podmínkách. Endospory jsou mimořádně odolné vůči suchému okolnímu prostředí, teple a chemickým vlivům. Za příznivých podmínek spory znovu vzklíčí a bakterie přecházejí do vegetativního stadia. Běžně se vyskytuje v půdě, vodních tocích a ve střevech zvířat i lidí. Bakterie v sobě přenášejí až dvě třetiny zdravých dětí, aniž by se u nich rozvinuly typické příznaky onemocnění. U zdravých dospělých osob je kolonizace nižší (2-5%).

Situace v nemocnicích je však odlišná. Kolonizováno je 10 až 25% pacientů. Kolonizace střevního traktu bakterií *C. difficile* sama o sobě u zdravých osob nevede ke vzniku onemocnění. Za normálních okolností je růst patogenu omezován zdravou střevní flórou hostitele. Situace je však odlišná u pacientů léčených širokospektrými antibiotiky. Antibiotika nejen ovlivňují růst patogenních bakterií, ale poškozují také přirozenou střevní flóru. To napomáhá množení méně citlivých druhů bakterií, mezi které patří i *C. difficile*. Je totiž vysoce odolná vůči většině antibiotik. Patogen se proto při léčbě antibiotiky může ve střevech hostitele mimořádně dobře množit, přičemž současně dochází ke změně střevní mikroflóry. Zvýšená intenzita růstu patogenu je spojena se zvýšenou produkcí bakteriálních toxinů. Ty pak napadají střevní stěnu a nakonec způsobují vznik klinických projevů onemocnění. U téměř všech antibiotik, která se v současné době používají, byla prokázána souvislost se vznikem střevních infekcí spojených s přítomností bakterie *C. difficile*. Kromě toho se infekce mohou vyskytovat i u pacientů, kteří se podrobují chemoterapii při léčbě zhoubných nádorů a pacientů užívajících imunosupresivní přípravky. Schopnost bakterie *C. difficile* vytvářet spory, které jsou mimořádně odolné vůči okolnímu prostředí, usnadňuje přežití patogenu v okolí nemocných osob a přispívá k epidemickému šíření infekcí v nemocnicích, pečovatelských institucích i mimo ně. Pacienti postižení průměrně souvisejícím s infekcí způsobenou bakterií *C. difficile* vylučují nesmírné množství spor se stolicí. Přenos se pak děje fekálně-orální cestou. Znečištěné ruce pacientů a ošetřovatelského personálu jsou zvláště důležité. Potenciálními vehikuly pro přenos patogenu jsou však také zdravotnické prostředky (například i stetoskopy), zařizovací a vybavovací předměty v ordinacích. V případech ošetřování pacienta s infekcí způsobenou sporulujícími mikroorganismy existují mimořádně náročné požadavky, pokud jde o hygienu přístrojů a povrchů, a to vzhledem k mimořádné odolnosti spor. Aby se zajistilo usmrcení bakterie *C. difficile*, je při dezinfekci nutno používat přípravky se sporicidními vlastnostmi. Ke skupinám přípravků, které tyto požadavky splňují, patří produkty na bázi aldehydů, aktivního kyslíku a některé sloučeniny chloru. Tyto látky zajišťují bezpečnou ochranu proti vegetativním formám bakterie *C. difficile*. V odpovídajícím dávkování a době působení dokážou usmrcovat spory na použitých zdravotnických prostředcích a plochách. Z důvodů poškození nelze používat sporicidní přípravky při dezinfekci rukou. Důkladná dezinfekce rukou je však důležitým a nezbytným hygienickým opatřením v souvislosti s profylaxí infekcí vyvolaných bakterií *C. difficile*. Prostřednictvím pečlivé dezinfekce rukou za použití přípravků na bázi alkoholu, který je šetrný k pokožce, lze účinně usmrcovat pouze vegetativní zárodky bakterie *C. difficile*. Přitom je důležité, aby se přípravek pro dezinfekci rukou používal v dostatečném množství. Doporučuje se nejprve umytí rukou dezinfekční mycí emulzí, následně důkladné opláchnutí a po vysušení provedení hygienické dezinfekce rukou. Tímto způsobem se odstraní mnoho spor, které ulpívají na pokožce. Poněvadž prostřednictvím takto prováděné dezinfekce rukou nelze zcela vyloučit nebezpečí přenosu bakterie *C. difficile*, je v případě styku s infikovanými pacienty povinné používání jednorázových rukavic.

Z tabulky plyne, že můžeme očekávat dlouhodobé přežívání stafylokoků a klostridií v prostředí ambulancí v případě zanedbání zásad plynoucích z provozního řádu a dezinfekčního plánu.

Přípravky jsou v něm seřazeny podle pracovních úkonů a musí se pamatovat na všechny oblasti:

mytí rukou tekutým mýdlem s dezinfekčním účinkem, hygienická a chirurgická dezinfekce rukou, ošetření rukou po dezinfekci, antiseptice pokožky před porušením její integrity vpichem při odběrech, dezinfekce nástrojů a pomůcek, dezinfekce pro manipulační plochy, malé prostory a na přístroje postřikem, dezinfekce vodními roztoky mytím a otíráním, dezinfekce v mycích a dezinfekčních zařízeních.

Vše potřebné najdeme na etiketách a v bezpečnostních listech:

- účinnou látku
- spektrum účinnosti
- používanou koncentraci nebo dávkování k dosažení účinku na uvedená agens
- dobu expozice
- název firmy, u které je možné dezinfekční prostředek objednat.

V minulém roce jsme si měli možnost ověřit, zda zdravotničtí pracovníci v ambulantních provozech respektují naznačené epidemiologické riziko. Položili jsme si několik otázek:

- je spektrum používaných dezinfekčních prostředků dostatečné, aby je bylo možné střídát
- jsou používány k danému účelu prostředky s odpovídajícím rozsahem své účinnosti

c) používají se ve zdravotnických zařízeních dezinfekční prostředky v koncentracích stanovených výrobcí

d) jsou rozdíly v ředění roztoků v ordinacích a roztoků připravených v laboratoři z originálu

e) jsou výrazné rozdíly v účinnosti zkoušeného dezinfekčního prostředku na gram pozitivní koky a na gram negativní tyčinky při době expozice 32 minut

f) jak reagují používané dezinfekční prostředky na vysokou bílkovinnou zátěž při krátké době expozice?

Ordinace a ambulance lze považovat za prostředí s relativně vysokým a trvalým rizikem vzniku a šíření infekcí.

Základním uznávaným principem pro předcházení vzniku selekce odolných bakteriálních kmenů je střídání dezinfekčních prostředků podle jejich chemického složení. Potěšilo nás, že zdravotnická pracoviště tento požadavek respektují. K dezinfekci nástrojů i povrchů jsou dezinfekční prostředky voleny správně, tj. s baktericidním a virucidním účinkem. Často jde o prostředky s širší účinností zahrnující mykobakteria a mikroskopické vláknité houby a některé skupiny odolných virů.

Dezinfekční prostředky jsou dostatečně účinné ve velmi nízkých koncentracích. Musí se však počítat s tím, že stejný prostředek působí při expozici 32 minut bez bílkovinné zátěže např. na pseudomonády ve 4,5 až 6,4x vyšší koncentraci nežli např. na stafylokoky. Kvalitní dezinfekční prostředky musí mít vysokou bezpečnostní rezervu. Požadavek je oprávněný, protože běžný rozptyl účinnosti testovaného prostředku na typový kmen bakteriálního druhu jsou dva až tři logaritmické řády.

Ukazuje se, že mezi nejčastěji používanými prostředky jsou značné rozdíly v bezpečnostní rezervě při používání předepsaných koncentrací. Analyzovali jsme všechny vyšetřené prostředky při době expozice 32 minut a kriticky zhodnotili

používání některých z nich a doporučili je nahradit kombinovanými, z nichž některé jsou s obsahem enzymů. Potřebu jejich používání vyvolává dlouhodobé přežívání mikroorganismů v prostředí a na zdravotnických prostředcích. Bílkovinná zátěž ovlivňuje účinek nejčastěji používaných prostředků (Incidur, Sekusept pulver, Sekusept forte, Desam GK a OX, ChiroSan, Chiroseptol) tak, že za její přítomnosti je nutné použít 10x až 117x koncentrovanější roztok k usmrcení testovacích kmenů, nežli v prostředí bez biologického znečištění. Byly zjištěny i subjektivní chyby. Zdravotnická zařízení uváděla velmi často koncentrace vyšší nežli byly ve skutečnosti.

Při dezinfekci rukou a nástrojů nebude nikdo pochybovat o hlavní roli sestry při řízení a samotném výkonu dezinfekce. V ambulancích zařízeních by neměla nastat situace, kdy je dezinfekce manipulačních a podlahových ploch bez přímého dohledu nebo kontroly zdravotnického pracovníka. Zjištění vyšších koncentrací dezinfekčních roztoků může svědčit o tom, že takové situace vznikají. Dezinfekce je z našeho pohledu velmi závažným výkonem, který nesnese improvizaci. Všude tam, kde je prováděn odběr biologického materiálu a invazivní výkony, dále na záchodech a v čekárnách ambulancí je potřebný úklid na vlhko a dezinfekce prostředky s účinností odpovídající skladbě pacientů (virucidní, mykobaktericidní apod.).

Vztah mezi zdravotnickým personálem a pacientem je v ambulancích zařízeních z hlediska šíření nákaz těsný a oboustranný. Pacient může být pro zdravotníka zdrojem jeho profesionálního onemocnění, zdravotnický pracovník může být zdrojem a prostředím ambulance faktorem přímého i nepřímého přenosu aktuálních původců nákaz. Uvedené příklady šířících se infekcí i vlastní zkušenosti nás vedou k přesvědčení, že dřívější pohledy na infekční riziko v ambulancích zařízeních je třeba přehodnotit a respektovat aktuální epidemiologickou situaci.

## Novinky v laboratorní diagnostice na oddělení imunologie a alergologie ZÚO

Novák V., Kloudová A.

ZÚ se sídlem v Ostravě, Odd. imunologie a alergologie

Oddělení imunologie a alergologie ZÚ se sídlem v Ostravě, které vzniklo v rámci restrukturalizace CMPI k 1.8.2008 z bývalého odboru imunologie a alergologie, se dlouhodobě vyznačuje snahou o nabídku co nejefektivnějších a nejracionálnějších služeb v oboru alergologie a klinické imunologie. Trvale sledujeme nejmodernější trendy v této oblasti a podle svých poznatků a reálných možností přizpůsobujeme nabídku svých služeb tak, aby umožňovala moderní a zároveň racionální přístup k diagnostice a léčbě. Vycházíme jednak z průběžného sledování periodik s imunologickou problematikou, dále z prezentací na tuzemských i zahraničních odborných akcích a v neposlední řadě reagujeme přímo na podněty klinických pracovníků prakticky všech odborností.

Tento článek shrnuje novinky nabízené našim pracovištěm v laboratorní diagnostice v poslední době. Velká část níže uvedených informací se týká laboratorní diagnostiky autoimunitních onemocnění gastrointestinálního traktu (GIT), která koresponduje se zvýšeným zájmem gastroenterologů právě o tuto problematiku.

V r. 2006 jsme jako jedna z prvních laboratoří ve světě zavedli do rutinního provozu **screeningovou metodu pro diagnostiku celiakie (celiakie screen)** založenou na principu ALBIA (Addressable Laser Bead ImmunoAssay), pomocí níž jsou stanovovány současně IgA protilátky proti tkáňové transglutamináze, **deamidovaným peptidům gliadinu** a zároveň je zjišťováno, zda pacient není deficitní v tvorbě IgA. Kromě toho, že toto vyšetření je levnější, než kdyby se prováděla všechna tato stanovení běžně užívanými diagnostickými metodami a postupy, je v něm nahrazeno stanovení klasických anti-gliadinových protilátek stanovením protilátek proti deamidovaným peptidům gliadinu, které je pro celiakii daleko specifičtější a patří mezi neaktuálnější inovace v diagnostice tohoto onemocnění. Vyšetření protilátek proti gliadinu ELISA testem je na našem pracovišti také prováděno soupravami s využitím deamidovaných peptidů gliadinu.

Od r. 2007 nabízíme také stanovení protilátek proti **F-aktinu ve třídě IgA (anti-aktin IgA, ELISA)**, které ukazuje na aktuální intenzitu procesu destrukce střevní sliznice a tím i intenzitu střevního zánětu (např. u celiakie, nespecifických střevních zánětů apod.). U celiakie, při srovnání s Marshovými histologickými kritérii popisu stupně destrukce střevní sliznice využívanými u tohoto onemocnění, bývá koncentrace IgA protilátek proti F-aktinu nejvyšší u Marshových stupňů (kategorií) 2, 3a a 3b. Nespornou výhodou stanovení IgA protilátek proti F-aktinu ve srovnání např. s gastrokopií je, že se jedná o vyšetření neinvazivní. Vzhledem k malé informovanosti klinické veřejnosti a pro svou nízkou specifitu pro celiakii je zatím toto vyšetření relativně málo využíváno.

Po konzultacích s gastroenterology jsme zavedli vyšetření **calprotectinu** ve stolici. Calprotectin je tvořen především polymorfonukleárními leukocyty (PMN), ale také makrofágy a dlaždicovými epitelálními buňkami střevní mukózy. Během

zánětlivé reakce je uvolňován do prostředí v místě zánětu a nachází se ve zvýšených koncentracích i ve stolici. Je poměrně velmi stabilní, a tudíž vhodný pro diagnostiku. Stanovení calprotectinu ve stolici metodou ELISA je dobrým, neinvazivním a vhodným, i když opět ne specifickým, ukazatelem intenzity zánětu ve střevě. Jeho koncentrace u zánětlivých střevních onemocnění, především ulcerativní kolitidy a Crohnovy choroby, jsou úměrně migraci PMN do střeva, tedy aktivitě probíhajícího zánětu. Fokální zánětem jsou ale provázány i další primárně nezáánětlivé střevní choroby včetně neoplázií. Proto se calprotectin nehodí jako specifický diagnostický parametr určité choroby. Cenné informace přináší klinikum při monitorování průběhu onemocnění, například i včasnou detekci exacerbací.

Již delší dobu provádíme pro potřeby gastroenterologů vyšetření panelu autoprotilátek při podezření na autoimunitní hepatitidu (**AIH**) založeného na metodě nepřímé imunofluorescence (IIF) na kombinaci tkáňových substrátů, které dovoluje poměrně spolehlivě detekovat nejběžnější protilátky vyskytující se u autoimunitních hepatopatií (ANA, AMA, SMA, LKM). Protilátky proti **F-aktinu ve třídě IgG (anti-aktin IgG, ELISA)**, jsou nabízeny jako doplňující vyšetření v diagnostice autoimunitních hepatopatií, protože jsou nejčastější a nejvýznamnější součástí protilátek proti hladkým svalům (SMA). Nemusí však být prokázány u všech SMA pozitivit. Tyto protilátky jsou asociované především s autoimunitní hepatitidou 1. typu, ale vyskytuje se také u primární biliární cirhózy (PBC).

Stále častěji je klinicky požadováno další screeningové vyšetření označené pracovně jako **liver-dot** založené na metodě imunoblotingu, které dovoluje dále specifikovat ty protilátky které jsou metodou IIF jen obtížně diagnostikovatelné, resp. klasifikovatelné (např. anti-SLA/LP, anti-LC1, anti-LKM1 apod.). Spektrum liver-dot testu zahrnuje tyto autoprotilátky: AMA anti-M2 (74 kDa), AMA anti-BPO (komplex 3E: komplexu pyruvát-dehydrogenázy E<sub>2</sub> (PDC-E<sub>2</sub>), komplexu dehydrogenázy 2-oxo-kyselin s rozvětveným řetězcem (BCOADC-E<sub>2</sub>) a komplexu dehydrogenázy 2-oxo-glutarátu (OGDC-E<sub>2</sub>)), anti-LKM1, anti-SLA/LP, anti-LC1 a antinukleární protilátky anti-gp210, anti-SP100, anti-PML a anti-Ro52 asociované s PBC).

Velmi významné jsou v diagnostice autoimunitních hepatopatií také protilátky proti laminům jader myeloidních buněk, které jsou diagnostikovány pomocí metody IIF na etanolem-fixovaných granulocytech jako tzv. atypické-ANCA (**A-ANCA**) nebo ANA specifické pro granulocyty (**GS-ANA**). Tyto protilátky vytvářejí na etanolem fixovaných granulocytech obraz velmi podobný P-ANCA, za který bývají mylně některými laboratořemi označovány. Tyto protilátky se vyskytují velmi často nejen u autoimunitních hepatopatií (viz tab.), ale také např. u zánětlivých střevních onemocnění (IBD), kde jsou využívány v diferenciální diagnostice Crohnovy choroby a ulcerativní kolitidy. Prokazovat je lze jen metodou IIF. Komerčně dostupnými ELISA nebo imunoblotingovými (IB) metodami zatím nejsou diagnostikovatelné.

## Prevalence autoprotilátek u autoimunitních onemocnění jater v %

		AIH	PSC	PBC	Overlap AIH/PSC	Overlap AIH/PBC
<b>atyp. pANACA (IIF)</b>		81	94	31	100	73
<b>ANA (IIF)</b>	Sp100 (blot) PML (blot) Gp210 (blot)	61	43	53	78	64
		0		21		50
		0		13		50
		0		26		50
<b>SMA (IIF)</b>		48	40	9	44	18
<b>anti-LKM (IIF)</b>		5	0	0	0	0
<b>AMA (IIF)</b>		4	0	62	0	27
<b>anti-M2 (ELISA)</b>		14	0	69/81	0	36
						100
<b>anti-SLA/LP (ELISA)</b>		17	0	0	11	0
<b>žádné</b>		4				

podle Terjung B. et al: Eur L Med Res 2004, 9: 439-448

Mayer W. et al: In Autoantibodies, Autoimmunity, Vol 5, 2007

V naší nabídce vyšetření pro revmatology měla dlouholetou tradici detekce a kvantifikace protilátek proti tzv. deoxyribonukleoproteinu (anti-DNP). Námí dosud používaný antigen, DNP, je možno charakterizovat jako chromatin, který si zachoval mnoho struktur typických i pro nukleosomy. Metodiku jsme vyvinuli ve spolupráci s Národním ústavem revmatických chorob (NURCh) v Piešťanech a mnohokrát jsme doložili a prokázali vhodnost tohoto vyšetření pro diagnostiku a monitorování systémového lupus erythematoses (SLE). Z technických důvodů (ukončení výroby DNP v NURCh Piešťany) jsme museli provádění tohoto testu ukončit a nahradit ho stanovováním protilátek proti nukleosomům, které je dnes považováno za neoptimálnější vyšetření pro screening SLE. Nukleosom je základní nativní jednotkou chromatinu a sestává z dvoušroubovice DNA, na které jsou navázány histony. ELISA test, který jsme zvolili pro stanovování **anti-nukleosomových protilátek (a-nukleosomy)** udává pro SLE takřka 100% sensitivitu a 58% specifitu a je v současné době považován za nejlepší komerčně dostupný test.

Na pomezí revmatologie a neurologie stojí skupina nervosvalových onemocnění označovaných jako idiopatické zánětlivé myopatie (IZM). Jedná se o poměrně vzácná získaná onemocnění, která jsou charakterizována svalovou slabostí a přítomností zánětlivého infiltrátu ve svalové tkáni. K usnadnění poměrně obtížné diagnostiky této skupiny chorob jsme zařadili tzv. **myositis screen**. Tato multiplexová analýza založená na imunoblotovací technice zahrnuje jednak vyšetření autoprotilátek společných pro širší skupinu systémových onemocnění pojiva často provázených myositidou (antinukleární protilátky - anti-Ro, anti-nRNP, anti-PM-Scl, anti-Ku) a dále autoprotilátky pro myositidy specifické (autoprotilátky proti tRNA syntetázám - Jo-1, PL-7, PL-12 a anti-Mi-2, anti-SRP). Interpretace výsledku vyšetření je poměrně složitá. Na oddělení imunologie a alergologie ZÚO jsou prakticky trvale přítomni kliničtí nebo dostatečně erudovaní laboratorní pracovníci schopní s interpretací výsledků těchto vyšetření poradit.

Jen málo imunologických laboratorních testů je možno řadit mezi typická statimová vyšetření. Mezi autoprotilátkami jsou to bez diskuse protilátky proti cytoplazmatickým antigenům neutrofilů (**ANCA**) a protilátky proti bazální membráně glomerulů (**anti-GBM**).

Standardní metodou pro vyšetřování ANCA protilátek je metoda nepřímé imunofluorescence na lidských granulocytech, která dovoluje rozlišovat dva typy ANCA pozitivitu: C-ANCA (cytoplazmatická pozitivita) a P-ANCA (perinukleární pozitivita). Cílovým antigenem C-ANCA je především proteináza 3 (PR3) a výskyt těchto protilátek je asociován především s tzv. Wegenerovou granulomatózou. Terčem P-ANCA je především myeloperoxidáza (MPO) a záchyt těchto autoprotilátek je charakteristický u řady vaskulitid (Churg-Straussův syndrom, polyarthritis nodosa) a glomerulonefritid (rychle progredující glomerulonefritis). Takto prezentované vyšetření ANCA protilátek je velmi zjednodušené a zcela neodpovídá realitě. Cílových struktur, které indukují tvorbu protilátek manifestujících se nakonec v imunofluorescenčním obraze jako ANCA protilátky, je celá řada. Žádná z nich nemá ale pro klinického pracovníka tak zásadní význam jako právě protilátka proti PR3 a MPO.

Anti-GBM se vyskytují u tzv. „anti-GBM glomerulonefritid“ včetně Goodpasturova syndromu. Jsou-li zároveň postiženy plíce, bývají detekovány až u 80-90% pacientů, bez postižení plic asi u 60% pacientů s tímto onemocněním.

Cílovým antigenem je NC1 doména -3 řetězců kole genu IV. Od letošního roku nabízíme klinickým pracovníkům tzv. **MPG blot**, který dovoluje současné statimové vyšetření všech těchto tří protilátek (anti-PR3, anti-MPO a anti-GBM). Výsledek je znám do 2 hod. po obdržení krve do laboratoře a umožňuje včasné zahájení odpovídající léčby.

Infekční sérologie může přinášet několik odlišných druhů informací. Jednak se jedná o příspěvek k diagnostice aktuálního onemocnění, současně ale i o důkaz o dostatečně nebo naopak defektní tvorbě postvakcinačních protilátek u pacientů s podezřením na možné stavy imunodeficiency nebo i poruchou tvorby protilátek po prodělané infekci. V souladu s doporučením ČSAKI jsme zařadili v letošním roce opět do nabízeného spektra laboratorních testů stanovování IgG protilátek proti mikroorganismům *Streptococcus pneumoniae* (**a-PCP IgG**) a *Haemophilus influenzae* typ B (**a-Hib IgG**). V obou případech se jedná o protilátky proti kapsulárním polysacharidovým antigenům a k interpretaci postvakcinačních nálezů je nezbytné znát přesné termíny provedených vakcinací. Zájem o tato vyšetření by měli mít v první řadě pediatři, dále potom všichni kliničtí pracovníci zaměřeni na problematiku imunodeficiency.

Lehké řetězce kappa a lambda jsou normální součástí imunoglobulinů. Za různých patologických stavů, zejména spojených s abnormální a monoklonální tvorbou imunoglobulinů je možno detekovat volné lehké řetězce BJK a BJL ve zvýšeném množství jak v séru, tak i v moči. Kvantitativní stanovení volných lehkých řetězců imunoglobulinů se uplatňuje při průkazu a monitorování průběhu a terapie monoklonálních gamapatií (např. myelomu, amyloidózy, monoklonální gamapatie s nejistou prognózou -MGUS, nemoci z lehkých řetězců ale i dalších). Při hodnocení bereme v úvahu jak kvantitu, tak i poměr hodnot kappa/lambda (**K/L free**). Zájem o toto vyšetření by měli projevovat zejména hematologové.

V dermatologii představuje častý problém vlastní a diferenciální diagnostika puchýřnatých kožních onemocnění, především odlišení život ohrožujícího pemphigu od relativně benignějšího pemphigoidu. Klinické projevy obou těchto jednotek mohou být v úvodních fázích téměř totožné. Pomocí v tomto případě může stanovení protilátek proti desmogleinu - **anti-dsg1**, **anti-dsg3**. V případě pemphigu má většina pacientů v krvi cirkulující protilátky proti desmosomovým antigenům, mezi které anti-dsg1 a anti-dsg3 patří, které mají přímo patogenetický význam a jejich titry navíc korelují s aktivitou choroby. Zastoupení jednotlivých anti-desmogleinových protilátek umožňuje dokonce v některých případech rozlišovat mezi jednotlivými podtypy této obávané choroby. V léčbě pemphigu zaujímá důležité místo plazmaferéza, která snižuje hladiny protilátek proti desmogleinu a jejich laboratorní detekce a kvantifikace tedy umožňuje monitorování efektivity léčby.

Výčet uvedených novinek zavedených v laboratorní diagnostice na našem pracovišti není úplný. V mnohých případech došlo k relativně méně nápadným změnám vyšetřovacích metod směřujícím k dosažení co největší spolehlivosti, citlivosti a reprodukovatelnosti prováděných vyšetření. Bližší informace o spektru u nás prováděných vyšetření, použitých metodikách i normálních hodnotách může zájemce získat na webových stránkách ([www.zuova.cz](http://www.zuova.cz)). Aktualizace laboratorní diagnostiky na našem pracovišti je proces dynamický a i v této chvíli připravujeme další změny, které ještě více zatraktivní služby našeho pracoviště pro cílovou skupinu klinických pracovníků nejrůznějších odborností a zaměření.

## Upozornění pro lékaře:

### *Bordetella pertussis* – vzrůstající incidence černého kašle (pertuse)

Lysková P.,<sup>2</sup> Jančová J.,<sup>1</sup>

ZÚ se sídlem v Ostravě,<sup>1</sup> Odd. bakteriologie Ostrava,<sup>2</sup> Odd. bakteriologie Havířov

Původcem černého kašle je *Bordetella pertussis*. Od zavedení očkování v roce 1958 výskyt onemocnění postupně klesal. Avšak v posledních letech, navzdory očkování, je opět sledován vzestup. Převážná většina prokázaných případů byla zaznamenána u dětí a adolescentů v rozmezí 0-19 let. Celosvětově se pak případy nemocných pertusí posouvají do vyšších věkových skupin 10-19letých bez ohledu na druh použité vakcíny (celulární, acelulární). Uvažuje se o několika možných příčinách zvýšeného výskytu onemocnění. Vzhledem k tomu, že z možných příčin, mimo jiné, připadá v úvahu změna cirkulujícího genotypu *B. pertussis* nebo tzv. vyvanutí vakcínou zprostředkované imunity, je nutné klinicky suspektní případy laboratorně ověřovat (kultivace, serologie, PCR). Velmi cenné jsou kultivačně potvrzené případy. U získaných izolátů je možné dále ověřovat citlivost k erytromycinu respektive sledovat výskyt rezistence. Dále budou izolované kmeny našimi laboratoři zaslány do NRL pro pertusi k dalšímu studiu, zejména pro vytvoření účinné očkovací látky. Kultivace bordetel je poměrně obtížná, nasofaryngeální a/nebo laryngeální výtěr je třeba provést co nejdříve (v časných stadiích nemoci). Dále je nutný rychlý transport do laboratoře, protože se jedná o mikroorganismy velmi citlivé k vnějším vlivům (nejlépe, pokud je to možné, informovat laboratoř den předem).

Klinické příznaky nemusejí být typické, zvláště u dospělých očkovaných osob. Avšak právě tyto lidé se mohou stát dalším zdrojem nákazy pro malé děti či kojence ať už očkované nebo neočkované, u kterých je klinický průběh nejzávažnější a může končit smrtí dítěte!

**Chtěli bychom tímto upozornit na možnost výskytu pertuse, na včasnou diagnostiku a s tím související včasný odběr vzorků pro laboratorní potvrzení diagnózy.**

Při odběru materiálu pro **kultivační vyšetření** je třeba provést výtěr z laryngu nebo nasofaryngu sterilním vatovým tampónem na drátu. Tento je nutné co nejdříve doručit do laboratoře. **V průvodním listu musí být uvedeno, že se jedná o speciální vyšetření na původce pertuse (*Bordetella pertussis*/*B. parapertussis*), neboť pro záchyt bordetel je nutné použití speciálních kultivačních médií!!!** Nejlépe informovat laboratoř den předem a odběr provést ráno nalačno. Běžná standardní kultivace na krevním agaru původce černého kašle neodhalí, v těchto případech je vzorek zcela znehodnocen!

Úzká spolupráce lékařů a mikrobiologů je velmi důležitá pro získávání terénních kmenů, u kterých může být ověřena citlivost k makrolidovým antibiotikům, a dále mohou být zaslány k dalšímu studiu do NRL pro pertusi.

**Pro imunologické vyšetření** je třeba odebrání párových sér v intervalu 2-3 týdnů.

**Pro průkaz bakteriální DNA** je třeba laryngeální a/nebo nazofaryngeální stěr speciálním suchým tampónem bez aditiv a bez transportního média.

*Více informací Vám ochotně poskytneme.*

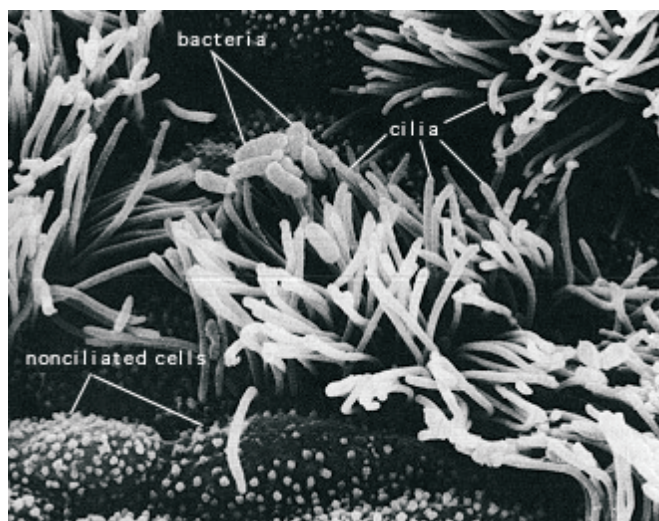


Foto: zdroj internet

#### Literatura:

Fabiánová K. et al. (2007): Epidemiologická situace ve výskytu pertuse a parapertuse v období 1996-2005 na území ČR a Jihomoravského kraje. Zprávy CEM (SZÚ Praha), 16 (2), 83-91.

Fabiánová K. et al. (2007): Příčina úmrtí: Pertuse!?. Zprávy CEM (SZÚ Praha), 16 (8), 359-362.

Maixnerová M. et Křížová P. (2007): Posílení činnosti NRL pro pertusi a parapertusi. Zprávy CEM (SZÚ Praha), 16 (2), 82-83.

Postels-Multani S. et al. (1995): Symptoms and complications of pertussis in adults. Infection, 23 (3), 139-142

## Průkaz antigenu *Streptococcus pneumoniae* v moči

Metoda zavedená nově také na  
na bakteriologickém odd. Havířov:

- vyšetření se provádí v případech podezření na pneumokokovou pneumonii
- výsledek vyšetření je znám v den dodání vzorku do laboratoře
- moč se odebírá podle stejných zásad jako na běžné bakteriologické kultivační vyšetření

### **kontakt:**

Odd. bakteriologie a mykologie Ostrava, ved. odd. RNDr. Vladislav Holec

více informací na tel. 596 200 111

Odd. bakteriologie Havířov, ved. odd. RNDr. Jana Fránková

více informací na tel. 596 491 684

## Na virologickém oddělení byly nově zavedeny metody průkazu protilátek nepřímou imunofluorescencí ve třídě IgG a IgM proti arbovirům:

a-chikungunya v.  
a-Sandfly fever vv. (typy Sicilian, Naples, Toscana, Cyprus)  
a-West Nile v.

Jde o viry primárně tropických a subtropických oblastí, způsobující horečnatá onemocnění podobné dengue. Horečka pappataci (Sandfly fever) se vyskytuje běžně v jižní Evropě. Chikungunya se nově prokázala v Itálii. Virus West Nile byl prokázán na jižní Moravě u komárů.

### **kontakt:**

Odd. virologie Ostrava, vedoucí odd. MUDr. Jiří Januška

více informací na tel. 596 200 342

## Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, pracoviště Karviná, Oddělení parazitologie a imunologie, tel. 596 318 499, 596 491 244

### **Novinky:**

Nově rutinně provádíme diagnostiku protilátek proti **Bartonella henselae** (a souběžně proti **B. quintana**) v lidském séru metodou nepřímé imunofluorescenční analýzy.

Typické onemocnění, nemoc z kočičího škrábnutí, bývá obvykle příčinou lymfadenopatií u dětí a dospívajících. Atypický průběh onemocnění (u 25 % nemocných) bývá spojen s postižením očí, horečkou, neurologickými komplikacemi, poškozením jater či sleziny.

K analýze zasílejte srážlivou krev.

Výsledky vyšetření přítomnosti IgG a IgM protilátek uvádíme v titrech.

**Nově** v rámci diagnostiky toxoplasmózy nabízíme vyšetření komparativním imunoblotem.

Metoda je vhodná zejména pro potvrzení (vyloučení) **kongenitální toxoplasmózy** či pro průkaz **lokální tvorby** protilátek u oční formy či toxoplasmové encefalitidy.

Pro diagnostiku kongenitální toxoplasmózy zasílejte k analýze pupečnickovou krev a krev matky, nebo pupečnickovou krev a krev novorozence do věku 10 dnů.

Pro potvrzení lokální tvorby protilátek pak likvor či oční tekutinu vždy se srážlivou krví.

### **Interpretace výsledků:**

Protilátky tvořené novorozencem nebo protilátky detekované v oční tekutině a likvoru mají odlišný charakter nežli mateřské protilátky či protilátky v séru. Odečítáme přítomnost (rozdíllost) specifických elektroforeticky rozdělených antigenů v třídě IgG a IgM.

## ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V OSTRAVĚ

Partyzánské nám. 7, 702 00 Ostrava, tel.: +420 596 200 111, e-mail: podatelna@zuova.cz, www.zuova.cz

Centrum mikrobiologie, parazitologie a imunologie

Redakční rada zpravodaje: Mgr. Hana Bílková Fránková, RNDr. Pavlína Lysková, MVDr. Romana Mašková, Mgr. Pavla Szewieczková

Tisk - **KARLIS+CO**, Náklad - 1.500ks



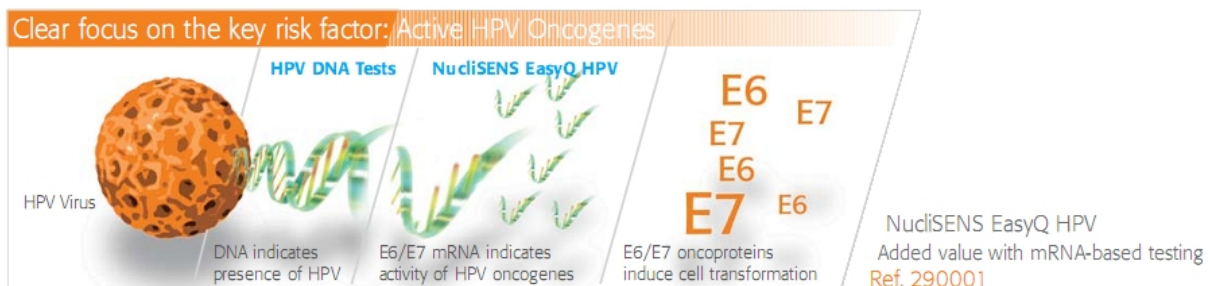
## Stanovení mRNA HPV ve stěru z cervixu k průkazu exprese onkogenů E6 a E7



Infekce lidskými papilomaviry (HPV) patří mezi nejběžnější lidské infekce, přibližně 80% populace se během svého života setká s infekcí některým typem HPV. HPV se řadí mezi onkogenní DNA viry, podle onkogenního potenciálu se dělí na nízko- (low risk, LR) a vysoce- (high risk, HR) rizikové typy. Typy HR-HPV infikující genitální trakt se zásadním způsobem uplatňují v patogenezi nádorových onemocnění genitálního traktu, zejména cervikálního karcinomu u žen.

Z toho důvodu má své nezastupitelné místo v prevenci karcinomu děložního čípku screeningové vyšetření žen na přítomnost DNA HPV ve stěru z cervixu. Ve většině pozitivních případů se však jedná pouze o přechodnou infekci některým typem HPV, která z hlediska onkogeneze nepředstavuje zvýšené riziko. Zejména se to týká mladších žen, které bývají často i opakovaně infikovány, avšak přibližně v 80% se u nich jedná o přechodnou infekci, která se spontánně vyhojí.

Pro odlišení závažnějších forem infekce se zvýšeným rizikem rozvoje zhoubného procesu slouží nově zaváděná metoda na principu NASBA pro průkaz mRNA vysoce rizikových typů HPV, která v reálném čase detekuje přímo expresi onkogenů E6 a E7. Slouží tedy k průkazu aktivity onkogenního procesu, který ještě nemusí být patrný ani v histologickém preparátu. Také u pacientek během léčby a po léčbě cervikálních lézí je monitorování virové mRNA vhodnější než prosté sledování přítomnosti DNA. Metoda umožňuje rozlišení 5 nejvýznamnějších HR HPV typů (16, 18, 31, 33 a 45).



Virologické oddělení ZÚ se sídlem Ostrava plánuje zavedení této metody do konce roku 2008. Výtěr z endocervixu pro vyšetření mRNA HPV se provádí pomocí speciální odběrové soupravy, kterou zašle na vyžádání oddělení virologie ZÚ společně s návodem k použití.

Vyšetření bude kalkulováno pod kódem výkonu 82043, dle sazebníku je ohodnoceno 2370 body.

Bližší informace podají:

MUDr. Jiří Januška, vedoucí odd. virologie, email: jiri.januska@zuova.cz, tel.: +420 596 200 310  
MUDr. Hana Zelená, odd. virologie, email: hana.zelena@zuova.cz, tel.: +420 596 200 334  
Mgr. Markéta Homolová, odd. virologie, email: marketa.homolova@zuova.cz, tel.: +420 596 200 422