

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

NÁRODNÍ STANDARDNÍ VYŠETŘOVACÍ POSTUP

NSVP_3

-

ZÁKLADNÍ MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ KOMPLEXNÍHO VZORKU STOLICE A VÝTĚRU Z REKTA METODOU MIKROSKOPICKOU A KULTIVAČNÍ

Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 1/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

Vypracoval	Kontroloval	Schválil
MUDr. Josef Scharfen, CSc.		

Revize

Číslo revize	Datum revize	Odpovědná osoba	Podpis
1			
2			
3			
4			
5			

Schvalovací proces

Číslo revize	Datum revize	Postup	Odpovědná osoba	Připomínky
1	1.4..2014	Seminář SLM	Nyč,O,Petráš,P,Vaniš,V, Scharfen, J	scharfen@seznam .cz
2		Web SLM ČLS JEP	Scharfen, J.	
3	30.7.2014	Platné od		
4				
5				

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

Obsah

Úvod

Technické informace /omezení

1 Bezpečnost práce

- 1.1 Odběr vzorku
- 1.2 Doprava a skladování vzorku
- 1.3 Zpracování vzorku

2 Odběr vzorku

- 2.1 Optimální doba odběru
- 2.2 Správný typ vzorku a metoda odběru
- 2.3 Vhodný objem a počet vzorků

3 Doprava a skladování vzorku

- 3.1 Časový interval mezi odběrem a zpracováním vzorku
- 3.2 Zvláštní požadavky k zamezení znehodnocení vzorku

4 Zpracování vzorku

- 4.1 Výběr testů
- 4.2 Makroskopický vzhled vzorku
- 4.3 Mikroskopie
- 4.4 Kultivace a odečítání
- 4.5 Identifikace
- 4.6 Vyšetření citlivosti na antibiotika

5 Vydávání výsledku

- 5.1 Vzhled
- 5.2 Mikroskopie
- 5.3 Kultivace
- 5.4 Vyšetření citlivosti na antibiotika

6 Hlášení místním a národním orgánům veřejného zdraví

7 Materiálně technické zabezpečení

8. Systém kontroly jakosti

9. Validace a verifikace

10. Literatura

11. Definice, terminologie a zkratky

12. Rozdělovník

Typ materiálu:

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 3/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

stolice

výtěr z rekta

Cíl dokumentu

Dokument popisuje kultivační záchyt bakterií vyvolávajících střevní infekce a metody jejich identifikace. U všech polotuhých nebo tekutých průjmových stolic se provádí rutinní screening na rody *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* a *Escherichia coli* O157. U hospitalizovaných pacientů je však třeba zvážit tzv. třídenní pravidlo pro odběr vzorků stolice (viz. „Odběr vzorků stolice“ strana 3). SOP obsahuje informaci o virech vyvolávajících střevní onemocnění.

Text o mikroskopii obsahuje standardní metody pro přípravu preparátů při diagnostice parazitů koncentrační metodou a nátěry na *Cryptosporidium*.

Úvod

Průjem

Průjem může být definován jako zvýšená frekvence střevní činnosti s pasáží tekuté, neformované stolice. Pacienti mohou mít příznaky jako bolesti břicha, nauzea, slabost, zvracení, teplota a následná dehydratace. Uplavice (dyzentérie) u pacientů je spojena se zánětem střeva, který se projevuje viditelnou přítomností krve a hlenu ve stolici a symptomy jako jsou bolesti břicha a celková nevolnost. Průjem může být vyvolán širokým spektrem bakteriálních patogenů, jedů a parazitů na základě mnoha různých mechanismů. Např. průjmové onemocnění může být důsledkem pomnožení (infekce) bakterií ve střevě (*Salmonella* species nebo *Shigella* species) nebo z požití preformovaných toxinů produkovaných baktériemi v potravíně před jejím pozřením, např. skombrotoxin. Průjem může být způsoben také požitím potravin obsahujících dráždivé chemikálie, např. těžké kovy.

Epidemie (outbreaky)

se mohou vyskytnout jako výsledek šíření infekce z osoby na osobu, požitím infikované potravin a vody a z přímého kontaktu se zvířaty. Alimentární epidemie se definují jako dva nebo více případů podobného onemocnění vznikajících po požití běžných potravin. Každoročně ve světě dochází ke třem miliónům úmrtí na alimentární infekce. Epidemie vznikající po požití vody se definují jako dva nebo více případů podobného onemocnění na základě pití vody ze zdroje pitné vody nebo z kontaktu s vodou používanou pro rekreační účely. Průjmová onemocněním při přenosu infekce vodou jsou příčinou 2 miliónů případů dětských úmrtí ročně. Organismy, které u imunokompetentních osob vyvolávají pouze málo závažné nebo asymptomatické onemocnění, mohou u vysoce vnímavých imunosuprimovaných nebo imunokompromitovaných pacientů vyvolat závažné onemocnění. Odolnost hostitele ovlivňují faktory jako **věk** (staří a velmi mladí jsou citlivější), **přítomnost chronických nebo oslabujících onemocnění** (AIDS) a **použití farmakologických přípravků** (terapie antacidy), **alkohol nebo drogy**. **Malnutrice** vážně postihuje systém obrany hostitele. Vzrůstající citlivosti hostitelů ukazuje incidence salmonelózy u pacientů s AIDS, kde je incidence 100-200krát vyšší než v běžné populaci. Pacienti s HIV / AIDS jsou predisponováni ke vzniku opakovaných infekcí a k chronickému nosičství salmonel. U **imunosuprimovaných nebo imunokompromitovaných osob** jsou běžnou příčinou průjmů střevní paraziti. Infekce viry, které běžně vyvolávají gastroenteritidy mohou mít u imunokompromitovaných pacientů protrahovaný průběh. To může mít důležité důsledky pro kontrolu infekcí. U některých skupin pacientů je třeba uvažovat o možnosti herpesvirových onemocnění. Cytomegalovirová kolitida může být příčinou průjmů

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 4/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

u některých transplantovaných pacientů a cytomegaloviry mohou způsobovat exacerbace symptomů chronického zánětlivého onemocnění střeva jako je Crohnova nemoc a ulcerující kolitida.

Ze stolice imunokompromitovaných pacientů bylo izolováno *Mycobacterium tuberculosis* a *Mycobacterium avium-intracellulare* (MAI). Izolační postupy jsou nespolehlivé, mají nízký pozitivní záchyt a nejsou doporučovány v národních standardních metodách. Oba tyto organismy mohou být izolovány z hemokultur u diseminovaných infekcí. Kultivace pro MAI by se měly hlásit referenčním laboratorům.

Odběr vzorku stolice

Někteří klinici radí použít **3 denní pravidlo**. Toto pravidlo se odvozuje od nízkého počtu střevních patogenů izolovaných od pacientů, kteří byli hospitalizováni déle než 3 dny. **Ukazuje, že vzorky stolice od těchto pacientů by neměly být kultivovány, pokud nesplňují následující okolnosti:**

1. pacienti trpící průjmem **během tří dnů po příjmu**
2. pacienti s nozokomiálním průjmem pouze při splnění jednoho z následujících faktorů:
 - věk 65 nebo více s komorbiditami způsobujícími trvalou změnu orgánových funkcí
 - pacienti, kteří jsou HIV pozitivní
 - pacienti s neutropenií
 - podezření na nozokomiální outbreak
3. pacienti, u kterých je podezření na neprůjmové manifestace střevních infekcí

Dodržování 3 denního pravidla vychází z klinické informace k příslušnému vzorku. Pravidlo může být nespolehlivé při neúplném vyplnění žádanky, což může být příčinou pozdního rozpoznání outbreaků nemocničních infekcí. Klinici a pracovníci laboratoře by měli konzultovat místní uplatňování 3 denního pravidla při kultivaci střevních vzorků na svých odděleních a jejich použití by se mělo zvažovat pečlivě ve světle současných změn v prevalenci a závažnosti průjmů způsobených *Clostridium difficile*. **Testování toxinu *Clostridia difficile* je požadováno pro pacienty v nemocnici vždy, když je podezření na infekční průjem.**

Bakterie běžně vyvolávající gastrointestinální infekce

Campylobacter

Druh *Campylobacter* sp. byl poprvé rozpoznán jako příčina potratů u koní a ovcí a příčina průjmů u hovězího dobytka a prasat. První izoláty ze stolice od lidí byly izolovány v časných sedmdesátých letech. *Campylobacter* species je nyní znám jako hlavní příčina enteritidy v rozvinutém světě a jako nejčastější identifikovatelná bakteriální příčina průjmů v ČR. *Campylobacter* enteritida má velké sezónní vrcholy, které se vyskytují v květnu a září. *Campylobacter jejuni* odpovídá asi 90% oznámených infekcí a zbytek je způsoben *Campylobacter coli* a *Campylobacter lari*. Z průjmových onemocnění byly izolovány také jiné druhy rodu *Campylobacter*. Druhý nejčastěji izolované z onemocnění u člověka jsou termofilní, tzn. že rostou při 42° C – 43° C a při 37° C, ale ne při 25° C. *Campylobacter jejuni*, subspecies *doylei* a *Campylobacter fetus* nerostou při 42°C.

U lidských hostitelů je průjem obvykle krátký a bez následků. Původní symptomy mohou být vážné s horečkou a bolestí břicha napodobující apendicitidu. Stolica obvykle obsahuje hlen s krví a leukocyty. Vzácně může být infekce vyvolaná *Campylobacter* species invazivní

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 5/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

od přechodné bakteriémie s úzdravou po fulminantní gramnegativní sepsi. Příležitostně může mít infekce následky v podobě reaktivní artritidy, bursitidy, endokarditidy a novorozenecké sepse. Může dojít k akutní postinfekční demyelinizaci, postihující periferní nervový systém (syndrom Guillain - Barré) nebo centrální nervový systém s hlavovými nervy (Miller-Fischerův syndrom) – areflexie, ataxie a paréza kraniálních nervů = polyneuritis cranialis. Toto onemocnění způsobují specifické sérotypy kampylobakterů. Klinické projevy těchto případů s postižením mozkového kmene a kraniálních nervů musí být rozpoznány od podobných příznaků vzniklých při botulismu. V případě botulismu jsou zachovány hluboké šlachové reflexy, u postinfekčního demyelinizačního onemocnění se ale brzy ztrácejí. U demyelinizačního onemocnění je pomalý převod v nervech a v likvoru běžně dochází k vzestupu koncentrace proteinů, obvykle bez jakékoliv doprovodné pleocytózy.

Obě skupiny poruch mohou vyústit v respirační selhání, které vyžaduje mechanickou ventilaci.

Dalšími druhy rodu *Campylobacter* jsou např. *Campylobacter upsaliensis* a *Campylobacter hyointestinalis*. *Campylobacter fetus* je oportunistický patogen, který může být izolován z krve a ostatních krevních tekutin u imunodeficientních pacientů a je odpovědný za 8 – 10 % případů kampylobakterové bakteriémie. V pozitivních hemokulturách se obvykle neprokazuje smíšená infekce, a proto by se k vyčkování měly používat spíše krevní agary než selektivní kampylobakterové plotny. *Campylobacter fetus* a *Campylobacter fetus* subspecies *veneralis* nemusí vyrůst při 42° C. Ostatní druhy jako jsou *Campylobacter concisus*, *Campylobacter rectus* a *Campylobacter curvus* pocházejí ze zubních abscesů a byly izolovány z kořenových kanálků zubů, z krve nebo z jiných lokalizací.

Campylobacter upsaliensis se vyskytuje u psů, *Campylobacter hyointestinalis* a *Campylobacter coli* se vyskytují u prasat.

Helicobacter a Arcobacter species

Různé druhy rodu *Helicobacter* byly popsány jako etiologická agens u lidských gastrointestinálních onemocnění, jako *Helicobacter fennelliae* (dříve *Campylobacter fennelliae*) a *Helicobacter cinaedi* (dříve *Campylobacter cinaedi*). Několik species dříve klasifikovaných v rodu *Campylobacter* se nyní zařazuje do rodu *Arcobacter* např. *Arcobacter butzleri*, který byl také popsán jako příčina lidské gastroenteritidy.

H. cinaedi se vyskytuje u křečků a *Arcobacter* species u různých zvířat včetně hovězího dobytka a prasat. *H. fennelliae* a *H. cinaedi* se poprvé objevily jako příčina onemocnění u mužů, kteří měli sex s jinými muži. Relevantní anamnéza může vést další vyšetřování u individuálních pacientů.

Salmonella

Netyfové salmonely (*Salmonella* species jiné než je *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A,B,C) a *Salmonella* Dublin jsou ubikviterní ve zvířecí populaci. Lidská infekce vzniká požitím potravin zvířecího původu a pitím vody kontaminované zvířaty nebo přenosem z člověka na člověka. Přenos z člověka na člověka u netyfových salmonel se vyskytuje při špatné hygienické úrovni, např. ve zdravotnických zařízeních s mentálně postiženými a na školách. Ve výskytu infekcí je významná sezónní variabilita s vrcholem incidence během léta a podzimu. Infekce *Salmonella* species může souviset s cestováním do ciziny a s dováženými potravinami. Většina salmonel je izolována z průjmů a ze zvratků, ale salmonely mohou být izolovány i z jiných vzorků jako je krev a moč. Nejčastější onemocnění způsobené salmonelami je gastroenteritida. Infekce se projevuje symptomy v podobě bolestí břicha, průjmů, zvracení a nauzey. Často jsou doprovázené horečkou.

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 6/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

Jinými klinickými projevy salmonelózy, jsou bakteriémie a fokální metastatické hematogenní infekce. U malého počtu pacientů může vzniknout onemocnění připomínající tyfus (střevní horečku). Malé počty *Salmonella* species mohou být přítomny ve stolici zdravých asymptomatických nosičů. Vznik závažnějších infekcí salmonelami mohou podporovat některé komorbidity jako malnutrice, imunosuprese, srpkovitá anémie, achlorhydrie a zánět tlustého střeva.

Střevní horečka (tyfus)

Pravidelnými vyvolavateli invazivní infekce v podobě enterální (tyfoidní) horečky jsou *Salmonella* Typhi a *Salmonella* Paratyphi (skupina A, B a C). Většina sérotypů salmonel se přenáší ze zvířete na člověka, ale *Salmonella* Typhi a *Salmonella* Paratyphi se obvykle přenášejí potravinami nebo vodou kontaminovanými fekáliemi. Lidé, kteří se vyléčí ze střevní horečky, mohou být po dlouhou dobu nosiči salmonel. Návratné infekce netyfovými salmonelami mohou být pozorovány u pacientů s HIV/AIDS.

Při známé infekci nebo podezření na *Salmonella* Typhi a *Salmonella* Paratyphi A, B nebo C se práce s materiálem a kultivace musí provádět v biohazardním boxu.

Střevní horečka je multisystémové onemocnění charakterizované:

- protražovanou teplotou
- hypertrofií a aktivací retikuloendoteliálního systému, zvláště střevních a mezenterických lymfatických tkání a jater a sleziny
- dalším rysem je trvalá infekce krevního řečiště bez kolonizace endotelií nebo endokardu
- metastatická infekce a imunologické komplikace v podobě imunokomplexových depozit vedoucí k multiorgánové dysfunkci
- růžová vyrážka (slabě viditelná roseola typhi)
- sdružení se zácpou, zřídka je vidět průjem většinou pozdě v průběhu onemocnění
- reaktivní artritida
- nízké počty leukocytů (neutropenie)

Etiologické agens střevní horečky nemusí být přítomno ve stolici. Pro laboratorní vyšetření střevní horečky není vhodná kultivace ze stolice. Měly by být odebrány hemokultury a střevní horečka musí být potvrzena izolací *Salmonella* Typhi nebo *S. Paratyphi* z krve (viz. [6](#)), ve žluči (viz. [1](#)), v kostní dřeni (viz. [1](#)) nebo v moči (viz. [7](#)). Chronické nosičství se vyskytuje u pacientů, kteří se uzdravili z akutního onemocnění (buď z gastroenteritidy nebo střevní horečky), ale stále vylučují salmonely. *Salmonella* species může být přítomná ve stolici nebo moči pacientů po dobu 1 roku nebo i déle. Hlavní místo, kde organismus dlouhodobě přežívá, je žlučový trakt. Obstrukce žlučovými kameny nebo jizvení žlučových cest může znesnadňovat eradikaci bakterií. Podobně může být nosičství salmonel v močovém traktu souviset s urolitiázou a s poškozením vyvolaným močovou schistosomiázou.

Shigella

Infekce shigelami může vyvolávat řadu příznaků. Nejmírnější průběh onemocnění je charakteristický vodnatým průjmem, který se ale může stupňovat do dyzentérie (úplavice) s častým malým objemem stolice obsahujícím krev, hlen a hnis. Průjem může být doprovázen horečkou a žaludečními křečemi. Obvykle jde o celkovou poruchu vnitřního prostředí na rozdíl od případů dyzentérie způsobených *Entamoeba histolytica*, kde pacient kromě střevních problémů může zůstat relativně zdrav.

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 7/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

Existují čtyři druhy rodu *Shigella*

-*Shigella dysenteriae*

-*Shigella flexneri*

-*Shigella boydii*

-*Shigella sonnei*

Diagnóza bacilární dyzentérie se provádí izolací infekčního organismu. Kultivace a aglutinace *Shigella dysenteriae* u podezřelých by se měla provádět v biohazardboxu.

Všechny čtyři species jsou schopné vyvolat úplavici, ale *Shigella dysenteriae* sérotyp 1 vyvolává zvláště vážnou formu onemocnění s významnými celkovým postižením organismu v důsledku produkce shigatoxinu, který je těsně příbuzný k toxinu produkovanému kmeny verocytotoxického *E. coli* O157 (VTEC) – viz.dole. Stejně jako u infekce VTEC může infekce s toxigenní *S. dysenteriae* vyvolat hemolyticko-uremický syndrom.

Organismy se většinou přenášejí přímo z osoby na osobu a množení v prostředí se vyskytuje zřídka. Shigely se lehce přenášejí rukama (fekalorální šíření), krví nebo vodou nebo kontaminovanými předměty. *Shigella* species jsou vysoce infekční, zvláště u *S. dysenteriae* je k přenosu z člověka na člověka třeba 10 - 100 organismů v jedné infekční dávce. Asymptomatická infekce bývá popisována zvláště u kmenů *Shigella sonnei*. Epidemický výskyt může být spojen s těsným kontaktem v kolektivu ve školách, vězeních, psychiatrických zařízeních a při nízké úrovni hygieny. Úmrtí jsou mnohem častěji vidět během hladomoru a v zemích se špatnými socioekonomickými podmínkami. Nejčastější species izolovaná v ČR je *Shigella sonnei*. *S. dysenteriae* a *S. boydii* jsou vzácné a většinou souvisejí s cestou do ciziny.

Escherichia coli

Enterotoxigenní *E. coli* (ETEC)

ETEC způsobuje cestovatelský průjem a podobně také dětský průjem v rozvojových zemích. Většinou vzniká mírný vodnatý průjem s břišními křečemi, nauzeou a nízkou teplotou. Izoláty popsané v současnosti v souvislosti s outbreaky u pacientů byly charakteristické dlouho trvajícími symptomy. ETEC se prokazují současným použitím molekulárních a kultivačních metod a vyšetřují se hlavně v referenčních laboratořích v případech indikace na základě klinické symptomatologie a anamnézy pacienta.

Enteropatogenní *E. coli* (EPEC)

Tyto organismy způsobují průjem u dětí. Nezdá se, že by produkovaly toxiny, ale jsou enteroadherentní a poškozují střevní klky. Symptomy zahrnují vážné, dlouhodobé, nekrvavé průjmy obvykle s vylučováním hlenu. Časté jsou také zvracení a horečka. Pro detekci EPEC „O“ antigenu jsou komerčně dostupná polyvalentní antiséra. Nepoužívají se ale rutinně v rozvojových zemích, protože outbreaky EPEC jsou nyní vzácné. EPEC mohou vyvolávat cestovatelské průjmy

Enteroinvazivní *E. coli* (EIEC)

EIEC způsobuje onemocnění podobné dyzentérii charakterizované horečkou, křečemi v břiše, vodnatým průjmem s krví a hlenem, který většinou obsahuje leukocyty. Symptomy velmi připomínají shigelózu. EIEC invadují do střevní sliznice a rozruší epitelální buňky. Tyto

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 8/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

organismy se v evropských podmínkách vyskytují vzácně, a proto v tomto standardu není doporučeno rutinní vyšetřování. Stolicе od pacientů s dyzenterickým syndromem negativní při vyšetření podle standardních metod může být zaslána do referenční laboratoře kvůli průkazu těchto méně častých bakterií.

Verocytotoxigenní *E. coli* (VTEC)

E. coli O 157 je jedním z několika sérotypů *E. coli* produkujících verocytotoxiny. Toxin je podobný shigatoxinu *Shigella dysenteriae* a vyvolává hemoragickou kolitidu a hemolyticko-uremický syndrom (HUS). Infekce se liší závažností od mírných k trvalým průjmům a mohou se vyskytovat v jakékoliv věkové skupině, ačkoliv nejčastější jsou u dětí. U infekcí vyvolaných verocytotoxin produkujícími *E. coli* O157 není vždy přítomna ve stolici krev a přítomnost krve nesmí být proto jediným kritériem pro výběr vzorků k průkazu tohoto organismu. Nejvyšší incidence infekcí vyvolaných verocytotoxin produkujícími *E. coli* O157 je u dětí pod 5 let věku. Existuje také významná variabilita výskytu těchto infekcí s vrcholem incidence v létě a v časném podzimu. Epidemie byly přímo spojeny s požitím kontaminovaného vařeného masa, mléka a vody, mletého hovězího, hovězích burgerů, nepřímo byly spojeny se zeleninou, jablečným moštem a s majonézou. Outbreaky se vyskytují v institucích jako jsou kojenecké domovy, byly popsány rovněž outbreaky infekce *E. coli* O157 u návštěvníků zemědělských farem. Infekci mohou vyvolat nízké počty verocytotoxin produkujících *E. coli* O157. Provedení kultivace na VTEC se v tomto standardu doporučuje pro všechny průjmovité vzorky. Podezřelé izoláty mohou být předběžně identifikovány jako *E. coli* O157, které se potvrzují v rutinní laboratoři sérologickými a biochemickými testy. Kultivace známých nebo podezřelých *E. coli* O157 a jiných VTEC musí být prováděna v biohazardboxu. V poslední době se vyskytly případy infekce se sorbitol fermentující VTEC O157 (podrobnosti v technické informaci). Předběžně potvrzené izoláty se odesílají do referenční laboratoře k detekci genů pro verocytotoxin, potvrzení identifikace a fágové typizaci. VTEC O157 jsou pohyblivé a mají flagelární antigen H7, ale ve 20 % kmenů jsou fenotypově nepohyblivé. Existují metody a selektivní agary k průkazu *E. coli* O157. Stolicе od pacientů s dyzenterickým syndromem a negativním výsledkem vyšetření podle standardní metody se mohou zaslat do referenční laboratoře k průkazu jiných typů verotoxigenních *E. coli*. Viz také nahoře vztah *Campylobacter* a *Helicobacter* species a enteroinvazivní *E. coli*.

Enterogregativní *E. coli* (EAEC)

Tuto skupinu tvoří enteroadherentní *E. coli*, které jsou sdruženy s chronickým průjmem, zvláště u dětí v mnoha částech světa. U dětí se symptomy infekce EAEC projevují vodnatým průjmem, zvracením, dehydrací a někdy bolestmi břicha, horečkou a krvavou stolicí. Tyto organismy byly detekovány jako cestovatelské infekce a mohou také vyvolávat chronický průjem u pacientů infikovaných HIV. EAEC se detekují adhezí na HEp-2 a na HeLa buňky s tvorbou charakteristického cytopatického efektu, a tato metoda je považována za zlatý standard. Produkce toxinů se nezdá být důležitá pro patogenitu a kmeny patří k různým sérotypům. V současnosti neexistují žádné rutinní testy pro průkaz na izolaci EAEC. Jestliže se požaduje toto vyšetření, stolicе se zasílá do referenční laboratoře na testování založených na DNA a nebo na kultivačních metodách.

Difúzně agregativní *E. coli* (DAEC)

Dalším nově popsaným enteropatogenním *E. coli* je difúzně agregativní *E. coli* (DAEC).

***Vibrio* species**

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 9/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

Vibrio species se vyskytuje v brakických nebo slaných vodách po celém světě. Několik druhů je patogenních pro člověka a jsou obvykle spojeny s požitím kontaminované vody nebo mořských plodů. Nejčastěji jse z průjmů izoluje *Vibrio cholerae*, což je příčinné agens cholery, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio fluvialis* a *Vibrio mimicus*. *Vibrio vulnificus* nezpůsobuje průjem, ale bylo izolováno z krve a tkáně septických pacientů, zvláště pacientů s onemocněním jater. Symptomy se pohybují od mírného průjmu obvykle doprovázeného žaludečními křečemi a zvracením až k explozivním průjmům. Kmeny *Vibrio cholerae* O1 jsou etiologickým agens epidemické cholery. *Vibrio cholerae* O1 má dva biotypy - klasický a El Tor. *V. cholerae* O1 může být dále rozděleno na tři sérotypy: Ogawa, Inaba a Hikojima. Kmeny Ogawa a Inaba aglutinují se specifickými antiséry, kmeny Hikojima, ačkoliv jsou vzácné, aglutinují jak s anti-Ogawa, tak anti-Inaba antiséry. V roce 1993 se objevila nová séroskupina *Vibria cholerae* O139 Bengal, která rovněž způsobuje cholery. Vynořila se v jižní Indii a šířila se do několika zemí na asijském a americkém kontinentu. Hlavní symptomy cholery jsou pasáž profúzního vodnatého průjmu s hlenem, ale bez krve, což stolici dává vzhled rýžové vody. Ztráta tekutin a dehydratace jsou hlavní příčinou smrti. Inkubační perioda se liší od několika hodin do několika dnů. Průjem může trvat do šesti dnů. Dlouhodobí nosiči jsou vzácní. Epidemie cholery jsou nejčastěji spojeny s kontaminovanou vodou. Zdrojem infekce mohou být také kontaminované potraviny, zvláště špatně upravené syrové mořské plody. *V. cholerae* O1 a O139 vytvářejí cholerový toxin (CT), ne tak *V. cholerae* non-O1/O139 kmeny, které pouze příležitostně produkují enterotoxin. CT je velmi podobný tepelně labilnímu enterotoxinu, který produkuje několik kmenů *E. coli* (ETEC: viz výše).

Vibrio parahaemolyticus a *V. fluvialis* jsou odpovědné za světově rozšířenou gastroenteritidu (charakteristický je pro ně akutní průjem, který může být krvavý a trvat kolem tří dnů) spojený s požíváním kontaminovaných mořských plodů, zvláště ústříc. Je třeba poznamenat, že *Vibrio hollisae* neroste na TCŽS.

Průjem spojený s předchozím použitím antibiotik (AAD = Antibiotic Associated Diarrhoea)

Clostridium difficile

Změny ve střevní flóře sdružené s použitím širokospektrých antibiotik a chemoterapeutik mohou vyvolat kolonizaci střeva *Clostridium difficile*. Je to nejčastější identifikovatelná příčina antibiotické kolitidy. Nejčastěji ji vyvolávají léky, které mají významný účinek na mikroflóru střeva. Jsou to širokospektré betalaktamy, cefalosporiny, klindamycin a nové fluorochinolony. Ukázalo se, že incidence infekce *C. difficile* klesá ve chvíli, kdy je pod kontrolou antibiotická léčba. Vytvářejí se dva toxiny, A (enterotoxin) a B (cytotoxin), které způsobují charakteristické poškození sliznic sestávající z plakovitých lézí, vedoucích k tvorbě pseudomembrány. Ne všechny kmeny *C. difficile* produkují toxin a ne všechny tudíž vyvolávají nemoc. Spektrum příznaků onemocnění se pohybuje od přechodných průjmů po pokročilé případy závažné pseudomembranózní kolitidy. Nejpresnější diagnóza pseudomembranózní kolitidy je endoskopický průkaz pseudomembrán ve střevě nebo mikroabscesů u pacientů léčených antibiotiky, kteří mají průjem a kteří mají prokázáný toxin *C. difficile* ve stolici. Organismy se vyskytují v souvislosti s epidemiemi v nemocnicích a v zařízeních následné péče pro staré lidi. Představují důležitou příčinu nemocničních infekcí a organismus může být izolován z nemocničního prostředí, kde je nacházen na podlaze, toaletách a ložním prádle. Pokud není zjištěna další příčina pro vysvětlení poruchy gastrointestinálního prostředí, považuje se průkaz toxinů *C. difficile* v průjmovité stolici za průkaz CDAD (*Clostridium Difficile* Associated Diarrhoea). V epidemické situaci je potvrdzujícím důkazem CDAD současný průkaz toxinu s izolací *C. difficile*

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 10/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

v primokultuře. Pokud je stolice negativní na přítomnost toxinu, mělo by následovat vyšetření toxinů z izolátu, čímž se může zvýšit počet pozitivních pacientů. I když se za zlatý standard detekce toxinů *C. difficile* považuje průkaz cytopatického efektu neutralizovatelného antitoxinem proti *C. sordellii* na tkáňové kultuře, zavedení metody vyžaduje značnou technickou zkušenost a při provádění znamená obvykle 24 až 48 hodin zpoždění konečného výsledku kvůli vývoji cytopatického efektu. Tkáňové kultury, zvláště s Vero buňkami, mohou detekovat i jiné cytotoxiny ve stolici, které jsou spojeny s průjmem jako např. enterotoxin *C. perfringens*. Cytopatický efekt, který není neutralizovatelný pomocí antitoxinu *C. sordellii*, může ukazovat, že jsou přítomny jiné patogeny.

K detekci toxinu *C. difficile* jsou k dispozici četné komerční EIA testy. Některé prokazují toxin A, jiné toxin A a B, avšak senzitivita a specifita obou těchto vyšetření se liší. Komerční Elisy, které detekují oba toxiny A a B jsou považovány za vhodnější než ty, které prokazují pouze toxin A, poněvadž byly popsány epidemie vyvolané A- B+ kmeny. Existují vyšetřovací soupravy založené na latexové aglutinaci, ale nejsou tak přesné jako EIA a mají slabou citlivost. Byl navržen průkaz toxinů protisměrnou imunoelektroforézou, ale tato metoda postrádá citlivost a specifitu a není doporučena.

Připravují se také testy, které se provádějí u lůžka pacienta („bedside testy“), které zřejmě budou v budoucnosti hrát velkou roli. Mají velmi dobrou citlivost. Typizace kmenů *C. difficile* je někdy užitečná při vyšetření hromadných případů infekce. Používá se typizace pomocí bakteriofágů, bakteriocinů a sérotypizace. Jako mezinárodně doporučená metoda získává podporu PCR a v Anglii byla zřízena ribotypizační síť, která by se měla použít v situacích epidemie. Jiné metody používají profily buněčných proteinů a jiné metody DNA analýzy.

Jiné organismy

Kromě *C. difficile* může vyvolat toxinózu sdruženou s antibiotickou kolitidou *C. perfringens*, *S. aureus*, *Klebsiella oxytoca*, *Candida species* a *Salmonella species*.

Mikroorganismy nalezené za zvláštních okolností

Yersinia enterocolitica

Yersiniózu vyvolává omezený počet kmenů O séroskupiny *Yersinia enterocolitica*, zejména O3, O9 a O5, O27 v Anglii a O8 v severní Americe. Infekce jinými typy je vzácná. Početné epidemie potravinového původu způsobené *Y. enterocolitica* se vyskytly v Evropě, Severní Americe a v Japonsku. K infekci obvykle dochází požitím kontaminovaných potravin, mléka nebo vody. Často prokazovaným zdrojem infekcí jsou prasata. Infekce se vyskytuje mnohem častěji u dětí mladších 6 let a u velmi starých lidí. Po požití se organismus množí v lymfatické tkáni tenkého střeva, kde může způsobit hyperémii, infiltraci neutrofilů a ulceraci. Inkubační doba je mezi 4 - 7 dny. Příležitostně může dojít k hematogennímu šíření za vzniku septikémie s tvorbou abscesů v orgánech jako jsou játra a slezina. Yersiniosa může vyvolávat různé klinické symptomy jako jsou:

- akutní průjem
- mezenteriální lymfadenitida
- terminální ileitida
- pseudoapendicitida
- septikémie
- metastatická infekce
- imunologické následky (jako reaktivní artritida).

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 11/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

Kultivace yersinií se doporučuje pouze při klinickém podezření. Izoláty by měly být předány referenční laboratoři k biotypizaci a nebo sérotypizaci a ke stanovení patogenity.

Yersinia pseudotuberculosis

Yersinia pseudotuberculosis kolonizuje sliznice mnohých divokých a domácích zvířat a ptáků. V souvislosti s chytáním hlodavců se vyskytují se epidemie, ale pouze vzácně dochází k infekci u lidí. Izoláty pocházely z krve, lymfatických uzlin, případně ze stolice.

Clostridium septicum

Clostridium septicum se vzácně izoluje ze stolice starých osob. Byla prokázána souvislost mezi bakteriemi *C. septicum*, neutropenií a enterokolitidou. Ve vzácných případech má neutropenická enterokolitida fulminantní průběh, který bývá smrtelný, i když je léčen pomocí chirurgického zákroku nebo podáním antibiotik. Pacient mívá bolesti břicha a horečku s příznaky apendicitidy. V těchto případech bývá *C. septicum* izolováno z krve nebo ze střevního obsahu.

Aeromonas species

Aeromonas species je vyvolavatel vodnatého nekrvavého průjmu u malých dětí a starších vnímavých pacientů. K přenosu agens a ke vzniku epidemií dochází potravinami a vodou, jejich význam je stále nejasný a rutinní vyšetřování těchto species se nedoporučuje.

Plesiomonas shigelloides

Plesiomonas shigelloides byl izolován od pacientů s průjmem a žaludečními křečemi v případě epidemií gastrointestinálních infekcí vzniklých po požití potravy a kontaminované vody. Některé případy a epidemiologická data potvrzují etiologickou úlohu *P. shigelloides* při průjemových onemocněních, etiologie však není zcela potvrzena a nedoporučuje se rutinní vyšetřování těchto organismů.

Edwardsiella tarda

Vyvolává sporadické případy gastroenteritidy podobné onemocněním vyvolaným salmonelami včetně střevní horečky. Jeho rutinní izolace není doporučena.

Paraziti

Četná střevní onemocnění jsou vyvolána parazity.

Viry

Viry vyvolávají běžné průjmy a zvracení u dětí a jsou hlavní příčinou epidemické nebakteriální gastroenteritidy u dětí. V rozvojových zemích je virová gastroenteritida signifikantní příčinou onemocnění a úmrtnosti u dětí.

Viry vyvolávající gastroenteritidy:

Rotaviry – způsobují průjem a zvracení nejčastěji u malých dětí. Někdy se vyskytují epidemie v jeslích. Příležitostně působí rotaviry gastroenteritidu u dospělých, vrchol incidence je v letních měsících, k infekci dochází fekálně orální cestou. Rotaviry se také vyskytují ve zvratkách, které jsou také důležitým vehikulem pro přenos. Virus se šíří v aerosolových kapkách a vyvolává kontaminaci prostředí. Britské standardy nedoporučují vyšetřování zvratků na rotaviry. Rotaviry jsou nejčastější příčinou průjmů u předškolních dětí, proto by se u vzorků stolice v této věkové skupině měl vždy provádět screening na viry. Detekční metody na rotaviry ve vzorcích stolice odebraných během akutní fáze onemocnění zahrnují elektronovou mikroskopii, ELISU a latexovou aglutinaci.

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 12/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

Adenoviry – jsou méně častou příčinou akutních průjmů u malých dětí než rotaviry. Dochází k epidemiím ve školách a na dětských odděleních nemocnic. Obvyklý je protrahovaný průjem a nízká teplota. Nejčastější příčinou adenovirového průjmového onemocnění jsou adenoviry typů 40 a 41 (skupina F adenovirů). Komerční metody jako EIA obvykle používají pouze tyto typy, zatímco elektronová mikroskopie detekuje enterální i neenterální adenoviry. Stále častěji se v laboratorní diagnostice adenovirů používá PCR.

Noroviry nebo malé kulaté virové částice (SRSV) – jsou jednou skupinou kalicivirů vyvolávajících gastrointestinální onemocnění. Jsou hlavní příčinou nebakteriální epidemické gastroenteritidy. K epidemiím obvykle dochází v komunitě a v nemocnicích, následně péči a v domovech důchodců. Jsou postiženy všechny věkové skupiny, ale převládají dospělí. Infekce se obvykle šíří kontaktem z osoby na osobu, ale byly dokumentovány případy způsobené fekální kontaminací potravin nebo vody. SRSV jsou také nalézány ve zvracích, v tomto případě je virus přenášen ingescí aerosolových kapének. K přenosu infekce v epidemii může docházet potravinami např. při konzumaci ústřic kontaminovaných odpadními vodami nebo ještě častěji jako výsledek kontaminace potravin infikovaných při přípravě rukama pracovníků. Nejčastější symptomy jsou zvracení, často explozivní, průjem, bolesti hlavy, bolesti kloubů, křeče v břiše. Inkubační doba je krátká mezi 15 - 50 hodinami a uzdravení obvykle bez problémů kolem 24 hodin. Průkaz SRSV elektronovou mikroskopií vyžaduje vzorky stolice odebrané během 48 hodin po začátku symptomů. Ve specializovaných laboratořích je dostupné vyšetření Real Time PCR. Zvratky se nedoporučuje vyšetřovat. Existuje komerční ELISA pro detekci norovirů ve vzorcích stolice, ale spolehlivost takových vyšetření není dobrá kvůli vysoké variabilitě některých kmenů viru. V laboratorní diagnostice se dává přednost specifitější PCR

Sapoviry – jsou nenorovirové kaliciviry vyvolávající gastrointestinální symptomy. Způsobují průjem, zvracení, obvykle bez teplot. Infekce se vyskytuje hlavně u kojenců, malých dětí a starších lidí s narůstající incidencí v zimních měsících. Vyskytly se dobře popsané epidemie. Detekce kalicivirů se provádí elektronovou mikroskopií v akutních vzorcích stolice nebo pomocí RT-PCR.

Astroviry – infekce se většinou vyskytuje v dětství a symptomy jsou mírné. Symptomy jsou zvracení, bolesti břicha, průjem a teplota. Astroviry se prokazují elektronovou mikroskopií v akutních vzorcích stolice, ELISA testy a nebo RT-PCR.

Bakterie produkující toxiny vyvolávající otravu potravinami

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus tvoří část střevní flóry a může být za běžných okolností prokazován v malém množství ve stolici. Při infekci jsou ve stolici přítomna větší množství *Staphylococcus aureus*. Symptomy otravy z potravin vyvolané *S. aureus* jsou zvracení, nauzea, křeče v břiše, často následované průjmem. Inkubační doba je 1 – 6 hodin. Kmeny *S. aureus*, které způsobují otravu potravinami, produkují tepelně rezistentní enterotoxiny. Otrava toxinem *S. aureus* vzniká po konzumaci jídla, v němž se organismus pomnožil a vytvořil enterotoxiny. Toxiny jsou relativně stabilní a mohou být přítomny v účinné podobě i v nepřítomnosti živých stafylokoků po vaření, pasterizaci nebo prodlouženém skladování surovin. Diagnóza se potvrdí kultivací stolice infikovaných osob a příslušného jídla. Organismus může také být izolován ze zvratků, ale kultivace z těchto vzorků není doporučována. Kultivace nemusí být úspěšná, protože organismus může odumřít po vytvoření enterotoxinu. V takovém případě je možné dostatečné množství enterotoxinu v jídle prokazovat pomocí imunoeseje. Detekce enterotoxinu ve stolicích nebo zvracích má omezený diagnostický význam. Izolované stafylokoky by měly být fagotypizovány a

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 13/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

testovány na produkci enterotoxinu v referenční laboratoři. Kmeny produkující enterotoxin mohou být identifikovány jako příčina infekce při izolaci identických fagotypů z jídla a ze stolice.

Bacillus cereus a Bacillus species

Bacillus cereus je běžnou příčinou otravy z potravin po požití toxinu spíše než infekcí živými organismy. Otrava z potravin se vyskytuje po konzumaci potravin, v nichž se organismus pomnožil do velkého množství a vytvořil toxin. Klinické syndromy mohou zahrnovat **průjmový syndrom**, který připomíná otravu z potravin vyvolanou *Clostridium perfringens* a která je vyvolána enterotoxinem a **emetický syndrom** způsobený termostabilním peptidem. Emetický syndrom je sdružen s konzumací rýže a těstovin a je charakteristický nauzeou a zvracením 1 - 5 hodin po konzumaci příslušné stravy. Průjmové typy způsobují průjem a bolesti břicha 8 - 16 hodin po jídle kontaminované potraviny.

Sporadické otravy z potravin může také vyvolávat *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis*. *Bacillus cereus* se může vyskytovat v malém množství ve stolici zdravých lidí. V případě podezření na otravu z potravin se provádí kvantitativní kultivace ze stolice, zvratků a potravin. Počty živých buněk z jídla jsou obvykle větší než 10^4 /g potraviny. K průkazu toxinu v jídle se dá použít imunoesej, ale průkaz toxinů z bakteriálních izolátů nebo ze stolice případně zvratků má omezenou diagnostickou hodnotu.

Clostridium perfringens

Počty *C. perfringens* v normální lidské stolici jsou obvykle menší než $10^4 - 10^5$ /g stolice.

Některé druhy, jako *C. perfringens* typ A2, vyvolávají mírnou formu otravy z potravin a vyskytují se ve všech věkových skupinách. Převládající symptomy této toxinózy jsou vodnatý průjem s velkými žaludečními bolestmi a inkubační dobou 8 - 24 h. Při infekci *C. perfringens* typu C se může rozvinout nekrotizující enteritida (enteritis necroticans). Mortalita se blíží 40 %. Onemocnění je známé jako „pig-bel“ na Papui Nové Guinei, kde může nasedat na oslavy, kde se konzumuje špatně uvařené vepřové, a jako „darmbrand“ v Německu. Onemocnění bylo popsáno na různých místech ve světě. Laboratorní potvrzení otravy z potravin vyvolané *C. perfringens* musí splňovat nejméně jedno z následujících kritérií: izolace stejného sérotypu ze stolice postižených strážníků a z potravy, detekce enterotoxinů ve stolicích postižených lidí, a nebo počty spór ve stolici více než 10^5 / g. Standardy doporučují, aby se vyšetření stolice na *C. perfringens* provádělo pouze při výskytu otravy z potravin a aby se vyšetření *C. perfringens* u případů, které nebyly postiženy otravou, rutinně neprovádělo. Počty spór *C. perfringens* se prokazují po provedení alkoholového šoku. Mohou být užitečné kvantitativní studie, kde počty spor více než 10^5 /g se vyskytují pouze u případů otravy z potravin. Diagnóza se potvrzuje průkazem enterotoxinu *C. perfringens* v extraktu z čerstvých vzorků stolice. Izoláty *C. perfringens* se uschovávají pro sérotypizaci a vzorky stolice se ponechávají pro testování toxinu.

Clostridium botulinum

Clostridium botulinum je vyvolavatelem vzácné, ale často smrtelné otravy z potravin. Botulismus je neuroparalytické onemocnění vyvolané neurotoxiny (botulotoxin) *C. botulinum* a klasifikuje se ve čtyřech kategoriích:

- **klasická forma botulismu** vznikající po konzumaci potravin, která se typicky vyskytuje u dospělých, vzniká pozřením preformovaného toxinu v kontaminované potravě
- **ranný botulismus** je nejméně častá forma onemocnění při vytvoření toxinů *in vivo* potom, co se *C. botulinum* pomnožilo v infikované ráně

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 14/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

- **dětský botulismus** je vzácný, ale infekce je u dětí velmi častá. K onemocnění dojde při pomnožení *C. botulinum* v dětském střevě s produkcí neurotoxinů. Symptomatologie může být mírná, ale může dojít i k náhlé smrti.

- **nerozhodná klasifikace botulismu** - označují se tak případy botulismu u pacientů, ve věku více než 12 měsíců bez prokázaného původce v potravě nebo v ráně.

C. botulinum vytváří toxiny v případě přežití a pomnožení bakterií v nevhodně zpracovaných a skladovaných potravinách. Preformované toxiny mohou být později zkonsumovány s potravinou, vstřebají se do krevního oběhu a vážou se na synapse periferních nervů, kde blokují přenos vzruchu. Postupně se rozvíjí chabá paralýza s typickým postižením hlavových nervů v některých případech se zástavou dechu. Botulismus je třeba odlišit od demyelinizační polyneuropatie a Miller Fischerova syndromu (viz Nahoře). Botulotoxin patří mezi nejtoxičtější známé látky a mohl by být teoreticky použit v biologické válce nebo při bioterorismu.

Obvyklá závažnost symptomů a doba trvání provedení vyšetření vyžaduje aby předběžná (prozatímní) diagnóza byla vyslovena klinikem pouze na bázi klinické symptomatologie u pacienta. Laboratorní nálezy, které potvrzují klinickou diagnózu, zahrnují průkaz toxinu v séru nebo ve stolici a průkaz organismů v potravinách (nebo ve stolici v případě dětského botulismu). Tato vyšetření by se měla provést v referenční laboratoři, kultivace v tomto standardu není doporučena.

Technické informace - limity

Studie zaměřená na kultivační metody neprokázala žádné významné rozdíly v izolaci *Salmonella* species nebo *Campylobacter* species při vyočkování vzorku přímo na plotnu nebo při inokulaci po předchozím naředění v kultivačním médiu. Ředění významně snižuje množství kompetující (konkurenční) flóry bez toho, aniž by se snižovaly počty patogenů. Bylo také prokázáno, že stačilo jen několik subkultur pro *Campylobacter* species, když se použilo neředěné inokulum, takže vlastně se snížila cena laboratorního vyšetření. Studie v roce 2002 porovnávající xylosa – lysin - dezoxycholátové médium (XLD), alfa-betachromogenní médium (ABC) a manitol – lysin - krystalová violet' - briliantová zeleň - agar (MLCB) prokázala, že XLD plus MLCB je optimální kombinace, když se používá přímé očkovaní. MLCB bylo prokázáno jako nejlepší pro jednoduché přímé očkovaní pro netyfové salmonely, zatímco XLD zůstalo nejučinnější pro rutinní diagnostickou práci.

Poměr izolace *Campylobacter* species je vyšší a růst kompetující flóry je menší, když se používá inkubační teplota 42°C místo 37°C, ale záchyt takových organismů jako je *Arcobacter* species a *H. cinaedi* může být nižší.

Se záchytem takto různorodé skupiny bakterií ze stolice jsou spojeny různé technické problémy:

1) Organismy mohou být citlivé na selektivní agens inkorporovaná do kampylobakterových agarů (např. *C. upsaliensis*, *C. hyointestinalis* a *H. fennelliae* jsou senzitivní na cefalotin)

2) *Arcobacter* species a *H. cinaedi* nemusí narůst při 42°C

3) *C. hyointestinalis* může vyžadovat vyšší tenzi vodíku než se vyskytuje u komerčně dostupných kítů generujících mikroaerobní atmosféru.

Celkově se však výskyt lidských onemocnění těmito organismy v Anglii považuje za nízký, a proto je volba inkubační teploty, výběr selektivních pūd a doporučení ve standardních metodách primárně zaměřeno na průkaz *C. jejuni*, *C. coli* a *C. lari*.

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 15/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

Výsledky studie použití laktóza a manitol - selenitových tekutých pomnožovacích pūd s následným vyočkováním na XLD nebo DCA vedly k návrhu, že rutinní diagnostické laboratoře budou vyočkovávat pomnožovací manitol - selenitovou pūdū na XLD.

Detekce toxinu je považována za vhodné vyšetření u sporadických pūřipadů onemocnění vyvolaných *C. difficile*. Nicméně u outbreaku, kde se vyžadují epidemiologické studie, se požaduje pūřikaz toxinu plus izolace *C. difficile*. Jestliže je objem práce pro laboratoř pūřilīš velký na to, aby prováděla obě vyšetření, lze provádět vyšetření toxinu a stolice by se měla uskladnit pūřī 4° C nebo pūřī -20 °C pro pozdější kultivaci a typizaci izolátů. Zpūřava pracovní skupiny PHLS deklaruje, že všechny laboratoře by měly být schopné izolovat *Clostridium difficile* ze vzorků stolice pro typizaci pūřī podezření na outbreak, kdy je nezbytná typizace izolátů.

Tam, kde je klinické podezření na VTEC, zvláště u dětí pod 15 let a u dospělých pūřes 65 let, a na CT-SMAC agaru nejsou pūředběžně zjištěny žádné kolonie sorbitol nefermentující *E. coli* O157, se doporučuje, aby klinické laboratoře:

- testovaly aglutinaci sorbitol fermentujících kolonií s antisérem proti *E. coli* O157
- konfirmovaly identifikaci kolonií aglutinačně pozitivních na O157 jako *Escherichia coli*
- Všechny izoláty v čistých kulturách pūředběžně lokálně konfirmované jako *E.coli* O158 (sorbitol nefermentující nebo sorbitol fermentující) by se měly uchovat na šikmých živných agarech. Kulturey se mají urychleně dopravit do NRL ke konfirmaci identifikace, k pūřikazu genů pro verocytotoxin a k fágové typizaci.

Do referenční laboratoře by měly být zaslány vzorky stolice z klinických pūřipadů, z nichž nebylo izolováno VTEC O157 pro detekci verocytotoxin produkujících *E. coli* nebo séro skupin jiných než O157 (non-O157 VTEC).

Poznámka: *V. hollisae* neroste na TCBS (TCŽS).

PREANALYTICKÁ FÁZE

Informace o odběru materiálu, technická informace/omezení

Informace o vyšetřeních poskytovaných na oddělení se nachází v [LP_2 – Laboratorní pūřírūčka](#), informace k preanalytické fázi vyšetření jsou uvedeny v souhrnné stručné tabulce pro odběr a transport materiálu s časovými údaji o vydání výsledků ([pūříloha č. 4 Laboratorní pūřírūčky](#)) – [Pūřírūčka k odběru biologického materiálu pro vyšetření](#) U odběrů se postupuje podle [OSOP_1 - Odběr biologického materiálu](#), zápis do LIS se provádí podle [MP_3 – LIS](#), pūřípadné neshody na pūříjmu se řeší podle LP s použitím [F_10 - Telefonické konzultace a hlášení neshod pūřī pūříjmu vzorku](#)

ANALYTICKÁ FÁZE

1 Bezpečnost práce

1.1 Odběr vzorků

Nespecifikováno

1.2 Transport a skladování

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 16/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

Kousek stolice v hermeticky uzavřeném sterilním kontejneru, méně vhodná je výtěrovka v transportní Amiesově půdě. Nevhodné jsou suché tampony.

1.3 Zpracování vzorků

OBP na úrovni BSL2 pro rutinní vyšetření stolic, doporučuje s práce v biohazardu při podezření na:

- *Salmonella* Typhi
- *Salmonella* Paratyphi A,B,C
- Vero cytotoxin produkující *E. coli* O157 (VTEC O157)
- *Shigella dysenteriae* 1

S.Typhi, S.Paratyphi A,B a C způsobují závažné a někdy smrtelné onemocnění a byly popsány laboratorní infekce. K dispozici je vakcína proti S. Typhi podle pravidel HPA.

VTEC O157 a *S. dysenteriae* typ 1 způsobují závažné a někdy fatální onemocnění a rovněž laboratorní infekce. Pro vyvolání onemocnění stačí nízké počty bakterií.

Při podezření nebo znalosti obsahu botulotoxinu v materiálu se má materiál zpracovávat na úrovni BSL3 kvůli riziku požití nebo inhalace toxinu.

Pro laboratorní personál mohou být rovněž být nebezpečné další infekce (např. toxigenní *V. cholerae*).

Laboratorní postupy, které vyvolávají infekční aerosoly, musí být prováděny v biohazardboxu.

Shora uvedená pravidla by měla být doplněna lokálními bezpečnostními pravidly.

Odkaz na všechny postupy bezpečnosti práce dle [PR_3 - Provozní řád](#), [MP_11 - Manipulace s infekčním odpadem](#), [PP_104 Zpracování materiálu z normálně sterilních míst \(K II\)](#)

2 Odběr vzorků

dle [LP_2 – Laboratorní příručka](#)

2.1 Optimální čas pro odběr vzorků

Co možná nejdříve po nástupu symptomů.

2.2 Správný typ vzorků a metoda odběru

Vzorky stolice se odebírají z čisté, suché podložní mísy na jedno použití nebo podobné nádoby a vloží se do hermeticky uzavíratelného kontejneru. Vzorky nesmějí obsahovat mýdlo, detergent nebo zbytky dezinfekce na míse.

2.3 Adekvátní množství a vhodný počet vzorků

1 - 2 g stolice stačí pro rutinní kultivaci. Testy pro kvantifikaci otravy z potravin mohou vyžadovat do 10 g. Jestliže se odebere během jednoho dne více vzorků, mohou se vzorky při zpracování spojit.

3 Transport vzorků a skladování

dle [LP_2 – Laboratorní příručka](#)

3.1 Čas mezi odběrem a zpracováním

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 17/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

Vzorky stolice se musí do laboratoře dopravit a zpracovat co nejdříve (pro shigelly do 30 minut), protože mnohé důležité patogeny jako např. shigely nemusí přežít změny pH, k nimž dochází u vzorků stolice, které nejsou ihned dopraveny do laboratoře, a to dokonce i při zamrazení.

3.2 Speciální požadavky k uchování kvality vzorků

Nejsou specifikovány.

4 Zpracování vzorků

Podle seznamu priorit a individuální závažnosti vzorku informace na [MP_26 – Urgentní vzorky, stanovení prioritních materiálů, ranní hlášení](#)

[PP_116 - Zpracování výtěru z rekta \(stolice\) - základní kultivace](#), [PP_117 - Komplexní vyšetření stolice](#)

Uskladnění biologického materiálu v laboratoři podle [MP_5 – Uchování vzorků](#)

4.1 Výběr testu

Vyberte reprezentativní část vzorku pro vyšetření jako je průkaz toxinu *C. difficile* ([PP_62 - Stanovení antigenu a toxinu *C. difficile* imunochromatograficky ze vzorku stolice](#)), vyšetření parazitů nebo na virologii podle požadavků a klinických informací ([PP_60 - Stanovení adenovirů a rotavirů imunochromatograficky ze vzorku stolice](#), [PP_61 - Stanovení norovirů imunochromatograficky ze vzorku stolice](#)).

4.2 Vzhled (jen u komplexní stolice)

Vzorky se popíší podle makroskopického vzhledu jako formované, poloformované nebo tekuté, barva.

Je nutno uvést přítomnost krve, hlenu a parazitů (hlístů).

4.3 Mikroskopie (jen u komplexního vyšetření stolice)

4.3.1 standard

Všechny vzorky od symptomatických pacientů.

Na vyžádání: Připravte médium pro tlustý nátěr stolice na čisté mikroskopické sklíčko, aby se barvilo na *Cryptosporidium* species.

4.3.2 Doplnkový, komplexní stolice

Připravte vlhký preparát pro zhodnocení mikroskopie na přítomnost bílých a červených krvinek, vajíčka, cysty a parazity na čistém mikroskopickém sklíčku.

4.4 Kultivace a vyšetření

4.4.1 Dekontaminace

Rutinní kvantifikace pomocí dekontaminace a ředění vzorků není doporučena v těchto postupech pro vyšetření *Bacillus* species nebo *C. perfringens*. Nicméně tento postup může být použit u epidemií tam, kde je to klinicky indikováno.

4.4.2 Zpracování vzorků

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 18/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

Dle [PP_116_Zpracování výtěru z rekta/stolice - základní kultivace](#), [PP_117_Komplexní vyšetření stolice](#). Natře se část nebo kapka stolice na plotnu tak, aby pokrývala oblast v ekvivalentní čtvrtině nebo třetině celé plochy. Provádí se dřevěnou tyčinkou nebo kličkou.

Stolice může být naředěna 1:10 ve vhodném ředidle před inokulací na kultivačním médiu podle lokálního protokolu. Bylo ukázáno, že ředění významně snižuje množství kompetující flóry, aniž by snižovalo izolaci nízkých počtů patogenů.

Pro izolaci individuálních kolonií rozočkejte inokulum sterilní kličkou.

Inokulujte část stolice o velikosti hrachu nebo několik kapek stolice do pomnožovací půdy. Po inkubaci vyočkejte pomnožovací půdu s minimálním mícháním půdy s použitím sterilní kličky pro odběr inokula těsně pod hladinou půdy a inokulujte vhodná média [PP_20 – Izolace a rozočkování](#)

Inokulujte Hottingerův bujónu pro aglutinaci EPEC [PP_116_Zpracování výtěru z rekta/stolice - základní kultivace](#), [PP_117_Komplexní vyšetření stolice](#).

4.4.3 Tabulka Kultivační média, diagnózy a organismy pro všechny tyto vzorků

Viz příloha 1

4.5 Identifikace

Všechna práce se *S. Typhi*, *S. Paratyphi* A,B,C, verocytotoxigenními *E. coli* a *Shigella dysenteriae* se musejí provádět v bio hazardu v BSL3.

4.5.1 Minimální úroveň identifikace

<i>Bacillus</i> species	rod
<i>Campylobacter</i> species	rod
<i>C. difficile</i>	species
<i>C. perfringens</i>	species
<i>E. coli</i> O157	species + séroskupina
<i>Salmonella</i> species	rod, aglutinace do sérotypu
<i>S. Typhi/Paratyphi</i>	species
<i>Shigella</i> species	species
<i>S. aureus</i>	species
<i>Vibrio</i> species	species
<i>Vibrio cholerae</i>	species, O1, O139 nebo ne
<i>Yersinia</i> species	species
Paraziti	viz příslušná SOP.

Organismy musí být dále identifikovány, jestliže je to klinicky nebo epidemiologicky požadováno.

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 19/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

dle [BSOPID_1 - Identifikace lékařsky důležitých mikroorganismů pomocí orientačních a komerčních fenotypových metod a metodou hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF](#)

4.5.2 Spolupráce s referenčními laboratořemi

Viz. informace na webu těchto laboratoří.

Izoláty sdružené s outbreaky, kde je epidemiologicky indikováno a organismy s neobvyklým nebo neznámým fenotypem rezistence a kde je laboratorní nebo klinický problém případně odchylka, by měly být zaslány do příslušné referenční laboratoře.

Vzorky pacientů se syndromem gastroenteritis, pro které není žádná příčina nalezena, pomocí standardních mikrobiologických technik by měly být zaslány do příslušné referenční laboratoře.

dle [MP_8 – Evidence vzorků odeslaných do smluvních a spolupracujících laboratoří. MP_23 – Zasílání materiálu, K_16_Kmeny zaslané do NRL.](#)

4.6 Vyšetření citlivosti

Dle [BSOPTP_1 - Mikrobiologické vyšetření citlivosti mikroorganismů na antibiotika semikvantitativní diskovou difusní metodou, kvantitativní diluční metodou v mikrodestičkách a kvantitativní metodou E-test.](#)

POSTANALYTICKÁ FÁZE

5 sdělování výsledků, předpokládaná doba odezvy laboratoře

5.1 Vzhled

Popisuje se přítomnost krve nebo hlenu, barva, konzistence, makroskopicky viditelní parazité.

5.2 Mikroskopie

5.2.1 Standardní

V Gramově barvení popište kvantitativní a kvalitativní poměry různých morfotypů bakterií ve stolici, přítomnost a množství leukocytů, kvasinek, spór.

V případě přítomnosti parazitů uveďte tyto v parazitologickém vyšetření stolice.

5.2.3 Mikroskopie oznamovací čas

Urgentní mikroskopie telefonicky nebo elektronicky.

Psaná zpráva: 48 – 72 hodin.

5.3 Kultivace

Oznamuje se přítomnost nebo nepřítomnost specifického patogenu a doplňková vyšetření.

5.3.1 Čas dělení

Klinicky urgentní výsledky telefonicky nebo elektronicky.

Psaná zpráva dle [LP_2 – Laboratorní příručka](#).

5.4 Vyšetření citlivosti

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 20/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

Obecně se neprovádí, případně podle klinické indikace, rozhodne odečítající pracovník. Podle klinické nebo epidemiologické indikace u prvního výskytu salmonel, bez tisku do výsledků.

5.5. Uvolňování a expedice výsledků

Dle [F_56 - Pracovníci oprávnění provádět SOP a PP, MP_7 – Kontrola a uvolňování výsledků](#)

6 Hlášení hygienické službě

B. cereus

Campylobacter species

C. perfringens

E. coli

Salmonella species

Shigella species

Vibrio cholerae

Příloha 1 a 2

Podle platné národní vyhlášky ([Seznam infekčních chorob - příloha k EPIDATu - podléhajících povinnosti hlášení příslušnému orgánu ochrany veřejného zdraví, ED: Povinná hlášení dle Vyhl. MZ ČR č.473/2008 Sb., ve znění vyhlášek č.275/2010 Sb. A č.233/2011 Sb](#)) a seznamu hlášených patogenů.

Podle lokální epidemiologické situace se hlásí Komisi pro nozokomiální infekci ONTU, urgentně telefonicky nebo retrospektivně jednou týdně.

Podle [MP_6 – Hlášení infekčních nemocí, hlášení noskomiálních nákaz](#), do [K_11 Střevní laboratoř - hlášené kmeny, K_15 Kniha hlášek a pravděpodobných nozokomiálních kmenů](#)

7. Materiálně technické zabezpečení

7.1 Personál

Osoby oprávněné podle [F_8 Odborné kompetence](#), [F_56 - Pracovníci oprávnění provádět SOP a PP](#).

7.2. Přístroje a pomocná zařízení

Viz [Příloha č. 2](#).

Dle [PP_116 Zpracování výtěru z rekta/stolice - základní kultivace](#), [PP_117 Komplexní vyšetření stolice](#), [BSOPID_1 - Identifikace lékařsky důležitých mikroorganismů pomocí orientačních a komerčních fenotypových metod a metodou hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF](#), [BSOPTP_1 Mikrobiologické vyšetření citlivosti mikroorganismů na antibiotika semikvantitativní diskovou difusní metodou, kvantitativní diluční metodou v mikrodestičkách a kvantitativní metodou E-test](#)

7.3. Chemikálie, reagentie a spotřební materiál (tabulka)

Viz [Příloha č. 3](#).

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 21/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

Dle [PP_116_Zpracování výtěru z rekta/stolice - základní kultivace](#), [PP_117_Komplexní vyšetření stolice](#), [BSOPID_1 - Identifikace lékařsky důležitých mikroorganismů pomocí orientačních a komerčních fenotypových metod a metodou hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF](#), [BSOFTP_1_Mikrobiologické vyšetření citlivosti mikroorganismů na antibiotika semikvantitativní diskovou difusní metodou, kvantitativní diluční metodou v mikrodestičkách a kvantitativní metodou E-test](#)

7.5.Prostory

Provádí v místnostech Příjem materiálu, Střevní laboratoř, Identifikační laboratoř

8.Systém kontroly kvality

Podle [QSOP_2 - Interní kontrola kvality v klinické mikrobiologii](#), [MP_22 – EHK](#).

9.Validace a verifikace

Prováděné SOP jsou validovány údaji v recenzované literatuře a Národních SOP (viz. Literatura) a jsou verifikovány v rámci EHK v nichž se laboratoř účastní a pomocí IHK viz odkazy:

[QSOP_2_interní kontrola kvality v klinické mikrobiologii](#)

Dokumenty SLM ČLS JEP platné pro NASKL a ČIA:

http://www.splm.cz/dokumenty/PSSLP_2.pdf,

http://www.splm.cz/dokumenty/PS_VALVER.pdf

10.Související dokumentace

10.1. příručky, metodické postupy a dokumenty

[Vyhl.MZ ČR č.473/2008 Sb., ve znění vyhlášek č.275/2010 Sb. a č.233/2011 Sb](#)

[PK_1 - Příručka kvality](#)

[LP_2 - Laboratorní příručka](#)

[PR_3 - Provozní řád](#)

[MP_1 - Příjem materiálu](#)

[MP_2 - Identifikace vzorků](#)

[MP_3 - LIS](#)

[MP_4 – Oprava chybně vyplněné žádanky](#)

[MP_5 – Uchování vzorku](#)

[MP_6 – Hlášení infekčních nemocí, hlášení nosokomiálních nákaz](#)

[MP_7 – Kontrola a uvolňování výsledků](#)

[MP_8 – Evidence vzorků odeslaných do smluvních a spolupracujících laboratoří](#)

[MP_11 – Manipulace s infekčním odpadem](#)

[MP_20 – Expedice výsledků](#)

[MP_23 – Zasílání materiálu](#)

[MP_26 – Urgentní vzorky, stanovení prioritních materiálů, ranní hlášení](#)

[BSOPID_1 Obecné zásady identifikace medicínsky významných bakterií](#)

[SOFTP_1 - Vyšetřování citlivosti na antibiotika semikvantitativním difusním testem.](#)

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 22/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

[kvantitativní diluční mikrometodou a metodou E-test](#)

[PP_1 - Zhotovení preparátu pro barvení](#)

[PP_3 - Barvení preparátu dle Grama](#)

[PP_20 – Izolace a rozočkování](#)

[PP_22 – Vyočkování tekutých půd](#)

[PP_104_Zpracování materiálu z normálně sterilních míst \(K II\)](#)

[PP_116_Zpracování výtěru z rekta/stolice - základní kultivace](#)

[PP_117_Komplexní vyšetření stolice](#)

11.Literatura

- INVESTIGATION OF FAECAL SPECIMENS FOR BACTERIAL PATHOGENS** Issue no: 7 Issue date: 28.09.10 Issued by: Standards Unit, Department for Evaluations, Standards and Training Page 1 of 33 BSOP 30i7 www.evaluations-standards.org.uk Email: standards@hpa.org.uk
- PROCESSING OF FAECES FOR CLOSTRIDIUM DIFFICILE** Issue no: 1.3 Issue date: 29.09.08 Issued by: Standards Unit, Department for Evaluations, Standards and Training Page: 1 of 17 BSOP 10i1.3 www.evaluations-standards.org.uk Email: standards@hpa.org.uk
- INVESTIGATION OF GASTRIC BIOPSIES FOR HELICOBACTER PYLORI** Issue no: 5 Issue date: 08.08.08 Issued by: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Page 2 of 15 Reference No: BSOP 55i5 www.evaluations-standards.org.uk, Email: standards@hpa.org.uk
- Quality Assurance in the Diagnostic Virology and Serology Laboratory Quality Guidance | Q 2 |** Issue no: 6.1 | Issue date: 11.11.11 | Page: 1-25 UK Standards for Microbiology Investigations | Issued by the Standards Unit, Health Protection Agency
- Mallátová N, Hamal P, Kocmanová I., Buchta V., Mencl K. Testování citlivosti mikromycet k antimykotikům in vitro u imunosuprimovaných pacientů – doporučení odborníků s podporou CELL a SLM ČSL JEP. Postgraduální medicína 2011, 13,příloha č 5 www.postgradmed.cz**
- SUSCEPTIBILITY TESTING.** Issue no: 2 Issue date: 30.10.06 Issued by: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Page no: 2 of 38 Reference no: BSOP 45i2 www.evaluations-standards.org.uk, Email: standards@hpa.org.uk
- 51i1.1 www.evaluations-standards.org.uk Email: standards@hpa.org.uk
- INTRODUCTION TO THE PRELIMINARY IDENTIFICATION OF MEDICALLY IMPORTANT BACTERIA.** Issue no: 1.4 Issue date: 25.02.08 Issued by: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Page no: 2 of 16 BSOP ID 1i1.4 www.evaluations-standards.org.uk Email: standards@hpa.org.uk
- EXAMPLE REFERENCE STRAINS FOR NATIONAL STANDARD METHOD TEST PROCEDURES.** Issue no: 1 Issue date: 01.12.10 Issued by: Standards Unit, Department for Evaluations, Standards and Training Page: 1 of 10 BSOP TP 1i1 www.evaluations-standards.org.uk, Email: standards@hpa.org.uk
- Best practice approach on internal quality assurance,** Issued by: Standards Unit, Department for Evaluations, Standards and Training Page 1 – 14 QSOP 1 df www.evaluations-standards.org.uk, Email: standards@hpa.org.uk

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 23/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

11. **Clinical Microbiology Procedures Handbook**, 3rd Edition, Editor in Chief: Lynne S. Garcia, Book ISBN or Item Number: 978-1-55581-527-1,ASM Press2010
12. **Manual of Clinical Microbiology, 9th Edition** Edited by Patrick R. Murray, Ellen Jo Baron, James H. Jorgensen, Marie Louise Landry, and Michael A. Pfaller Washington, DC: ASM Press, 2007
13. **Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th Edition, Volumes 1 and 2** , Edited by Gerald L Mandell MD MACP, John E Bennett MD MACP, and Raphael Dolin MD. Published by Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005. ISBN 0-443-06643-4.
14. **Kucers' The Use of Antibiotics, 6th Edition.** Lead Editor M. Lindsay Grayson, ASM Press 2010
15. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2** [George M. Garrity](#) (Editor) 2005, ASM Press.
16. **The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria volume 3** [Martin Dworkin](#) (Editor), [Stanley Falkow](#) (Editor), [Eugene Rosenberg](#) (Editor), [Karl-Heinz Schleifer](#) (Editor), [Erko Stackebrandt](#) (Editor) Volume 3: Archaea. Bacteria: Firmicutes, Actinomycetes., 3rd edition, Springer 2006
17. **Molecular Microbiology, Diagnostic Principles and Practice.** Eds. Persing, Tenover, Versalovic, Tang, Unger, Relman, White, ASM press 2004
18. **Molecular Genetics of Bacteria. 3rd ed.** Snyder, Champnes. ASM press 2007
19. **Manual fo Environmental Microbiology. 3rd ed.** Hurst, Crawford, Garland, Lipson, Mills, Stetzenbach, ASM press 2007
20. **Infectious Diseases in Critical Care Medicine.** Burke A.Cunha, Marcel Dekker, 1998
21. **Antibiogram.** Courvalin, Leclecq, Rice. ASM press, Eska Publishing. 2010
22. **Antibiotics in Laboratory Medicine. 5th ed.** Victor Lorian. Lippincott, Williams and Wilkins 2005
23. **Prevention and Control of Nosocomial Infections. 3rd ed.** R.P.Wenzel. Lippincott, Williams and Wilkins 1997
24. **Hospital Epidemiology and Infection Control. 2nd ed.** CG Mayhall, Lippincott, Williams and Wilkins 1999

12. Definice, terminologie a zkratky

13. Související záznamy

[K_11 – Střevní laboratoř – hlášené kmeny](#)

[K_15 - Kniha hlášek a pravděpodobných nozokomiálních kmenů](#)

[K_16_Kmeny zaslané do NRL.](#)

[F_10 – Telefonická konzultace a hlášení neshod při příjmu vzorku](#)

[F_11 – Evidence šarží – reagencie](#)

[F_26 – ranní hlášení priorit](#)

[F_59 - Evidence šarží - půdy](#)

[F_59 - Evidence šarží – citlivosti](#)

[F_69 – Ranní vyočkování materiálu](#)

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 24/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------

	Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP	NSVP_3
Název: Základní mikrobiologické vyšetření komplexního vzorku stolice a výtěru z rekta metodou mikroskopickou a kultivační		
Verze: 1	Platné od: 30.7.2014	

14. Přílohy

Příloha č. 1 - KULTIVAČNÍ MÉDIA, PODMÍNKY A ORGANISMY

Příloha č. 2 - Přístroje a pomocná zařízení k vyšetření stolice

Příloha č. 3 – Reagencie

Příloha č. 4 - Algoritmus zpracování vzorku stolice

Verze: 1 Výtisk č.: 1	Zpracoval: MUDr. Josef Scharfen, CSc.	Kontroloval:	Schválil:	Str. 25/25 Změna str.: -
--------------------------	--	--------------	-----------	-----------------------------