



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Studies

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

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta
Katedra klinických a preklinických oborů

Bakalářská práce

Bakteriologické vyšetření nosu a nosohltanu a interpretace výsledků

Vypracovala: Nela Hoffmanová
Vedoucí práce: Prof. MUDr. Miloš Velemínský, CSc., dr.h.c.

České Budějovice 2016

Abstrakt

Cílem mé bakalářské práce je seznámení s bakteriologickými nálezy v nose a nosohltanu u onemocnění HCD a osvojit si metodiku odběru a zpracování klinických vzorků. Dále podpořit ev. vyvrátit tvrzení, že výtěr z nosu je pro diagnostiku infekcí HCD sporný, resp. nepřínosný. Posledním cílem je porovnat kultivační nálezy u "zdravých dětí" a dětí s infekcí HCD.

Teoretická část je zaměřena nejdříve na anatomii HCD, dále na běžnou mikroflóru nosu a nosohltanu a poté na patogeny způsobující respirační onemocnění. V poslední části se zabývám jednotlivými onemocněními.

Praktická část se věnuje preanalytické fázi, do které spadá transport a odběr vzorku. Poté zde popisuji analytickou fázi, kam řadím nečastější metody pro průkaz bakterií, jako např. kultivaci bakterií nebo mikroskopii. V další části uvádím několik biochemických testů možných k určení bakterií, identifikaci pomocí hmotnostní spektrofotometrie a stanovení citlivosti na antibiotika. Praktickou část jsem prováděla na oddělení mikrobiologie v laboratoři Stafila spol. s.r.o. pod odborným dohledem MUDr. Cihlové a pracovníků laboratoře.

Na konci mé bakalářské práce jsou zpracovány výsledky z výtěrů z nosu a nosohltanu a zpracovaný do tabulek. Zabývám se především výskytem nálezů v HCD, jejich změnou během 1 týdne a jednoho měsíce a také rozdíly v nálezech u nemocných dětí a dětí s jednotlivými diagnostikami

Klíčová slova: horní cesty dýchací, nos, nosohltan, bakterie

Abstract

Diseases in the upper respiratory tract and adopt the methodology of collecting and processing clinical samples. Further promote ev. refute the claim that the swab from the nose for diagnosing infections of the upper respiratory tract controversial, respectively. No value. The last objective is to compare the findings with the culture of "healthy children" and children with infections of the upper respiratory tract.

The theoretical part is focused initially on the anatomy of the upper respiratory tract, as well as the normal flora of the nose and throat, and then to pathogens causing respiratory diseases. In the last part I deal with various ailments.

The practical part is devoted to preanalytical phase, which includes transport and sampling. Then I describe the analytical stage to the delight of the most common methods for detection of bacteria, eg. Bacterial culture or microscopy. In the next section a number of biochemical assays possible to determine the bacteria identification by mass spectrophotometry and determination of sensitivity to antibiotics. The practical part was conducted at the department of microbiology at the lab Stafila al. Ltd. under the supervision of MD. Brick and laboratory staff.

At the end of my thesis presents the results of swabs from the nose and throat and processed into tables. I focus on the occurrence of infections in the upper respiratory tract, the change during one week and one month, and also the differences in findings for sick children and children with different diagnosis.

Keywords : upper respiratory tract , nose , nasopharynx , bacteria

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 15.8.2016

.....

Poděkování

Chtěla bych velmi poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce prof. MUDr. Miloši Velemínskému, CSc., dr. h. c., který mi předal spoustu cenných rad a vedl mou bakalářskou práci. Dále bych ráda poděkovala MUDr. Věře Cihlové a pracovníkům mikrobiologické laboratoře Stafila spol s.r.o. za ochotu, vstřícnost a pomoc při praktickém zpracování práce.

Obsah

Obsah.....	6
1 Úvod.....	8
2 Teoretická část.....	9
2.1 Anatomie dýchacích cest.....	9
2.1.1 Nos.....	9
2.1.2 Nosohltan.....	9
2.2 Popis mikrobiomu HCD.....	10
2.2.1 Rozdělení bakterií.....	10
2.2.2 Běžná mikroflóra HCD.....	10
2.2.3 Gram pozitivní koky.....	11
2.2.4 Gramnegativní koky.....	14
2.2.5 Gramnegativní tyčky.....	15
2.2.6 Ostatní patogeny způsobující infekce HCD.....	16
2.3 Onemocnění HCD.....	16
2.3.1 Respirační onemocnění.....	16
2.3.2 Zánětlivá onemocnění dutiny nosní a vedlejších nosních dutin.....	17
2.4 Bakteriologické vyšetření nosu a nosohltanu.....	19
2.4.1 Mikrobiologická diagnostika.....	19
2.4.2 Hmotnostní spektrofotometrie.....	22
3 Cíl práce a výzkumné otázky.....	23
4 Metodika výzkumu.....	24
4.1 Charakteristika zkoumaného souboru.....	24
4.2 Odběr vzorku a transport vzorku.....	24
4.3 Zpracování vzorků.....	25
4.3.1 Kultivace.....	25
4.3.2 Barvení dle Grama.....	25

4.3.3	Biochemické identifikační testy:	25
4.3.4	Diskový difúzní test – stanovení citlivosti mikrobů	30
5	Výsledky:.....	31
5.1	Celkový seznam bakteriologických nálezů v nose a nosohltanu u vyšetření:.....	26 31
5.2	Nálezy u zdravých pacientů	33
5.3	Nálezy u pacientů s diagnózou	34
5.4	Nálezy shodující se v nose i nosohltanu:	36
6	Diskuse	37
7	Závěr:.....	39
8	Seznam použité literatury:	40

1 Úvod

V mé bakalářské práci se zaměřuji na onemocnění horních cest dýchacích u dětí, které jsou velice časté. Původ onemocnění může být bakteriální, virový, alergický. Problémem zůstává zkušenost, že bakteriologické nálezy v nose a nosohltanu se často mění, takže jejich nálezy nejsou ideální pro indikaci terapie, především antibiotik. Důležitá je tedy správná diagnostika infekcí HCD.

V mém výzkumu jsou pozorovány děti různého věku, jak zdravý tak s jednotlivými diagnózami. U těchto dětí se prováděly 3 výtěry jak z nosu, tak nosohltanu. Druhý po 1 týdně a třetí po 1 měsíci.

Cílem mé práce je tedy provést bakteriologické vyšetření výtěrů ze sliznice nosu a nosohltanu. Zabývám se zde jednotlivými nálezy, jejich kultivací a četností výskytu.

2 Teoretická část

2.1 Anatomie dýchacích cest

Dýchací soustava nám slouží k okysličení krve a uvolňování CO₂, slouží k tvorbě a modulaci hlásek a napojuje se na ní čichové ústrojí. Rozděluje se na vlastní dýchací orgán a na cesty dýchací. Pomocí dýchacích cest můžeme převádět dýchací plyny mezi nosní dutinou a plicemi. Dýchací cesty rozdělujeme na horní, kam řadíme nos a nosohltan a dolní, které se skládají z hrtanu, průdušnice a průdušek. (2,5,13)

2.1.1 Nos

Nos rozdělujeme na nos zevní a vlastní nosní dutinu. V zevním nose najdeme zevní kůstky a chrupavky. Předsíň nosu je vystlána sliznicí krytou dlaždicovým epitelem s četnými chloupky. Za sliznicí začíná vlastní dutina nosní tvořená cyklickým řasinkovým epitelem. Přepážka je rozdělena na chrupavčitou a kostěnou část. Z bočních stěn vchází do nosní dutiny tři skořepy, které rozdělují nosní dutinu do tří průduchů. V horní části laterální stěny a septa je čichová oblast, kde se nachází čichové buňky, což jsou receptory vnímající v hlenu rozpuštěné pachové stopy. Ty jsou dále přenášeny vlákny čichového nervu, které procházejí dírkovanou ploténkou čichové kosti lebeční bází do mozku. (3,26)

2.1.2 Nosohltan

Nosohltan je nálevkovitého tvaru, navazuje na nosní dutinu a převádí vzduch z nosní dutiny do ústní části hltanu, neboli do místa křížení dýchacích a trávicích cest, a odtud do tzv. hrtanové části hltanu, který se otevírá směrem vpřed do hrtanu a směrem vzad do jícnu. Z boku do nosohltanu ústí pravá a levá Eustachova trubice. Spojuje nosohltan s dutinou středoušní. To umožňuje vyrovnání tlaku ve středouši s tlakem atmosférickým. Dále je i cestou šíření infekce z nosohltanu. Na zadní stěně se nachází hltanová mandle,

tvořená nakupenou mízní tkání. Mízní tkáň zachycuje a ničí mikroorganismy vyskytující se ve vdechovaném vzduchu. (9)

2.2 Popis mikrobiomu HCD

2.2.1 Rozdělení bakterií

Podle tvaru dělíme bakterie na 2 hlavní skupiny a to na kulovité nebo protáhlé. Kulovitým bakteriím říkáme koky a protáhlé nazýváme tyčinky. Tyčinky mohou mít různou délku. Krátké se značí jako kokobacily a protáhlé jako vlákna. Pod pojmem vibrio si představíme prohnutou tyčinku a pod spirochetou tyčinku spirálovitou. Vzhledem k uspořádání dělíme bakterie na diplokoky, což je dvojice koků a na koky v řetízcích po třech až dvaceti kocích.

Jako další rozdělení bakterií je brána klasifikace podle Gramova barvení. Bakterie podle tohoto barvení dělíme na gram pozitivní, který se barví do modra a gram negativní zbarvující se do červena.

Posledním rozdělení spočívá ve vztahu bakterií ke kyslíku. Patří sem aerobní bakterie, který kyslík k životu potřebují, anaerobní rostoucí bez přítomnosti kyslíku a fakultativně aerobní, ty dokáží růst bez přítomnosti kyslíku, avšak jeho přítomnost je výhodou. (17,19)

2.2.2 Běžná mikroflóra HCD

Horní cesty dýchací bývají osídleny spoustou bakterií, které jsou často považovány jako součást normální mikroflóry, někdy mohou být původci zánětu. (Kuchynková) V nose může být poměrně často přítomen *Staphylococcus epidermidis* a někdy nepatogenní difteroidy. Běžný je však v nose i patogenní *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* a *Streptococcus pneumoniae*. V nosohltanu brání v usídlení

patogenů viridující streptokoky. Mezi další zástupce běžné mikroflory nosohltanu se dají zařadit nepatogenní druhy rodů *Neisseria* a *Haemophilus*, difteroidy a koagulasanegativní stafylokoky. Avšak z krku můžeme izolovat i patogeny jako *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus*, *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis* nebo *Neisseria meningitidis*. (17)

2.2.3 Gram pozitivní koky

2.2.3.1 Rod *Staphylococcus*

Stafylokoky řadíme mezi grampozitivní koky o průměru přibližně 1 μm , které jsou uspořádané ve shlucích. Tvar mají hroznů. Dá se říci, že netvoří spory, bičíky a obvykle ani pouzdra. Bývají fakultativně aerobní. Katalasa je pozitivní a oxidasa, negativní. Jsou součástí komenzální flory a mohou být potenciálně patogenní. Nejvýznamnějším původcem infekcí člověka je *S. aureus*, který produkuje řadu faktorů virulence. Způsobuje běžné povrchové kožní infekce, ale také systémové infekce, které mohou ohrožovat život. Stafylokoky patří k velice rezistentním k řadě antibiotikům a jsou častým původcem nemocniční nákazy. Dále jsou rezistentní do značné míry k nepříznivým vlivům zevního prostředí. Odolávají zahřátí na 55 ° C po dobu 30 minut a vyšším koncentracím NaCl. Fakultativně anaerobní stafylokoky dobře rostou na obyčejném živném agaru, stejně jako na agaru se srdečnou a mozkovou infuzí, případně s ovčí nebo hovězí krví. Vyrůstají do 24 h při inkubaci v 37 °C. (1,8,17)

2.2.3.1.1 *Staphylococcus aureus*

Zlaté stafylokoky patří mezi pravidelně kulaté grampozitivní koky a průměru přibližně 1 μm . Dochází ke shlukování do hlouček. Stafylokoky dobře rostou na běžných půdách. Kolonie bývají větší, plošší a pigmentované. Pigment je smetanový až krémový a často

nazlátlý. Kolem kolonií vzniká beta-hemolýza. *S. aureus* má velký počet faktorů virulence, které můžeme dělit na povrchové a extracelulární. Na povrchu buňky je to např. peptidoglykany buněčné stěny a mezi extracelulární patří enzymy a toxiny. Ke stafylokokovým toxinům patří nejčastěji cytolyziny, enterotoxiny, toxin syndromu toxického šoku a exfoliatiny. *S. aureus* je původcem nejčastěji kožních onemocnění, jako například furunkl, karbunkl, impetigo, panaricium, případně mastitida nebo infekce ran. U orgánových postižení dochází k osteomyelitidě, bronchopneumonii, endokarditidě a sepsi. V dýchacím traktu způsobuje sinusitidy a u starších osob často smrtelné pneumonie a bronchopneumonie, které nasedají a infekci virem chřipky. (Votava, 2010) Nejčastěji se setkáváme s kmeny rezistentními k penicilinu. Rezistence bývá nejvíce kódována plazmidy, nesoucími informace pro tvorbu peniciliázy, která hydrolyzuje beta laktamový kruh penicilinových antibiotik. Dále se můžeme také doházet k rezistenci k penicilináza-rezistentním penicilínům (MRSA). (1,12,17)

MRSA - Meticilin-rezistentní kmeny *Staphylococcus aureus*.

Tento typ rezistence se kóduje chromozomálně. MRSA kmeny nacházíme ve zdravotnických zařízeních jako původce nebezpečných nozokomiálních infekcí. Jsou rezistentní nejen na všechny beta- laktamy, ale i na většinu dalších antibiotik. (29)

2.2.3.2 Rod *Streptococcus*

Streptokoky jsou grampozitivní kataláza negativní koky, které tvoří řetízky. Patří především mezi fakultativně anaerobní a růst některých bývá podporován CO₂. Těm říkáme kapnofilní. Vyskytují se jako komenzálové sliznic, jsou součástí běžné flóry zejména v dutině ústní, horních cestách dýchacích, mohou kolonizovat vaginální sliznici a osidlují zažívací trakt. Podle hemolýzy na krevním agaru je můžeme dělit na alfa viridující, kde je neúplná hemolýza a hemoglobin se mění na verdoglobin zelené barvy.

Druhým typem je beta-hemolýza, která se projevuje odbarvením erytrocytů a pokud se krevní agar v okolí hemolytické kolonie úplně zbarví, dá se říci, že je to úplná hemolýza. Pokud půda zůstane zakalená, dochází k neúplné beta-hemolýze. Za gama-hemolýzu označujeme kmen streptokoka, který vůbec nehemolyzuje. (1,17)

2.2.3.2.1 *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes patří mezi β hemolytické streptokoky ze skupiny A. Na krevním agaru roste v drobných koloniích s výraznou zónou β hemolýzy (úplná hemolýza). Tvar je kulatý až lehce protáhlý grampozitivní kok, o poznání drobnější než stafylokok. Tvoří dvojice až řetízky a některé kmeny obsahují pouzdra z kyseliny hyaluronové. *S. pyogenes* řadíme do fakultativně anaerobních. Kataláza i oxidáza jsou negativní. Snadno odolává vyschnutí. Pro člověka je primárně patogenní. V mírném pásmu převažují infekce respiračního traktu a v teplých oblastech spíše kožní infekce. Dále může způsobovat faryngitidu, spálu, infekce kůže a podkoží, systémové infekce a streptokokový toxický šok. Nejběžnější antibiotická léčba se zahajuje pomocí penicilinu. (1,7,17,28)

2.2.3.2.2 *Streptococcus pneumoniae*

Pneumokoky se nachází nejčastěji ve dvojicích grampozitivních koků protáhlého lancovitého tvaru. Tento druh je růstově velice náročný, roste aerobně, ale někdy také vyžaduje anaerobní prostředí. Roste v koloniích na krevním agaru a za anaerobních podmínek tvoří β hemolýzu. Důležité u virulence je polysacharidové pouzdro, které chrání před fagocytózou. Přibližně jedna desetina zdravých dospělých a až dvě třetiny dětí mohou být nosiči pneumokoků v nosohltanu. Pneumokoky z nosohltanu se dále mohou do vedlejších dutin nebo Eustachovou trubicí do středního ucha a odtud je možné proniknutí do bradavčitého výběžku kosti spánkové a na mozkové pleny. *S. pneumoniae* je rezistentní na penicilin. (1,17)

2.2.4 Gramnegativní koky

2.2.4.1 Rod *Neisseria*

Mezi patogenní druhy patří *Neisseria gonorrhoeae* a *Neisseria meningitidis*. Nepatogenní neisserie můžeme nalézt na sliznicích trávicího traktu a považují se za normální mikroflóru. Neisserie se řadí do skupiny gramnegativních diplokoků. Mají tvar kávového zrnka. (12)

2.2.4.1.1 *Neisseria meningitidis*

Neisseria meningitis je gramnegativní lehce zploštělý kok. Meningokok roste nejčastěji na čokoládovém agaru, ale za předpokladu vyšší koncentrace CO₂, může vyrůst i na bohatších variantách krevního agaru. Špatná odolnost vůči vysokým a nízkým teplotám. Meningokoky často bývají součástí sliznic faryngu u zdravých osob a nezpůsobují potíže, nebo naopak mohou způsobovat meningokovou sepsi, což je onemocnění, které začíná bolestmi hlavy, zvýšenou teplotou, případně horečkou a ztuhlostí šíje. (12,17)

2.2.4.2 Rod *Bordetella*

Bordetely řadíme mezi jemné, ovoidní, gramnegativní kokobacily. Často mohou připomínat hemofily. Osídlují řasinky epitelu v dýchacích cestách. Jako lidské patogeny považujeme *Bordetella pertusis* a *parapertussis*. Tyto dva druhy jsou původci dávivého kašle. Přenáší se kapénkově. Během 7- 10 dnů inkubace vznikají první klinické příznaky. Nejdříve onemocnění připomíná nachlazení se zvýšenou teplotou. Po 1-2 týdnech dochází u pacienta k velkým záchvatům kašle a po 2- 4 týdnech se počty záchvatů začínou snižovat, ale mohou se objevovat sekundární komplikace. Bordetely jsou citlivé na erytromycin.(1,17)

2.2.5 Gramnegativní tyčky

2.2.5.1 Rod *Haemophilus*

Tento rod patří do skupiny drobných gramnegativních aerobních tyčinek, které netvoří spory a jsou nepohyblivé. Rostou pouze na obohacených kultivačních půdách, obsahující krev nebo její deriváty. Většinou jsou součástí normální mikroflóry nosohltanu. (1,17)

2.2.5.1.1 *Haemophilus influenzae*

Z devíti popsaných typů hemofilů je tento nejvýznamnější. Je to gramnegativní až kokobacilární mikrob. Neroste na krevním agaru, potřebuje zvláštní kultivaci. Potřebuje pro růst hemin (faktor X) a NADH(faktor V). Na krevní agar ho naočkujeme např. vedle stafylokoka, který ho faktorem V zásobí. Na půdách vyrůstají v malých koloniích opouzdřené virulentní kmeny. Patří k poměrně choulostivým bakteriím, kterým vadí zejména vyschnutí a chladničková teplota, proto se uchovávají zmražené v médiích s glycerolem a sérem. Faktorem virulence je polysacharidové pouzdro. U dětí v nosohltanu nacházíme neopouzdřené kmeny. Nemoci způsobené *H. influenzae* jsou epiglottis a obstrukční laryngitis. U dětí i dospělých se vyskytují jako komplikace virových onemocnění, především chřipky. Avšak nejzávažnějším onemocněním v dětském věku je meningitis.(1,12)

2.2.6 Ostatní patogeny způsobující infekce HCD

2.2.6.1 *Mycoplasma pneumoniae*

Mycoplasma pneumoniae patří mezi drobné beztvare bakterie, které se slabě dle Grama jako gramnegativní. Kultivuje se jen na speciálních půdách, nejčastěji na sérovém bujONU s kvasničným extraktem, glukosou a penicilinem G. Tyto bakterie se přenáší velice snad při těsném kontaktu s nemocným. *M. pneumoniae* je původcem primární atypické pneumonie u dětí i dospělých.(12,17)

2.2.6.2 *Chlamydia pneumoniae*

Tato bakterie se řadí mezi respirační patogeny, které vyvolávají *bronchitidy*, *pneumonie* a *sinusitidy*. Infekce se nejčastěji objevují v kolektivech mladých lidí a povětšinou probíhají vcelku lehce. Přenáší se přímým kontaktem nebo kapénkovou infekcí. (17)

2.3 Onemocnění HCD

2.3.1 Respirační onemocnění

Respirační infekce řadíme zejména u dětí mezi nejčastější infekce, s nimiž se praktický lékař setkává ve své ordinaci. Dýchací trakt je ideálním místem pro množení virů a bakterií. Často se přenášejí v kolektivech a mohou se objevit v podobě epidemií. Tři čtvrtiny respiračních infekcí vyvolávají viry. Klinická manifestace i etiologie

respirační nákazy závisí na její lokalizaci v dýchacím traktu. Rozdělujeme infekce horních dýchacích cest a dolních dýchacích cest. Jako hranici dolních a horních cest dýchacích bereme buď úroveň hlasových vazů, nebo úroveň bifurkace trachey. Je potřeba, aby respirační trakt měl mechanismy obrany a ochrany před infekcemi. Řadí se k nim hlavně vlastnosti a funkce sliznic, jako pohyb řasinek, produkce hlenu, sekrece protilátek IgA, přítomnost normální mikroflóry, kašlicí reflex a funkce buněčné imunity. Infekce dýchacích cest vzniká po překonání kapacity obranných mechanismů virulencí nebo množstvím mikrobů. Dále může vznikat poruchou slizniční ochrany. (11,16)

2.3.2 Zánětlivá onemocnění dutiny nosní a vedlejších nosních dutin

Akutní záněty jsou nejčastěji virového původu, méně často pak vznikají jako primárně bakteriální záněty. Mohou dále vznikat i po přetížení neadekvátní teplotou, chemickými vlivy a alergeny. S nosní sliznicí bývá postižena také sliznice nosohltanu a pak tedy hovoříme o rinofaryngitidě nebo prudkém kataru horních cest dýchacích.(6)

2.3.2.1 Rinitida (akutní rýma)

Akutní rýma patří mezi onemocnění vyvolané především virovou infekcí, jako např. rinoviry, reoviry, viry influenzy a parainfluenzy, RS viry a dalšími. Přenáší se kapánkovou infekcí a její inkubační doba je v rozmezí 1 až 4 dnů. Z bakterií se na akutní rhinitidě nejvíce podílí *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pneumoniae*. Již zmíněné mikroby, především zlatý stafylokok, se mohou nacházet i v nosní dutině nebo nosní mandli zdravých osob. Bakteriologické vyšetření může poskytnout nápovědu o etiologii sekundární bakteriální infekci. První fáze příznaků je provázena únavou, malátností, a bolestmi hlavy. Nastupuje další stádium s nosní obstrukcí, vodnatou sekrecí, rinolalií, svěděním a zhoršením čichu. Průběh trvá okolo jednoho týdne. Toto onemocnění se může vyskytovat jako samostatné nebo může být součástí klinického obrazu jiné nemoci.(4,16)

2.3.2.2 Sinusitida (zánět vedlejších nosních dutin)

Sinusitidou označujeme zánětlivé onemocnění sliznice paranazálních dutin. U čelistních dutin mohou být sinusitidy odontogenního původu a dále se mohou infekce šířit hematogenně či traumaticky. Dělíme je na akutní, které trvají do 4 týdnů. Na akutní navazuje subakutní a při záněty trvajícím déle jak 12 týdnů hovoříme o chronické sinusitidě. Pokud dojde k postižení více dutin na stejné straně, jedná se o pansinusitidě. Hlavními příznaky jsou horečka, únava, bolesti hlavy. U dětí se setkáváme s nauzeou a zvracením. Podle dutiny, do které zánět proniká, je rozdělujeme na sinusitis frontalis, vyskytující se u dětí od 6. roku věku až do dospělosti a projevuje se nejčastěji bolestmi hlavy v čele. Ve školním věku je nejčastější sinusitis maxillaris, která je doprovázena pokleповou bolestí nad dutinou. Pro sinusitis sphenoidalis je typická bolest za okem a slzení očí. Vyskytuje se od 9. roku. S přítomností bolesti za kořenem nosu, mluvíme o sinusitis ethmoidalis, ta se vyskytuje u nejmenších dětí. Pokud je postiženo více sinusů, zánět může přejít do chronicity nebo se může zkomplikovat přestupem do orbity. Dochází ke vzniku orbitocellulitis acuta, při kterém vzniká zánět v řídkém pojivu víček a očníce.(4,14)

2.3.2.3 Nasofaryngitida (zánět nosohltanu), Faryngitida (zánět hltanu)

Tyto dvě onemocnění se nejčastěji projevují pálením nosohltanu, bolestí vystřelující do ucha, škrábáním v krku, dysfagií, nutkavým odkašláváním a hnisavou sekrecí s tvorbou čepů. Při hyperplazii nosohltanové mandle dochází ke zhoršení dýchání. Patří mezi velmi častá dětská onemocnění. Při těchto potížích dochází ke snížené průchodnosti až neprůchodnosti vdechovaného a vydechovaného vzduchu nosem, důsledek je dýchání otevřenými ústy. Nejběžnější je to v noci, kdy člověk chrápe, má přerušovaný spánek a pocit plného nosu. Pokud mandle utlačuje Eustachovu trubici, může dojít k nedoslýchavosti, poruchám spánku a únavě. (10,14)

2.3.2.4 Tonzilitida (zánět krčních mandlí)

Akutní tonzilitida je onemocnění vyvolané především streptokoky, v druhé řadě jinými bakteriemi a viry. Nemoc ohrožuje peritonzilární flegmonou a abscesem. Mívá často sterilní následky, jako je poststreptokoková glomerulonefritida nebo revmatická horečka. Mezi symptomy patří bolest v krku, horečky, malátnost, bolest celého těla. (11,30)

2.3.2.5 Laryngitida (zánět hrtanu)

Zánět hrtanu je onemocnění postihující především děti. Nejčastěji je způsoben virovou infekcí, která současně vyvolává zánět nosohltanu a rýmu. Mezi patogeny z řad bakterií patří *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus haemolyticus* a *Haemophilus influenzae*. Průběh nemoci je doprovázen pocitem sucha a bolestmi v krku, tlakem na hrudi. Dochází k projevům kašle a chraptu. Častým problémem mohou být stenozující záněty, ohrožující člověka na životě. (15)

2.4 Bakteriologické vyšetření nosu a nosohltanu

2.4.1 Mikrobiologická diagnostika

Mikrobiologická diagnostika se provádí, pokud máme podezření na infekční etiologii onemocnění. Tuto diagnostiku provádíme ve specializovaných laboratořích, které mají potřebnou techniku pro přímý a nepřímý průkaz. (17)

2.4.1.1 Přímý průkaz

Přímá diagnostika ukazuje na přítomnost mikroorganismu nebo jeho složek, jako jsou např. části genomu a antigenu nebo exoproduktů, kam můžeme zařadit toxiny. Přímý průkaz dokazuje přítomnost v makroorganismu, neříká však o existenci mikroba v etiopatogenezi. Identifikovaný mikroorganismu je původcem infekčního onemocnění, ale může také osídlit příslušné lokality bez vyvolané infekce nebo kontaminovat. Mezi metody přímého průkazu řadíme mikroskopii, kultivaci, průkaz antigenu, průkaz DNA a další metody. (8,11)

2.4.1.2 Kultivační průkaz

Kultivace bakterií je pomnožování mikrobů v umělém prostředí. Toto prostředí musí splňovat podmínky pro jejich metabolismus a růst. K podmínkám pro růst patří dostatek vody, živin a zdrojů energie, dále optimální teplota a pH, vhodné složení atmosféry a osmotický tlak, ochrana před zářením a sterilita prostředí. Aby byly tyto podmínky splněny, mikrobi se pěstují na kultivačních půdách. Důležité pro kultivaci je správný odběr a šetrný transport do mikrobiologické laboratoře. Pro nejvíce patogenních mikroorganismů je vhodná teplota 35- 37°C. Aby byla bakteriologická diagnostika správná, musí se zvolit příslušné kultivační médium a izolovat bakteriální kmen na čistou kulturu. Mikroby se dají pěstovat na pevném nebo tekutém médiu, většinou tvořené obyčejným agarem, krevním agarem, z tekutých půd bujónem nebo játrovým bujónem. Pro pomnožení se volí převážně tekuté půdy. Na tuhých půdách po správném rozočkování po povrchu půdy můžeme po dané inkubaci vidět jednotlivé kolonie. (1,19,20)

Půdy používané pro kultivaci bakterií nosu a nosohltanu

Krevní agar

Tento typ patří k nejběžnějším půdám klinické mikrobiologie. K agarovému základu je přidána ovčí krev. Pro lepší kultivaci náročnějších bakterií se k agarovému základu dále přidávají peptony, škrob, glukosa apod. (17)

Čokoládový agar

Vzniká přidáním krve do horkého agaru. Nejlépe na něm rostou meningokoky a hemofily. (17)

2.4.1.3 Mikroskopie

Pomocí mikroskopické metody studujeme morfologii bakterií. Mikroskopické vyšetření barevných nebo nebarevných preparátů vzorků se považuje za rychlou a jednoduchou metodu, pokud vzorek obsahuje velké množství mikrobů, které jsou v nátěru vidět. Velmi užitečné pro základní rozdělení mikrobů podle reakce na barvení a tvaru je Gramovo barvení.

Tímto barvením jsme schopni rozdělit bakterie na G⁺ a G⁻. Gram pozitivní bakterie se zbarvují do modra a gram negativní pozorujeme jako červené. Barevná odlišnost je způsobena rozdílnou stavbou bakteriální stěny. Během barvení dochází ke vzniku komplexu krystalové violeti s jódem. Vzniklý komplex se působením alkoholu z buňky u gramnegativních bakterií rychle vyplaví, naopak u grampozitivních může toto odbarvování trvat mnohem déle. (19,20)

2.4.2 Hmotnostní spektrofotometrie

Tato spektrofotometrie spočívá v rozdělení nabitých částic podle jejich hmotností molekul při působení elektrického a magnetického pole. Ionizací laserovými paprsky můžeme určit i velké molekuly, jako jsou například molekuly proteinů. U nás se používá MALDI-TOF, která je na principu laserové ionizace za přítomnosti matrice a detektor doby letu. Po nalezení specifických bílkovin kmenu se porovnají touto metodou s databází mikrobů a nález se vyhodnotí. Tato metoda patří k velice přesným. Jedinou nevýhodou je to, že se musí pracovat s čistým izolovaným kmenem.

Pomocí dřevěného párátko se nabere část kolonie, která se vloží do přístroje. Analýzu jednoho vzorku máme hotovou během 30 sekund. Na jednu destičku se vejde 48 až 96 vzorků. (12,17)

3 Cíl práce a výzkumné otázky

Cíle bakalářské práce:

1. Zjistit bakteriologické nálezy v nose a nosohltanu u zdravých jedinců.
2. Podpořit ev. vyvrátit tvrzení, že výtěr z nosu je pro diagnostiku infekcí HCD sporný, resp. nepřínosný.
3. Seznámit se s metodikou odběru a zpracování klinických vzorků z nosu a nosohltanu preanalytické i analytické práci
4. Srovnání kultivačních nálezů "zdravých dětí" a dětí s infekcí HCD.
5. Zjistit citlivost na antibiotika u jednotlivých kmenů.

Výzkumné otázky:

1. Jak se mění bakteriologické nálezy v nose a nosohltanu v průběhu 1 týdne?
2. Jaký je rozdíl v bakteriologických kultivačních nálezech v nose a nosohltanu v průběhu 1 měsíce?
3. Jak lze hodnotit výsledky výtěrů z nosu ve vztahu k diagnostice infekce HCD?

4 Metodika výzkumu

4.1 Charakteristika zkoumaného souboru

Veškeré potřebné vzorky k vypracování mé bakalářské práce byly odebrány od pacientů z jedné pediatrické ordinace. Bylo vyšetřeno 21 dětí s diagnosou zánětu nosohltanu a 2 s tonzilitidou. Sedm dětí bylo zdravých, žádné z nich nedostávalo antibiotikum. Všechny 26 vzorků bylo dále zpracováno v mikrobiologické laboratoři Stafila spol. s.r.o. Vzorky byly odebírány pacientům během června a července 2016. Prováděly se u každého pacienta vždy 3 odběry. Druhý odběr probíhal po týdnu a třetí vždy po měsíci. Výzkum začínal na 53 vzorcích, avšak pro nespolupráci pacientů jsem 3 nutných odběrů dosáhla pouze u 26 pacientů.

4.2 Odběr vzorku a transport vzorku

Obvykle se odebírá materiál z horních cest dýchacích při podezření na akutní respirační onemocnění. Nejčastěji se sem řadíme faryngitidy, tonsilitidy a rhinitidy. (17)

Při výtěru z nosu jsem použila tampon na špejli, kterou zavádíme do obou nosních průduchů zhruba do 1 cm hluboko.

K výtěrům z nosohltanu mi také sloužil tampon na špejli. Po stlačení jazyka špachtlí se zavede tampon na měkké patro a oťreme sliznici nosohltanu. Poté odebraný vzorek zasuneme do zkumavky. (18)

Vzorky s odebraným materiálem se transportují pomocí zanoření tamponů do transportní půdy Amies.

4.3 Zpracování vzorků

4.3.1 Kultivace

Vzorky z nosu i nosohltanu vytřené tamponem na špejli, jsem rozočkovala na zhruba ½ krevního agaru, abych získala čistou kulturu. Naočkované agary jsem vložila do termostatu na 37 °C na 24 hodin. Druhý den ráno lékař odečetl nález. Dále jsem si vyzkoušela při výskytu kolonií pod odborným dohledem konkrétní navržené identifikační testy a stanovení citlivosti diskovým difúzním testem. Plotny jsem znovu vložila do termostatu na dalších 24 hodin při 37 °C.

4.3.2 Barvení dle Grama

Na sklíčko jsem nanasla tamponem daný vzorek, nechala ho zaschnout a nakonec zafixovala plamenem. Dále jsem postupovala podle návodu.

Nejprve jsem preparát barvila krystalovou violetí asi 1 minutu a následně použila na opláchnutí po dobu 1 minuty Lugolův roztok. Preparát jsem dále proplachovala acetonem, dokud nebyla spláchnuta modrá barva a poté ještě propláchla pod tekoucí vodou. Asi 1 minutu jsem dobarvovala preparáty karbolfuchsinem. Znova propláchla vodou a usušila. Preparát jsem si prohlédla pod mikroskopem, který měl zvětšení 1000x.

4.3.3 Biochemické identifikační testy

4.3.3.1 Test Katalása

Tento test bývá pozitivní většinou u neisserií, stafylokoků a korynebakterií a negativní mi vycházel u streptokoků. Na sklíčko jsem pomocí sterilní kličky dala kolonii a zakápla 3 % roztokem peroxidu vodíku. Pozitivitu jsem poznala pomocí uvolnění bublinek O₂. Vše jsem prováděla pod kontrolu zkušeného pracovníka.

4.3.3.2 Test oxidáza

Pozitivní je tento test především pro neisserie, *Moraxellu catarrhalis*, pseudomonády a vibrie. Negativita pak vzniká u streptokoků a stafylokoků. Proužek s testovacím polem jsem přiložila na vyrostlou kolonii a po chvílce sledovala změnu barvy. Při pozitivním výsledku bylo zbarvení do modra.

4.3.3.3 PYR- test

Slouží k potvrzení *Streptococcus pyogenes*. Nejprve jsem otiskla kolonii na tetsovací proužek. Po zhruba 5 minutách zakápla činidlem a po pár minutách jsem hodnotila barvu. Červená barva značila pozitivitu.

4.3.3.4 CAMP- test

CAMP- test se používá pro určení *Streptococcus agalactiae*. Na krevní agar jsem naočkovala několik čar testovacího kmene a poté k nim naočkovala kolmo čáru *St. aureus*. Pokud mi na krevním agaru vznikly okolo čáry destičky, výsledek byl pozitivní

Obrázek č. 1 pozitivní CAMP-test (vlastní zdroj)



4.3.3.5 Test rozpustnosti ve žluči

Tento test se používá k rychlému a snadnému rozeznání *Streptococca pneumoniae* od viridujících streptokoků. Princip tohoto testu spočívá v rozpustnosti *S. pneumoniae* v deoxycholátu sodném. Co se týče viridujících streptokoků, ty se působením deoxycholátu sodného nezmění.

Jako první jsem do dvou zkumavek přidala 0,5 ml fyziologického roztoku. Poté jsem sterilní kličkou nabrala část narostlých kolonií a kličku promíchala v připravených zkumavkách se sterilními roztoky. To jsem opakovala, dokud nám nevznikl zákal 2 McFarlanda. Do jedné ze zkumavek jsem přidala 3 kapky deoxycholátu sodného a druhá mi sloužila jako kontrolní, tu jsem si popsala a deoxycholát jsem již nepřidávala. Obě zkumavky jsem nechala inkubovat po dobu 30 minut a 37°C v termostatu.

Po 30 minutách jsem zkumavky vyndala z termostatu a pozorovala jejich zákal. Ani u jedné ze zkumavek nebyl vidět jasný zákal a tak se dalo říci, že se nejedná o pneumokoka.

4.3.3.6 Optochinový test

Tímto testem můžeme rozlišit *S. pneumoniae* od viridujících streptokoků. Pomocí sterilní kličky jsem nabrala kolonii z půdy a naočkovala jí běžným způsobem na krevní agar. Doprostřed inokula jsem přiložila disk optochinu a nechala inkubovat při 37°C do druhého dne. Pokud byla okolo optochinu zóna inhibice dala se říci, že se jedná o pneumokoka. Hodnotí se podle typu disků a jeho průměr bývá ≥ 10 mm.

4.3.3.7 STREPTOtest 24

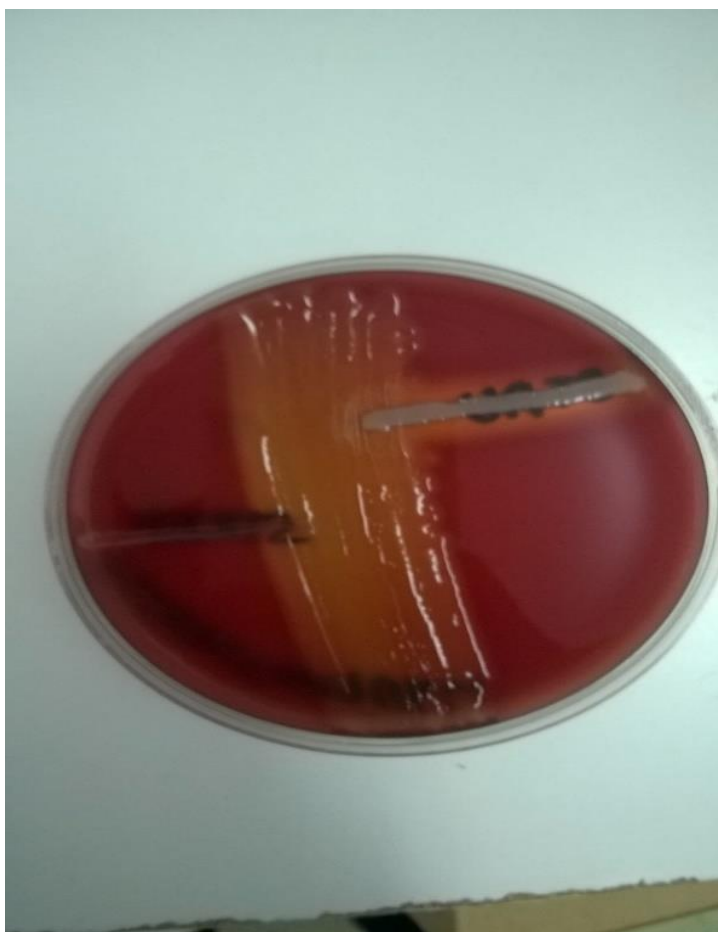
STREPTOtest 24 nám umožňuje identifikovat rod *Streptococcus* a *Enterococcus*. Tento test je tvořen destičkou o 24 jamkách (značené 1-3 a H-A). Nejdříve jsem si připravila suspenzi 3 ml fyziologického roztoku a narostlé kultury o zákalu 2- 2,2 McFarlanda. Mikropipetou jsem napipetovala 100 mikrolitrů připravené suspenze do prvních řady svislých a první řady podélných jamek. Jako další krok jsem napipetovala 1,5 ml připravené suspenze do suspenzního média, které je součástí sady STREPTOtest. Připravenou suspenzi s médiem jsem následně přidala do zbylých jamek. Nakonec jsem do jamek 3H a 3G přidala parafinový olej. Destičku jsme přikryla víčkem a vložila ji do sáčku ze sady. Sáček jsem dala inkubovat do druhého dne při 37°C. Výsledek jsem zaznamenala do formuláře a odečetala zbarvení podle barevné srovnávací stupnice.

4.3.3.8 Test hyaluronidasa

Tímto testem jsme schopni rozlišit *Staphylococcus aureus* od ostatních kmenů rodu *Staphylococcus*. Na krevní agar jsem si pomocí kličky udělala silnou čáru streptokoka

equi a kolmo na tuto čáru jsem udělala další čáru bakterie, kterou jsme měli vykultivovanou. Pokud se okolo čáry objeví půlkruhová zóna, můžeme říci, že se jedná o *Staphylococcus aureus*.

Obrázek č. 2 Test Hyaluronidasa (vlastní zdroj)



4.3.3.9 Test plasmakoagulása

Test plasmakoagulása slouží k identifikaci *Staphylococcus aureus*. Pomocí enzym koagulázy dochází ke koagulaci fibrinu z plazmy. Test jsem prováděla tak, že jsem na podložní sklíčko dala kapku plazmy a sterilní kličkou přimíchala testovanou kultur

4.3.3.10 STAPHY test 24

Tento test nám slouží k identifikaci druhů rodu *Staphylococcus*. Jako první jsem si připravila suspenzi z fyziologického roztoku a čisté kultury o zákalu 2 McFarlanda. Dále jsem si vzala pipetu, kterou jsem si nastavila na objem 100 ml a suspenzi napipetovala do každé jamky, kterých připravená kazeta ze soupravy obsahuje 24. Do jamek F,G,H v prvním řádku jsem ještě přidala 2 kapky parafinového oleje. Destičku jsem zakryla víčkem, vložila do sáčku a dala inkubovat do druhého dne na 37 °C. Výsledky se hodnotí podle barevné srovnávací stupnice.

Obrázek č. 3 STAPHY test 24(vlastní zdroj)



4.3.4 Diskový difúzní test – stanovení citlivosti mikrobů

Kličkou jsem nabrala kolonii a přenesla jí do zkumavky ze sterilní fyziologickým roztokem, obsah jsem promíchala na vortexu, tak aby zákal dosahoval hodnoty 0,5 McFarlanda. U bakterií jsem získanou suspenzi rozlila na celou plotnu půdy Mueller-Hintonova agaru a přebytek slila do odpadní nádoby. Pinzetou jsem na povrch půdy pokládala papírové disky nasycené potřebnými antibiotiky. Inkubace probíhala 18- 24 hodin při teplotě 37°C

5 Výsledky:

Výsledky jsem získala z databáze mikrobiologické laboratoře Stafila spol. s.r.o. v Českých Budějovicích. Výtěry s nosu a nosohltanu a dále jejich zpracování v laboratoři byly prováděny u zdravých dětí a dětí s diagnózami různého věku. Výsledný zkoumaný soubor obsahuje 26 vzorků, kde byly získány všechny 3 potřebné výtěry.

5.1 Celkový seznam bakteriologických nálezů v nose a nosohltanu u 26 vyšetření:

Tabulka č. 1

Bakteriologické nález v nose	Počet	Procenta
<i>Staphylococcus aureus</i>	28	35,9%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4	5,1%
<i>Haemophilus influenzae</i>	3	3,8%
<i>Streptococcus viridans</i>	3	3,8%
<i>Escherichia coli</i>	1	1,3%
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1	1,3%

Tabulka č. 2

Bakteriologické nálezy v nosohltanu	Počet	Procenta
<i>Streptococcus viridans</i>	72	92,3%
<i>Neisseria spp.</i>	70	89,7%
<i>Candida spp.</i>	14	17,9%
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	7	8,9%
<i>Candida albicans</i>	7	8,9%
<i>Haemophilus influenzae</i>	4	5,1%
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	5,1%
<i>Enterobacter</i>	3	3,8%
<i>Echerichia coli</i>	2	2,6%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	1,3%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	1,3%
<i>Citrobacter spp.</i>	1	1,3%
<i>Acinetobacter spp.</i>	1	1,3%
<i>Streptococcus beta haemolyticus</i>	1	1,3%

5.2 Nálezů u zdravých pacientů (7)

Soubor výsledků zdravých jedinců byl tvořen 7 dětmi, u kterých se odebíraly vždy 3 výtěry z nosu a nosohltanu. Druhý výtěr probíhal po týdnu a třetí vždy po měsíci. V nose vycházely výsledky především negativní, avšak běžně se zde objevoval také *Staphylococcus aureus*. K nejběžnějším nálezům nosohltanu patří *Streptococcus viridans* a *Neisseria spp.*.

Tabulka č. 3

Nálezů nos	Počet	Procenta
<i>Negativní</i>	11	52,4%
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	42,9%
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	4,8%

Tabulka č. 4

Nálezů nosohltanu	Počet	Procenta
<i>Streptococcus viridans</i>	21	100%
<i>Neisseria spp.</i>	20	95,2%
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	19,0%
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	3	14,3%
<i>Enterobacter</i>	1	4,8%
<i>Candida spp.</i>	1	4,8%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	4,8%
<i>Candida albicans</i>	1	4,8%
<i>Citrobacter spp.</i>	1	4,8%

5.3 Nálezů u pacientů s diagnózou (19)

U pacientů s diagnózou byl můj výsledný soubor tvořen 19 dětmi. Opět byly provedeny 3 výtěry z nosu a nosohltanu, tudíž konečný počet všech výtěrů dosahoval 57. U nosu opět bylo nejvíce výsledků negativních a u nosohltanu převažovala běžná mikroflóra tvořená *Streptococem viridans* a *Neisserii spp.*

Tabulka č. 5

Nález v nose	Počet	Procenta
Negativní	27	47,4%
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	33,3%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4	7,0%
<i>Streptococcus viridans</i>	3	5,3%
<i>Haemophilus influenzae</i>	2	3,5%
<i>Escherichia coli</i>	1	1,8%
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	1,8%

Tabulka č. 6

Nálezy v nosohltanu	Počet	Procenta
<i>Streptococcus viridans</i>	51	89,5%
<i>Neisseria spp.</i>	50	87,7%
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	24	42,1%
<i>Candida spp.</i>	13	22,8%
<i>Candida albicans</i>	6	10,5%
<i>Haemophilus influenzae</i>	4	7,0%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4	7,0%
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	5,3%
<i>Escherichia coli</i>	2	3,5%
<i>Enterobacter</i>	2	3,5%
<i>Streptococcus beta haemolyticus</i>	2	3,5%
<i>Acinetobacter spp.</i>	1	1,8%

5.4 Nálezů shodujících se v nose i nosohltanu:

Tabulka č. 8

Nálezů nos + nosohltan u zdravých pacientů (7)	Počet	Procenta
<i>Streptococcus viridans</i>	21	50%
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	28,6%
<i>Haemophilus influenzae</i>	2	4,8%

Tabulka č. 9

Nálezů nos + nosohltan u pacientů s diagnózou (19)	Počet	Procenta
<i>Streptococcus viridans</i>	54	47,4%
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	20,2%
<i>Haemophilus influenzae</i>	6	5,3%
<i>Escherichia coli</i>	3	2,6%

Tabulka č. 10

Zdravý pacienti (7)	Pacienti s diagnózou (19)
Z00	6 x J038 (akutní tonsilitida)
	12x J040 (akutní zánět hrtanu)
	1 xJ00 (akutní zánět nosohltanu)

6 Diskuse

Cílem mé bakalářské práce bylo především seznámit se s metodikou odběru a zpracování vzorků z HCD. Dále zjistit jaké patogeny se objevují u dětí v nose a nosohltanu a jak se mění nálezy během týdne a měsíce. Poslední cílem bylo zjistit, jaký je rozdíl v mikroflóře nosu a nosohltanu u zdravých dětí a dětí nemocných. Výsledky pro mou bakalářskou práci jsem získala z mikrobiologické laboratoře Stafila spol. s r.o. v Českých Budějovicích.

V první fázi jsme prováděli vyšetření nosohltanu pomocí drátu. Pro děti bylo toto vyšetření traumatizující a rodiče odmítly spolupracovat, proto jsme začali nosohltan vytírat pomocí tamponu na špejli. Dalším problémem byl v tom, že některý rodiče odmítli 2 nebo 3 vyšetření. Také jednou z podmínek vyšetření bylo neaplikovat dítěti antibiotika, tím skončilo vyšetřování některých dětí.

Zkoumaný soubor původně začínal na 53 pacientech, avšak pro jejich nespolupráci se mi všechny potřebné výsledky povedly získat pouze u 26. Dohromady tedy bylo provedeno a dále laboratorně zpracováno 78 vzorků. Ze seznamu celkových nálezů je zřejmé, že větší množství jednotlivých bakterií se vyskytuje v nosohltanu.

Ve výtěrech v nose se nejčastěji objevovaly negativní výsledky, 52,4 %. Nejvíce zastoupeným mikroorganismem byl zde *Staphylococcus aureus*, který se objevoval ve 35,9 % nálezů. Tento mikrob však může být součástí běžné mikroflóry, dále se jeho patogenita zjišťuje citlivostí na antibiotika. Jako druhý nejčastěji vyskytující nález sem patří *Streptococcus pneumoniae*. Odborná literatura tvrdí, že pokud se objevuje *Streptococcus pneumoniae* v malé množství nejedná se o patogen, proto není schopný vyvolat onemocnění.(23)

V jedné ze studií se píše zase o tom, že naopak v nosohltanu častá kolonizace může *Streptococcus pneumoniae* může znamenat u dětí opakující se infekce.(21)

V nosohltanu se objevovaly poměrně ve stejném zastoupení *Streptococcus viridans* (92,3%) a *Neisseria spp.* (89,7%). Tyto nálezy se dají považovat za běžnou mikroflóru nosohltanu. Třetím nejběžnějším nálezem je *Haemophilus parainfluenzae*.

Ukázalo se, že škála bakterií, které jsem vyšetřila, byla zhruba stejná u nemocných i zdravých. Negativní nálezy ze sliznic byly spíše u výtěrů z nosu.

Co se týče velice málo častých nálezů, jako např. *Enterobacter*, *Candida albicans*, *Candida spp*, *Citrobacter* a *Acinetobacter* dá se předpokládat, že došlo ke kontaminaci nebo výsledek kultivačního zpracování byl ovlivněn preanalytickou fází.

Výzkum (24) zjistil, že nález *S. aureus* u dětí v nose je 35,7 % což je téměř totožné s mým výsledkem, 35,9% .V jedné z vědeckých prací se zaznamenávají výsledky z nosohltanu pomocí PCR (22), nezjistila jsem výrazné změny v nálezech. V nosohltanu je velmi častou bakterií *Streptococcus viridans*, což je potencionální patogen, který dříve vyvolával sepsi. Podle studie bylo zjištěno, že nejvíce jsou náchylní k sepsím děti kojeneckého věku. (25)

7 Závěr:

V tomto výzkumu jsem provedla bakteriologické vyšetření sliznic nosu a nosohltanu u 26 dětí v mikrobiologické laboratoři Stafila spol. s.r.o v Českých Budějovicích. Vyšetřované skupiny jsem si rozdělila na zdravé děti a děti s onemocněním. Zdravých dětí v mém souboru bylo 7 a s diagnózou 19. Šest dětí bylo vyšetřováno s akutní tonzilitidou, 12 s akutním zánětem hrtanu a 1 dítě s akutním zánětem nosohltanu. Na sliznicích v nose byly ve 52% nálezy negativní. Mezi nejběžnější nálezy na sliznicích nosu byly nalezeny kmeny *S.aureus* v 35,9 % Kmeny *Moraxella catarhalis* a *E. coli* jsem našla po kultivaci z nosu pouze v jedno případě. Díky většině výsledků negativních, se dá říci, že vyšetření nosu je nepřínosné. U nosohltanu jsem nejčastěji objevovala běžnou bakteriální mikroflóru *Neisseria spp.* z 89,7% a *Streptococcus viridans* z 92,3 %. Díky většině výsledků negativních ze sliznice nosu lze konstatovat, že vyšetření nosní sliznice jsou nepřínosná.

8 Seznam použité literatury:

1. BEDNÁŘ, Marek. Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie. Praha: Marvil, 1996.
2. DYLEVSKÝ, Ivan. Základy funkční anatomie. Olomouc: Poznání, 2011. ISBN 978-80-87419-06-9.
3. FIALA, Pavel, Jiří VALENTA a Lada EBERLOVÁ. Stručná anatomie člověka. Praha: Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum, 2015. ISBN 978-80-246-2693-2.
4. HAHN, Aleš. Otorinolaryngologie a foniatrie v současné praxi. Praha: Grada, 2007. ISBN 978-80-247-0529-3.
5. HOLIBKOVÁ, Alžběta a Stanislav LAICHMAN. Přehled anatomie člověka. 5. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2010. Skripta. ISBN 978-80-244-2615-0.
6. HYBÁŠEK, Ivan a Jan VOKURKA. Otorinolaryngologie. Praha: Karolinum, 2006. ISBN 80-246-1019-1.
7. KRAMÁŘ, Radim. Lékařská mikrobiologie. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, 2007. ISBN 978-80-7394-021-8.
8. MELTER, Oto a Annika MALMGREN. Principy a praktika lékařské mikrobiologie. Praha: Karolinum, 2014. ISBN 978-80-246-2414-3.
9. MERKUNOVÁ, Alena a Miroslav OREL. Anatomie a fyziologie člověka pro humanitní obory. Praha: Grada, 2008. Psyché (Grada). ISBN 978-80-247-1521-6.
10. NOVÁKOVÁ, Iva. Ošetřovatelství ve vybraných oborech: dermatovenerologie, ORL, stomatologie. Praha: Grada, 2011. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-3422-4.
11. ROZSYPAL, Hanuš, Michal HOLUB a Monika KOSÁKOVÁ. Infekční nemoci ve standardní a intenzivní péči. Praha: Karolinum, 2013. ISBN 978-80-246-2197-5.
12. SCHINDLER, Jiří. Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Grada, 2014. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-4771-2.
13. SLAVÍKOVÁ, Jana a Jitka ŠVÍGLEROVÁ. Fyziologie dýchání. Praha: Karolinum, 2012. ISBN 978-80-246-2065-7.
14. ŠAFRÁNKOVÁ, Alena a Marie NEJEDLÁ. Interní ošetřovatelství. Praha: Grada, 2006. Sestra (Grada). ISBN 80-247-1148-6.
15. VLČEK, Jiří a Magda VYTRŽISALOVÁ. Klinická farmacie II. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4532-9.

16. VOTAVA, Miroslav a Petr ONDROVČÍK. Vybrané kapitoly z klinické mikrobiologie. Brno: Masarykova univerzita, 2000. ISBN 80-210-1805-4.
17. VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody. Brno: Neptun, c2010. ISBN 978-80-86850-04-7.
18. VYTEJČKOVÁ, Renata. Ošetrovatelské postupy v péči o nemocné II: speciální část. Praha: Grada, 2013. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-3420-0.
19. VOTAVA, M., L. ČERNOHORSKÁ, V. HEROLDOVÁ, V. HOLÁ, L. MEJZLÍKOVÁ, P. ONDROVČÍK, F. RŮŽIČKA, M. DVOŘÁČKOVÁ, V. WOZNICOVÁ a O. ZAHRADNÍČEK. Lékařská mikrobiologie speciální. Brno: Neptun, 2006. ISBN 80-902896-6-5.
20. VOTAVA, M. Lékařská mikrobiologie obecná. Brno: Neptun, 2005. ISBN 8086850-00-5.
21. TOIVONEN, Laura, Sinikka KARPPINEN, Linnea SCHUEZ-HAVUPALO, et al. Burden of Recurrent Respiratory Tract Infections in Children. *The Pediatric Infectious Disease Journal* [online]. 2016, ,1- [cit. 2016-08-14]. DOI: 10.1097/INF.0000000000001304. ISSN 0891-3668.
Dostupné z <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27455443>
22. HANSEN, Karin B., Johan WESTIN, Lars-Magnus ANDERSSON, Magnus LINDH, Anders WIDELL a Anna C. NILSSON. Flocked nasal swab versus nasopharyngeal aspirate in adult emergency room patients: similar multiplex PCR respiratory pathogen results and patient discomfort. *Infectious Diseases* [online]. 2015, 48(3), 246-250 [cit. 2016-08-14]. DOI: 10.3109/23744235.2015.1096956. ISSN 2374-4235.
Dostupné z <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26466764>
23. ALJICEVIC, Mufida, Emina KARCIC, Sabaheta BEKTAS a Bekir KARCIC. Representation of Streptococcus Pneumoniae in Outpatient Population of Sarajevo Canton. *Medical Archives* [online]. 2015, 69(3), 177- [cit. 2016-08-14]. DOI: 10.5455/medarh.2015.69.177-180. ISSN 0350-199x.
Dostupné z <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26261387>
24. BOADA, Albert, Jesús ALMEDA, Elisabet GRENZNER, et al. Prevalencia de portadores nasales de Staphylococcus aureus y Streptococcus pneumoniae en atención primaria y factores asociados a la colonización. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* [online]. 2015, 33(7), 451-457 [cit. 2016-08-14]. DOI: 10.1016/j.eimc.2014.10.014. ISSN 0213005x.
Dostupné z <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25617018>
25. BOO, NY, AR SUHAIDA a J ROHANA. Frequent nasopharyngeal suctioning as a risk factor associated with neonatal coagulase-negative staphylococcal colonisation and sepsis. *Singapore Medical Journal* [online]. 2015, 56(03), 164-168 [cit. 2016-08-14]. DOI: 10.11622/smedj.2014171. ISSN 00375675.
Dostupné z <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25532513>

26. ČIHÁK, Radomír a Miloš GRIM. Anatomie. 2., upr. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2002. ISBN 80-247-0143-X.
27. KUCHYNKOVÁ, Zdeňka. Dětská otolaryngologie: nejčastější situace v ambulantní praxi. Praha: Grada Publishing, 2015. ISBN 978-80-247-4177-2.
28. MAREK, Josef. Farmakoterapie vnitřních nemocí. 4., zcela přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2010. ISBN 978-80-247-2639-7.
29. SCHULER, Matthias a Peter OSTER. Geriatrie od A do Z pro sestry. Praha: Grada, 2010. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-3013-4
30. STOŽICKÝ, František a Josef SÝKORA. Základy dětského lékařství. Vydání druhé. Praha: Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum, 2015. ISBN 978-80-246-2997-1.