

Ministerstvo zdravotníctva Slovenskej republiky podľa § 45 ods. 1 písm. c) zákona 576/2004 Z. z. o zdravotnej starostlivosti, službách súvisiacich s poskytovaním zdravotnej starostlivosti a o zmene a doplnení niektorých zákonov v znení neskorších predpisov vydáva štandardný postup:

Štandardný operačný postup pre Mikrobiálne ochorenia očí

Číslo ŠP	Dátum predloženia na Komisiu MZ SR pre ŠDTP	Status	Dátum účinnosti schválenia ministrom zdravotníctva SR
0097	13. február 2020	Schválené	1. apríl 2020

Autori štandardného postupu

Autorský kolektív:

MUDr. Miroslava Horniačková, PhD., MPH; MUDr. Monika Czirfuszová, PhD.; RNDr. Daniela Hučková; RNDr. Miroslava Póczová, PhD.; prof. RNDr. František Ondriska, PhD.; doc. RNDr. Danica Staneková, PhD.; MUDr. Zuzana Kónyová

Odborná podpora tvorby a hodnotenia štandardného postupu

Prispievatelia a hodnotitelia: členovia odborných pracovných skupín pre tvorbu štandardných diagnostických a terapeutických postupov MZ SR (OPS klinická mikrobiológia: RNDr. Viera Melicháčová; prof. MUDr. Anna Líšková, PhD.; MUDr. Eva Schréterová, PhD.; MUDr. Adriana Krajčíková; RNDr. Daniela Lacková, PhD.; RNDr. Monika Poľanová; MUDr. Rudolf Botek; doc. MUDr. Milan Nikš, CSc.); hlavní odborníci MZ SR príslušných špecializačných odborov; hodnotitelia AGREE II (MUDr. Rudolf Botek; doc. MUDr. Milan Nikš, CSc.; RNDr. Viera Melicháčová); členovia multidisciplinárnych odborných spoločností; odborný projektový tím MZ SR pre ŠDTP a pacientske organizácie zastrešené AOPP v Slovenskej republike; Inštitút zdravotníckej politiky; NCZI; Sekcia zdravia MZ SR, Kancelária WHO na Slovensku.

Odborní koordinátori: MUDr. Peter Bartoň; prof. MUDr. Mariana Mrázová, PhD., MHA; MUDr. Štefan Laššán, PhD.; MUDr. Jozef Kalužay, PhD.; prof. MUDr. Jozef Šuvada, PhD., MPH

Recenzenti

členovia Komisie MZ SR pre ŠDTP: MUDr. Peter Bartoň; PharmDr. Zuzana Baťová, PhD.; PharmDr. Tatiana Foltánová, PhD.; MUDr. Róbert Hill, PhD., MPH; prof. MUDr. Jozef Holomáň, CSc.; doc. MUDr. Martin Hrubíško, PhD., mim. prof.; prof. PhDr. Monika Jankechová, PhD.; MUDr. Jozef Kalužay, PhD.; MUDr. Jana Kelemenová; PhDr. Drahomír Kollár; MUDr. Branislav Koreň; MUDr. Štefan Laššán, PhD.; prof. MUDr. Ivica Lazúrová, DrSc.; PhDr. Mária Lévyová; doc. MUDr. Adriána Liptáková, PhD., MPH; Mgr. Katarína Mažárová; prof. MUDr. Mariana Mrázová, PhD., MHA; MUDr. Mária Murgašová; Ing. Jana Netriová, PhD., MPH; Mgr. Renáta Popundová; MUDr. Ladislav Šinkovič, PhD., MBA; prof. MUDr. Mária Šustrová, CSc.; prof. MUDr. Jozef Šuvada, PhD., MPH; MUDr. Martin Vochyan; PharmDr. Miriam Vulevová, MBA; MUDr. Andrej Zlatoš

Technická a administratívna podpora

Podpora vývoja a administrácia: Mgr. Zuzana Kuráňová; Ing. Barbora Vallová; Mgr. Ľudmila Eisnerová; Mgr. Mário Fraňo; JUDr. Marcela Virágová, MBA; Ing. Marek Matto; prof. PaedDr., PhDr. Pavol Tománek, PhD.; JUDr. Ing. Zsolt Mánya, PhD.; Mgr. Sabína Brédová; Ing. Mgr. Liliana Húsková; Ing. Zuzana Poláková; Mgr. Tomáš Horváth; Ing. Martin Malina; Mgr. Ing. Mária Syneková; Ing. Katarína Krkošková; Mgr. Miroslav Hečko; Mgr. Anton Moises; PhDr. Dominik Procházka; Ing. Andrej Bóka

Podporené grantom z OP Ľudské zdroje MPSVR SR NFP s názvom: „Tvorba nových a inovovaných štandardných klinických postupov a ich zavedenie do medicínskej praxe” (kód NFP312041J193)

Kľúčové slová

konjunktivitída, keratitída, keratokonjunktivitída, endoftalmitída, uveitída, retinitída, blefaritída, kanalikulitída, dakryoadenitída, dakryocystitída, orbitocelulitída, preseptálna orbitocelulitída

Zoznam skratiek a vymedzenie základných pojmov

CMV	Cytomegalovírus
HSV	Herpes simplex virus
KNS	koaguláza-negatívne stafylokoky
NAAT	molekulárne amplifikačné testy
PCR	polymerázová reťazová reakcia
PMNL	polymorfonukleárne leukocyty
real-time PCR	kvantitatívna polymerázová reťazová reakcia
VZV	Varicella-zoster vírus
Blefaritída	zápaly očnej mihalnice a jej okraja
Dakryoadenitída	zápal slznej žľazy
Dakryocystitída	zápal slzného vaku
Endoftalmitída	zápalové ochorenie postihujúce vnútorné štruktúry oka
Kanalikulitída	zápal slzného kanálika
Keratitída	zápal rohovky
Konjunktivitída	zápal spojovky
Orbitocelulitída	akútna infekcia postihujúca obsah orbity
Preseptálna orbitocelulitída	infekcia mihalnice a mäkkého tkaniva okolo orbity, anteriórne pred septum orbitale
Uveitída	zápalové postihnutie jednej z troch častí (iris, riasnaté teliesko a choroid) uveálneho traktu C, V (Miller, 2011)


Zápaly slzného aparátu

Zhrnutie odôvodnenia vývoja štandardu

Infekcia oka môže byť vyvolaná širokým spektrom mikroorganizmov. Prebiehať môže od pomerne miernych (self-limiting) epizód konjunktivitídy alebo blefaritídy až po závažnejšie ochorenia a ochorenia ohrozujúce zrak, ako keratitída a endoftalmitída **C, V** (Miller, 2011). Mikrobiálnou inváziou môžu byť postihnuté aj okolité mäkké tkanivá oka, slzný aparát a kostné štruktúry orbity.

Odber vhodného biologického materiálu a výber špecifických postupov mikrobiologickej laboratórnej diagnostiky závisí od závažnosti symptómov ochorenia, typu a lokalizácie infekcie a pravdepodobného patogéna **C, V** (Miller, 2011; PHE, 2017a). Vzhľadom na prítomnosť fyziologickej mikrobiálnej flóry v konjunktiválnom vaku a na koži mihalníc, je potrebná správna interpretácia mikrobiologickeho vyšetrenia.

Vážne infekcie oka, ako je keratitída, vnútroočné zápaly a orbitocelulitída, sú považované za urgentné stavy pri ktorých je potrebné urgentné špecializované vyšetrenie a liečba. Optimalizácia diagnostiky a liečby vyžaduje multidisciplinárny prístup **B, III** (Bourcier, 2012).

Standardné postupy 	
Sila odporúčaní	Kvalita dôkazov
A Silne odporúčané	I Dôkazy z randomizovaných kontrolovaných štúdií, metaanalýz a systematických prehľadov
B Odporúčané, ale môžu byť akceptované (priateľné) aj iné alternatívy	II Dôkazy z nerandomizovaných štúdií
C Slabo odporúčané: hľadajte alternatívy	III Neanalytické štúdie, napr. case reports (kazuistiky), prehľadné články (reviews), série kazuistik (case series)
D Môže sa zväziť ale neodporúča sa štandardne	IV Názory expertov (expert opinion) a široko akceptované ako dobrá prax, ale bez dôkazov
E Nikdy sa neodporúča	V Vyžaduje sa podľa právnych predpisov, kódexu postupov alebo iné knižné publikácie a šedá literatúra

Upravené podľa: PHE, 2017b

Kompetencie indikácie

Mikrobiologické kultivačné vyšetrenie indikuje podľa závažnosti ochorenia ošetrojúci lekár pri podozrení na infekčné ochorenie oka. Zoškraby, aspiráty, očné tekutinu, chirurgický materiál odoberá oftalmológ, pediatrický oftalmológ, maxilofaciálny chirurg.

Odber aspirátov alebo zoškrabov rohovky vykonáva oftalmológ **C, V** (Miller, 2011).

Kompetencia realizovania testovania

Mikrobiologické vyšetrenie sa vykonáva na pracoviskách klinickej mikrobiológie. Spracovanie biologického materiálu vykonávajú pracovníci mikrobiologických laboratórií – zdravotnícki laboranti alebo diplomovaní medicínsko-technickí laboranti so špecializáciou v špecializačnom odbore vyšetrovacie metódy v klinickej mikrobiológii, zdravotnícki laboranti s VŠ vzdelaním 1. alebo 2. stupňa v odbore laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve. Hodnotenie mikrobiologických analýz vykonávajú pracovníci mikrobiologických laboratórií: lekári – klinickí mikrobiológovia so špecializáciou v špecializačnom odbore klinická mikrobiológia, iní zdravotnícki pracovníci v kategórii laboratórny diagnostik so špecializáciou v špecializačnom odbore laboratórne a diagnostické metódy v klinickej mikrobiológii.

Úvod

Infekcie oka sú definované anatomickými štruktúrami oka, ktoré sú postihnuté. Klinicky sú očné infekcie delené na infekcie, ktoré postihujú superficiálne štruktúry (t. j. mihalnice, slzný

aparát a orbitálne a periorbitálne mäkké tkanivá) a vnútorné štruktúry oka (skléra, rohovka, dúhovka, predná a zadná očná komora, šošovka, sklovec, sietnica, ciečovka, makula, fovea a zrakový nerv) **B, III** (Leber, 2016).

Povrchové infekcie oka sú zvyčajne spôsobené baktériami, ktoré kolonizujú kožu; infekcie vnútorných štruktúr môžu byť spôsobené širokým spektrom mikroorganizmov zahŕňajúcim baktérie, vírusy, huby a parazity **B, III** (Leber, 2016).

Infekcia môže byť exogénna (infekcia povrchových štruktúr, zanesenie mikroorganizmov do oka rukami, pri poranení oka, po zákrokoch, chirurgických výkonoch na oku, kontaktné šošovky) alebo endogénna, vznikajúca najčastejšie hematogénnym rozsevom **B, III** (PHE, 2017a).

Konjunktivitída

Zápal spojovky je najčastejšou infekciou oka. Prejavuje sa hyperémiou spojoviek, zvýšeným slzením, purulentným výtokom z jedného alebo oboch očí **B, III** (Leber, 2016), ktorý môže viesť k zlepeniu rias na mihalniciach. Zápal je sprevádzaný diskomfortom bez bolesti alebo zníženia zrakovej ostrosti **B, III** (Bourcier, 2012) a môže sa vyskytovať spolu s infekciou mihalnice (blefarokonjunktivitída), zápalom mihalníc (blefaritída) alebo rohovky (keratokonjunktivitída) **B, III** (PHE, 2017a). Infekcia vzniká priamym zanesením mikroorganizmov do oka kontaminovanými predmetmi, rukami, hematogénny rozsev je zriedkavý **B, III** (Leber, 2016).

Najčastejší vyvolávatelia konjunktivitídy sú baktérie alebo vírusy, ktoré sú typickými pôvodcami infekcií horných dýchacích ciest **B, II** (Baron, 2013), ako častejšia sa uvádza vírusová etiológia **B, III** (Bourcier, 2012). Etiologické agensy konjunktivitídy sú v Tabuľke č. 1.

Konjunktivitída

Baktérie	Vírusy
Staphylococcus aureus Streptococcus pneumoniae Haemophilus influenzae, H. aegyptius, Haemophilus spp. Moraxella catarrhalis, M. lacunata (angulárna forma) Streptococcus pyogenes, S. agalactiae a iné streptokoky Neisseria gonorrhoeae, N. meningitidis Chlamydia trachomatis, Chlamydophila pneumoniae Enterobacterales (E. coli, Proteus spp., Klebsiella pneumoniae) Pseudomonas aeruginosa Corynebacterium diphtheriae Mycobacterium tuberculosis Francisella tularensis Listeria monocytogenes Treponema pallidum Bartonella henselae Pasteurella multocida Bacillus spp. Actinomyces spp. Rickettsia spp.	adenovírusy HSV-1, HSV-2, VZV (herpes zoster ophthalmicus), CMV, EBV Picornaviridae - enterovírusy (enterovírus 70, coxsackie vírus A24) vírus osýpok, vírus rubeoly, vírus varioly, vírus vakcínie, vírus molluscum contagiosum vírus chrípky
	Mikroskopické huby
	Kvasinky - Candida spp., Cryptococcus neoformans Hyalohyphomycetes - Aspergillus spp., Fusarium spp. Dimorfne huby - Sporothrix schenckii, Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum; Microspora spp.
	Parazity
	Onchocerca volvulus Loa loa Dirofilaria immitis, Dirofilaria repens Larvy múch v konjunktiválnom vaku (očná myóza)

Upravené podľa: Trnovec, 1998; Miller, 2011; PHE, 2017a; Török, 2017; Liptáková a kol., 2019

Infekcie oka vyvolané *Chlamydia trachomatis* sú:

- (i) **trachóm** (chronický granulomatózny proces povrchu oka), ktorý vedie k ulceráciám rohovky, zjazveniu, tvorbe pannusu a k slepote (*Ch. trachomatis* sérotypy A, B, Ba, C),
- (ii) **inklúzna konjunktivitída** dospelých a novorodencov (sérotypy D – K) s mukopurulentným sekrétom, keratitídou, infiltrátmi a občasne až s vaskularizáciou rohovky a
- (iii) **očná infekcia pri lymphogranuloma venereum** (sérotypy L1, L2, L2a, L2b, L3) (Parinaudova okuloglandulárna konjunktivitída a regionálna lymfadenopatia, okulárny lymphogranuloma venereum) **B, III** (Murray, 2013).

Inklúzna konjunktivitída dospelých sa môže vyskytnúť pri genitálnej infekcii *Ch. trachomatis* u sexuálne aktívnych ľudí, infekcia novorodenca môže vzniknúť počas pôrodu pri prechode cez infikovaný pôrodný kanál matky **B, III** (Murray, 2013). Neliečená alebo neadekvátne liečená inklúzna konjunktivitída môže viesť k vzniku chronickej konjunktivitídy **C, V** (Miller, 2011).

Conjunctivitis neonatorum

Infekcia oka u novorodencov v prvých štyroch týždňoch života, tzv. conjunctivitis neonatorum, môže byť vyvolaná *Ch. trachomatis* alebo *Neisseria gonorrhoeae* **C, V** (Scharfen, 2013). Okrem spektra bakteriálnych patogénov ako u dospelých môže byť konjunktivitída u novorodencov spôsobená aj *Haemophilus parainfluenzae*, *Streptococcus agalactiae*, enterokokmi, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* **B, III** (PHE, 2017a), HSV **B, V** (Miller, 2018).

Všetky prípady conjunctivitis neonatorum, konjunktivitídy novorodencov a dojčiat majú byť mikrobiologicky laboratórne vyšetrené **C, V** (Miller, 2011; Török, 2017).

Neisseria gonorrhoeae môže spôsobiť konjunktivitídu u sexuálne aktívnych ľudí, neliečená infekcia môže viesť k vzniku rohovkových vredov **C, V** (Studnička, 2013), ohrozeniu zraku a perforácii očnej gule **B, V** (Miller, 2018).

Vírusová konjunktivitída (Tab. 1) môže byť akútna alebo chronická a často vedie aj k postihnutiu rohovky **C, V** (Miller, 2011). Konjunktivitída môže sprevádzať adenovírusovú faryngitídu, u starších detí a dospelých je častejší výskyt faryngokonjunktiválnej horúčky (sérotypy 1, 2, 3, 4, 5, 7). Epidemická keratokonjunktivitída (adenovírusy, najčastejšie sérotypy 8, 9, 11, 19, 35, 37) sa môže vyskytnúť v každom veku, sporadicky alebo v epidémiách **B, III** (Murray, 2013), možný je aj nozokomiálny prenos **C, V** (Miller, 2011).

Pikornavírusy (hlavne enterovírus 70 a Coxackie vírus A24) spôsobujú akútnu hemoragickú konjunktivitídu, čo je vysoko nákazlivé, epidemicky sa vyskytujúce ochorenie **C, V** (Trnovec, 1998; Murray, 2013).

Herpetická keratokonjunktivitída spôsobená HSV sa môže vyskytovať ako primárna alebo rekurentná infekcia. Odlíšenie herpetickej a adenovírusovej infekcie je potrebné vzhľadom na možnosť špecifickej liečby herpetickej infekcie **C, V** (Miller, 2011).

Opakovane alebo dlhodobo hospitalizovaní pacienti sú častejšími nosičmi multirezistentných baktérií na spojovke, ktoré zodpovedajú za infekcie povrchu oka alebo endoftalmitídu **B, III** (Bourcier, 2012).

Keratitis

Predstavuje vážny stav, vyžadujúci urgentné oftalmologické vyšetrenie a terapiu, aby sa zabránilo trvalej strate zraku **C, V** (Miller, 2011; Bourcier, 2012; Leber, 2016; PHE, 2017a). Mikrobiálne patogény sú uvedené v Tabuľke č. 2. Ku klinickým príznakom patrí rýchly nástup bolesti oka, s konjunktiválnou injekciou, znížením zrakovej ostrosti, fotofóbiou, slzením, exsudáciou, blefarospazmom, pocitom "zrnka piesku" v oku (a ďalšími prejavmi). Perforácia rohovky sa môže vyvinúť do 24 hod, následná endoftalmitída môže viesť k strate zraku až strate oka **B, III** (Török, 2017). Keratitis sa vyskytuje pri poranení oka cudzím telesom, ako komplikácia po chirurgickom zákroku na oku (pri operácii napr. na rohovke), pri nesprávnom používaní kontaktných šošoviek **B, V** (Miller, 2018), používaní lokálnych kortikosteroidov, pri popáleninách, u imunokompromitovaných pacientov a alkoholikov **B, III** (Leber, 2016).

Tab. č. 2

Keratitída

Baktérie	Vírusy
Staphylococcus aureus S. epidermidis, koaguláza negatívne stafylokoky Streptococcus pneumoniae Pseudomonas aeruginosa Haemophilus influenzae Moraxella catarrhalis Streptococcus pyogenes, streptokoky enterokoky Corynebacterium spp. Bacillus spp. Neisseria gonorrhoeae Enterobacterales - E. coli, Enterobacter cloacae, Klebsiella pneumoniae, Serratia marcescens Acinetobacter spp. Pasteurella multocida Nocardia spp. Propionibacterium spp., iné anaeróbne baktérie Mycobacterium tuberculosis, netuberkulózne mykobaktérie, Chlamydia trachomatis Treponema pallidum Borrelia burgdorferi	HSV-1, (HSV-2) VZV (herpes zoster ophthalmicus) CMV a EBV adenovírusy enterovírusy vírus vakcínie vírus Newcastle vírus molluscum contagiosum, HIV vírus osýpok vírus parotitídy vírus rubeoly
	Mikroskopické huby
	Kvasinky - Candida spp. Hyalohyphomycetes - Aspergillus spp., Fusarium spp., Scedosporium spp., Paecilomyces spp. Pseudoallescheria spp., Acremonium spp. Phaeohyphomycetes (tmavo pigmentované demáciové huby) - Curvularia spp., Phialophora spp., Exophiala spp., Alternaria spp. Dimorfne huby - Blastomyces spp., Sporothrix spp. Microspora spp.
	Parazity
	Acanthamoeba spp. Onchocerca volvulus, Leishmania spp., Trypanosoma spp.

Upravené podľa: Trnovec, 1998; Miller, 2011; PHE, 2017a; Török, 2017; Liptáková a kol., 2019

Pôvodcami 90% bakteriálnych keratitíd sú *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp. a enterobaktérie **B, III** (Bourcier, 2012), u nositeľov kontaktných šošoviek je najčastejšou príčinou *Pseudomonas aeruginosa* **B, III** (Bourcier, 2012;) a *Staphylococcus aureus* **C, V** (Miller, 2011; Majtánová, 2014).

Keratitída po chirurgickom zákroku na oku je najčastejšie vyvolaná koaguláza-negatívnymi stafylokokmi a *Cutibacterium* (predtým *Propionibacterium*) *acnes*, ktoré by v tomto prípade nemali byť považované za kontaminanty, ale za potenciálne patogény **B,II** (Baron, 2013), po transplantácii rohovky je najčastejšie vyvolaná *Candida* spp. (80 %) **B, V** (Miller, 2018).

Keratitída po poranení oka cudzím predmetom je spôsobená mikroorganizmami z prostredia, *Pseudomonas aeruginosa*, *Nocardia* spp., plesňami a environmentálnymi mykobaktériami **B, II** (Baron, 2013).

Keratitída môže vzniknúť aj pri infekcii mykobaktériami (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. chelonae*, *M. goodii*, *M. avium intracellulare*), spirochétami *Treponema pallidum*

a *Borrelia burgdorferi* **B, III** (Török, 2017), atypické mykobaktérie (*M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. abscessus*) môžu byť izolované u imunokompromitovaných pacientov **B, III** (Bourcier, 2012).

Fungálna keratitída (Tab. č. 2) sa vyskytuje u pacientov po transplantácii rohovky, s chronickým ochorením povrchu oka (kvasinky), po úraze (vláknité huby), ako aj v súvislosti s nosením kontaktných šošoviek (Bourcier, 2012). Všetky prípady fungálnych keratitíd musia byť potvrdené laboratórne **C, V** (Miller, 2011).

Vírusové keratitídy (Tab. č. 2) sú najčastejšie. Vzniknúť môžu aj v dôsledku reaktívacie infekcie herpetickými vírusmi HSV a VZV, etiológia HSV a VZV je terapeuticky urgentná **B, III** (Bourcier, 2012).

Parazitárna akantamébová infekcia je častejšia u nositeľov kontaktných šošoviek, vzniknúť môže aj v dôsledku poranenia. Zdrojom infekcie býva kontaminácia vodou, prachom, pôdou **B, III** (Bourcier, 2012; Miller, 2011), tiež roztok na odkladanie šošoviek, puzdrá, kontaminovaná voda, plávanie so šošovkami v očiach **D, III** (Majtánová, 2014; **C, V** Ondriska, 2016).

Endoftalmitída

Endoftalmitída je urgentný stav, ktorý vyžaduje odborné oftalmologické vyšetrenie a liečbu, aby sa minimalizovala trvalá strata zraku **B, III** (Leber, 2016).

Endoftalmitída môže byť **exogénneho pôvodu pri poranení; pooperačná**, najmä po operácii katarakty a glaukómu (trabekulotómia); **endogénna** pri hematogénnom šírení (**B, III** Bourcier, 2012; **B, II** Baron, 2013; **B, III** Török, 2017); pri perforácii rohovky pri keratitíde **B, III** (Leber, 2016). Spektrum vyvolávateľov infekcie (Tab. 3) sa líši podľa spôsobu vzniku ochorenia **B, II** (Baron, 2013). Prejavuje sa bolesťou, zhoršením videnia, edémom viečok, začervenaním spojoviek, ťažkou iridocyklitídou (uveitída), hypopyonom **B, III** (Leber, 2016). Najčastejšia je bakteriálna etiológia **B, III** (Török, 2017).

Endogénna endoftalmitída sa vyskytuje v súvislosti s bakterémiou, fungémiou, mikroorganizmami spôsobujúcimi infekcie krvného prúdu u imunokompromitovaných pacientov alebo narkomanov. Vzniknúť môže aj v prítomnosti biomateriálov (intraokulárne šošovky). V prípade endogénnej endoftalmitídy je potrebné vyšetriť ložisko infekcie a možnú existenciu ďalších septických metastáz **B, III** (Bourcier, 2012).

Mykotická endoftalmitída vzniká najčastejšie rozšírením infekcie pri keratitíde, ale aj hematogénne a pri implantácii kontaminovaných vnútroočných šošoviek **C, V** (Miller, 2011).

Vírusy a parazity sú zriedkavá príčina endoftalmitídy. Pri poranení a pri ťažkej imunosupresii môže vzniknúť infekcia herpetickými vírusmi; parazitmi *Toxoplasma gondii*, *Toxocara* spp., *Echinococcus* spp., *Onchocerca volvulus* (**C, V** Miller, 2011; **B, II** Baron, 2013).

Tab. č. 3

Endoftalmitída

Baktérie (všeobecne)	Mikroskopické huby
Staphylococcus epidermidis, koaguláza negatívne stafylokoky, Staphylococcus aureus Streptococcus agalactiae viridujúce streptokoky, enterokoky Bacillus cereus Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter spp. E. coli, Enterobacter cloacae, Serratia marcescens, Klebsiella pneumoniae Haemophilus influenzae, Moraxella spp. Neisseria meningitidis Listeria monocytogenes Cutibacterium (Propionibacterium) acnes Corynebacterium spp. Nocardia spp., Mycobacterium spp.	Kvasinky - Candida spp., Cryptococcus neoformans Hyalohyphomycetes - Aspergillus spp., Fusarium spp., Acremonium spp. Phaeohyphomycetes (tmavo pigmentované demáciové huby)
	Vírusy (zriedkavo)
	Herpetické vírusy (HSV, VZV, CMV) vírus osýpok
	Parazity (zriedkavo)
	Toxoplasma gondii Toxocara spp. Echinococcus spp. Onchocerca volvulus
Podľa spôsobu vzniku ochorenia	
Exogénna endoftalmitída: po poranení (environmentálne patogény) - huby, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Nocardia spp., Mycobacterium chelonae, gramnegatívne paličky, anaeróbne baktérie	
Pooperačná endoftalmitída: koaguláza negatívne stafylokoky, korynebaktérie, Staphylococcus aureus, streptokoky; Cutibacterium acnes (chronická pooperačná endoftalmitída)	
Endogénna endoftalmitída: hematogénny pôvod (mikroorganizmy vyvolávajúce infekcie krvného riečiska, bakteriémie, fungémie) - Candida albicans, Candida spp., Aspergillus spp., Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Enterobacterales (najmä Klebsiella pneumoniae), Pseudomonas aeruginosa; v súvislosti s prítomnosťou biomateriálov (intraokulárne šošovky)	

Upravené podľa: Miller, 2011; Bourcier, 2012; Baron, 2013; Török, 2017

Uveitída/retinitída

Zápal pri uveitíde/retinitíde je najmä autoimúny alebo idiopatický. Infekčný pôvod je zriedkavý a takmer vždy je endogénny. Podobne ako endogénna endoftalmitída predstavuje lokalizovanú manifestáciu systémovej infekcie **B, II** (Baron, 2013). Infekčné príčiny uveitídy/retinitídy sú uvedené v Tabuľke č. 4.

Uveitída/retinitída môže byť prítomná pri bakteriálnych ochoreniach, riziko vírusovej retinitídy HSV, VZV, CMV je často prítomné u imunokompromitovaných pacientov. CMV retinitída sa môže vyskytnúť u pacientov s AIDS, ako komplikácia po transplantácii kostnej drene a solídnych orgánov **B, II** (Baron, 2013). Chorioretinitída môže súvisieť aj s kongenitálnou CMV infekciou u novorodencov **B, III** (Murray, 2013). Retinopatie spôsobuje aj vírus rubeoly a vírus osýpok **C, V** (Miller, 2011). Najčastejším prejavom očnej toxoplazmózy je chorioretinitída **C, V** (Ondriska, 2016).

Tab. č. 4

Uveitída/retinitída

Baktérie (ochorenie)	Vírusy	Mikroskopické huby
Mycobacterium tuberculosis Treponema pallidum (syphilis) Bartonella henselae (choroba z mačacieho poškrabania) netuberkulózne mykobaktérie, Mycobacterium leprae (lepra) Leptospira spp. Borrelia burgdorferi, Borrelia spp. Propionibacterium spp. Rickettsia rickettsii (horúčka Skalístých hôr) Tropheryma whipplei (Whippleova choroba)	CMV, EBV, HSV, VZV HIV HTLV-1 vírus parotitídy vírus osýpok vírus rubeoly parechovírus vírus vakcínie vírus západonílskej horúčky vírus Chikungunya	Kvasinky - Candida spp., Cryptococcus neoformans Hyalohyphomycetes - Aspergillus spp. Dimorfne huby - Coccidioidomyces immitis, Histoplasma capsulatum, Blastomyces spp., Sporothrix spp.; Pneumocystis jirovecii
		Parazity
		Toxocara spp. Toxoplasma gondii Acanthamoeba spp. Onchocerca volvulus Cysticercóza

Poznámka: Upravené podľa Miller, 2011; Bourcier, 2013; Török, 2017

Infekcie očnej mihalnice a očných adnexov

K vyvolávajúcim agensom patria patogény spôsobujúce konjunktivitídu a patogény schopné spôsobiť infekcie kože **C, V** (Miller, 2011). Prehľad vyvolávateľov infekcií očnej mihalnice a infekcií slzného aparátu uvádza Tabuľka č. 5.

Infekcie očnej mihalnice a očných adnexov

Blefaritída, Blefarokonjunktivitída	Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, koaguláza negatívne stafylokoky, Cutibacterium acnes, Actinomyces spp., mykobaktéria Kvasinky (zriedkavo) HSV, VZV, poxvírusy (molluscum contagiosum), papilomavírusy, vírus vakcínie Leishmania spp., Trypanosoma spp. (kožná leishmanióza, africká a americká trypanozomóza), Loa loa, dirofilarióza V koreňoch rias - roztoče (Demodex folliculorum), vši a ich vajíčka
--	--

Infekcie slzného aparátu

Kanalikulitída	Cutibacterium acnes, Propionibacterium spp., Actinomyces spp. Zmiešaná infekcia aeróbná (Staphylococcus aureus, streptokoky, gramnegatívne paličky) a anaeróbná (Actinomyces israelii, Propionibacterium propionicum, Cutibacterium acnes) Fusobacterium, Capnocytophaga; Nocardia spp. Candida albicans; Aspergillus spp. HSV, VZV
Dakryocystitída	Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus a Pseudomonas aeruginosa orálne streptokoky, Staphylococcus spp., Haemophilus spp., Cutibacterium acnes, Actinomyces spp., Nocardia spp. Chlamydia trachomatis (rekurentné infekcie) Aspergillus, Alternaria, Candida, Acremonium
Dakryoadenitída	Staphylococcus aureus, Streptococcus spp., Neisseria gonorrhoeae; chronická pri infekcii Treponema pallidum, Mycobacterium tuberculosis, M. leprae Vírus parotitídy, EBV (pri infekčnej mononukleóze); subklinické infekcie pri HSV, VZV, CMV, Coxackie A, echovírusovej infekcii, uplatňujú sa aj vírus osýpok a chrípky

Poznámka: Upravené podľa Miller, 2011; Bourcier, 2012; Török, 2017

Akútna infekcia Mollových a Zeissových žliaz je označovaná ako externé hordeolum (stafylokoková infekcia s tvorbou abscesu s hnisom v lumene postihnutých žliaz) **C, V** (Miller, 2011). Infekcia Meibomskej žľazy vnútornej časti mihalnice môže byť prítomná akútne ako interné hordeolum - chlaseon (bolesť a opuch na spojovkovej strane mihalnice) **B, III** (Török, 2017).

Infekcia slzného aparátu

Kanalikulitída je často chronický zápal spôsobený *Propionibacterium* spp., alebo *Actinomyces*. Tvorí sa odliatky, z lumenu kanálíka je možné vytlačiť purulentný, syrovitý

materiál **C, V** (Miller, 2011). Bakteriálna infekcia môže byť zmiešanou aeróbnou a anaeróbnou etiológiou (Tab. č. 5).

Dakryocystitída (zápal slzného vaku) vzniká hlavne pri obštrukcii slzného vaku alebo kanála (kongenitálne, sekundárne pri infekcii, tumore alebo traume), častá je u dojčiat. Väčšinu infekcií vyvolávajú grampozitívne baktérie, pochádzajúce z kože alebo horných dýchacích ciest **B, III** (Bourcier, 2011; Török, 2017). Rekurentné infekcie môžu vzniknúť pri infekcii *Chlamydia trachomatis*. Vážna komplikácia akútnej dakryocystitídy je orbitálna celulitída **B, III** (Török, 2017).

Dakryoadenitída (zápal slznej žľazy) najčastejšie vzniká hematogénne, predispozíciou infekcie je aj tupé poranenie **C, V** (Miller, 2011). Izolované sú najmä pyogénne baktérie (Tab. č. 5).

Infekcie orbity (preseptálna orbitocelulitída a orbitocelulitída)

Preseptálna orbitocelulitída a orbitocelulitída najčastejšie vznikajú rozšírením bakteriálnej infekcie zo sínusov, po traume alebo počas septikémie. Akútna a rýchla progresia je často vidieť u imunokompromitovaných pacientov, pomalá a chronická u imunokompetentných. Zriedkavá príčina sú huby. Akútna zygomykóza sa vyskytuje u imunokompromitovaných pacientov, diabetikov alebo u pacientov s posttraumatickou infekciou sínusov **B, III** (Bourcier, 2012). Ide o závažné infekcie, potrebné je včasné vyšetrenie očným lekárom **B, III** (Török, 2017).

Preseptálna orbitocelulitída je infekcia očného viečka a mäkkého tkaniva orbity, pred orbitálnym septom. U detí ide o urgentný stav, s vysokým rizikom progresie do orbitocelulitídy **C, V** (Miller, 2011; Török, 2017). Predisponujúce faktory sú poranenie, infekcie dolných ciest dýchacích, impetigo a herpetická infekcia **C, V** (Miller, 2011), infekcia okolitých štruktúr (dakryocystitída) **B, III** (Török, 2017), bakterémia **B, II** (Baron, 2013). Mikroorganizmy izolované vo väčšine prípadov uvádza Tabuľka č. 6. **Orbitocelulitída** je akútna infekcia postihujúca obsah orbity (tuk a očné svaly). Ide o urgentný stav s rizikom straty zraku a prechodu infekcie na sinus cavernosus **B, III** (Török, 2017). Väčšinou vzniká ako komplikácia pri sínusitíde **B, II** (Baron, 2013), ale aj ako dôsledok poranenia, otitis media a dentálnej infekcie **B, III** (Török, 2017). Každý mikroorganizmus, spôsobujúci sínusitídu môže viesť aj k orbitocelulitíde **C, V** (Miller, 2011). Mikrobiálnych pôvodcov uvádza Tabuľka č. 6.

Tab. č. 6

Preseptálna orbitocelulitída
Orbitocelulitída

Baktérie, huby

Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, iné streptokoky, Streptococcus pyogenes anaeróby zriedkavejšie Acinetobacter spp., Pseudomonas aeruginosa, Proteus spp., Nocardia spp., Bacillus anthracis Neisseria gonorrhoeae, Pasteurella multocida, Mycobacterium tuberculosis Trichophyton spp.	Staphylococcus aureus, skupina Streptococcus anginosus, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Streptococcus pyogenes, Moraxella spp., anaeróby, gramnegatívne baktérie (najmä pri chronickej sínusitíde), Aeromonas hydrophila, Pseudomonas aeruginosa, Eikenella corrodens, Mycobacterium tuberculosis, Aspergillus spp., mukormykózy, chronická orbitálna celulitída Mycobacterium spp., Nocardia spp., Actinomyces spp.
--	--

Poznámka: Upravené podľa Miller, 2011; Bourcier, 2012; Török, 2017

Klasifikácia testov

Priame diagnostické testy – mikroskopia, kultivácia, molekulárno-biologické metódy (NAAT), izolácia vírusov (kapitola 10.2, tabuľka č. 7a, tabuľka č. 8).

Nepriame diagnostické testy – stanovenie protilátok proti pôvodcom infekčných chorôb v sére a v likvore (kapitola 10.2, tabuľka č. 7b).

Metódy identifikácie vykultivovaných mikroorganizmov (kapitola 10.2).

Stanovenie citlivosti mikroorganizmov na antimikrobiálne látky (kapitola 10.2).

Proces diagnostiky - odporúčania (Minálny štandard)

Odber biologického materiálu na mikrobiologickú diagnostiku pri infekcii oka – všeobecné princípy:

Biologický materiál má byť odoberaný:

- čo najskôr a z aktuálneho miesta infekcie B, III (Baron, 2015),
- asepticky, sterilnými odberovými súpravami a pomôckami na odber materiálu z oka (tampóny a pomôcky pre oftalmológiu),
- ak je to možné, má sa vykonať pred zahájením lokálnej alebo celkovej antimikrobiálnej liečby B, III (Bourcier, 2012),
- výtery (tampóny) na bakteriologické a mykologické kultivačné vyšetrenie majú byť transportované do mikrobiologického laboratória v transportnom médiu,
- pri podozrení na infekciu *Neisseria gonorrhoeae* a anaeróbne baktérie je použitie vhodného transportného média (Stuart, Amies) nevyhnutné,
- vzorky na molekulárnu diagnostiku je potrebné odoberať v bezpúdových rukaviciach a po dôkladnom vypláchnutí oka sterilným fyziologickým roztokom na

odstránenie stôp fluoresceínu a lokálnych anestetík, ktoré inhibujú PCR reakcie **B, III** (Bourcier, 2012),

- stery na molekulárne testovanie (PCR) sa odoberajú na sterilný dakrónový tampón pre PCR vyšetrenie a vložia sa do sterilnej skúmavky bez transportného média, tkanivá do prázdnej sterilnej skúmavky,
- na dôkaz chlamýdií a virologické vyšetrenie je potrebné odobratie samostatných vzoriek vo vhodných transportných médiách na chlamýdie, resp. virologické vyšetrenie (**B, III** PHE, 2017a; **B, V** Miller, 2018); tieto vzorky majú byť získané pred instiláciou lokálnych anestetík **B, III** (Leber, 2016),
- vitreálny výplach môže byť injikovaný do hemokultivačnej nádoby alebo transportného média na vírusy **C, V** (Miller, 2011),
- na kultiváciu tekutých materiálov je možné použitie hemokultivačného pediatrického média **B, III** (Bourcier, 2012),
- povrch spojovky a rohovky má byť pred odberom materiálu dôkladne opláchnutý nebakteriostatickým sterilným fyziologickým roztokom alebo vodou na odstránenie anestetík (môžu inhibovať mikroorganizmy) **B, III** (Leber, 2016),
- materiál zo spojovky (ster, tampón) sa odoberá z oboch očí zvlášť (párový odber vzoriek).

Z oboch očí sa odoberá aj v prípade jednostrannej konjunktivitídy (z postihnutého aj nepostihnutého oka, do dvoch transportných súprav), najprv z menej postihnutého oka (**B, V** Miller, 2018; **B, III** Leber, 2016). Etiológia ochorenia očí môže byť rôzna. Párové vzorky z nepostihnutého (neinfikovaného) oka pomáhajú pri interpretácii kultivácie a mikroskopického vyšetrenia („kontrola“) **B, III** (Miller, 2018).

Pozn.: Pri konjunktivitíde je vhodný odber 2 výterov z každého oka (jeden na priame mikroskopické vyšetrenie a druhý na kultivačné vyšetrenie) **B, III** (Miller, 2018):

- pri všetkých invazívne odobratých vzorkách z oka (infekcie vnútorných štruktúr oka) má byť ako sprievodná kontrolná vzorka odobratý aj výter zo spojovky **B, III** (Leber, 2016),
- na žiadanke na mikrobiologické vyšetrenie je vždy potrebné uviesť presné označenie anatomického miesta odberu materiálu (štruktúra oka) a strany (pravé, ľavé oko) **B, V** (Miller, 2018).

Spôsob odberu biologického materiálu:

Výter zo spojkového vaku sa vykoná vytretím spojkového vaku po odtiahnutí viečka od očnej gule sterilným detoxikovaným tampónom určeným pre oftalmológiu. Tampónom sa odoberá sekrét zo spojovky a z vnútorného kútika oka **B, III** (Bourcier, 2012). Odber sa vykoná samostatným tampónom pre každé oko **B, III** (Leber, 2016). Po odbere sa tampón umiestni do skúmavky s transportným médiom (napr. podľa Amiesa) a transportuje sa do laboratória optimálne čo najskôr po odbere, maximálne však do 2 – 4 hod po odbere.

V laboratóriu je vzorka okamžite inokulovaná na vhodné kultivačné médiá (Tab. č. 7, Tab. č. 8). V prípade oneskorenia transportu sa má inokulácia médií vykonať pri lôžku pacienta **B, III** (Leber, 2016).

Zoškrab zo spojovky sa vykonáva 4 pohybmi vpred a vzad z vnútornej strany dolnej a hornej mihalnice na odobratie maximálneho množstva sekrétu, umiestni sa do skúmavky s transportným médiom **B, III** (Bourcier, 2012). Zoškrab zo spojovky (z dolnej tarzálnej spojovky) sa nanesie tiež na sklíčko na prípravu preparátu **B, III** (Leber, 2016).

V prípade **trachómu** sa po prevrátení mihalnice na jeho vnútornej strane identifikuje oblasť folikulov, zápalu alebo zjazvenia a vykoná sa zoškrab na získanie epiteliálnych buniek **B, III** (Bourcier, 2012). Na odber a transport sa použijú špeciálne transportné súpravy na molekulárno-biologický dôkaz chlamýdií alebo odber na dakrónový tampón, ktorý sa transportuje v sterilnej skúmavke.

Na testovanie vírusov sa po výplachu oka sterilným fyziologickým roztokom odoberie sterilnou odberovou súpravou pre virológiu maximálne množstvo sekrétu a pseudomembrán a umiestni sa do transportného média pre vírusy **B, III** (Bourcier, 2012). Na molekulárno-biologický dôkaz (PCR) vírusov je vhodný odber sterilným dakrónovým tampónom, transport v sterilnej skúmavke bez transportného média prípadne špeciálne odberové súpravy odporúčané výrobcom súprav na molekulárno-biologický dôkaz **A, V** (Czirfuszová, 2019).

Biologický materiál pri infekcii vnútorných štruktúr oka

Pri keratitíde materiál na laboratórne vyšetrenie odoberá oftalmológ (Bourcier, 2012). Vhodný materiál reprezentuje **zoškrab z rohovky, zo spodiny a okrajov abscesu** po odstránení nekrotického a fibrózneho materiálu (Bourcier, 2012; Miller, 2018), **biopsie**, odber sa vykonáva v sterilných podmienkach **B, III** (Török, 2017). Vhodné je aj kultivačné vyšetrenie materiálu zo spojovky, mihalnic, kontaktných šošoviek, roztokov a puzdier na kontaktné šošovky **B, III** (Török, 2017).

Keďže objem odobratého materiálu je obmedzený, prioritou vyšetrení sa stanoví po dohode mikrobiológa s indikujúcim lekárom. Vzhľadom na malé množstvo biologického materiálu (zoškrab rohovky, bioptické vzorky, komorový mok, aspirát sklovca a i.) je vhodná **okamžitá inokulácia biologického materiálu** na určené médiá a **príprava náteru na sklíčko** (na mikroskopické vyšetrenie) **pri lôžku pacienta** (po dohode s laboratóriom, ktoré poskytuje a garantuje vhodné kultivačné médiá) (**B, III** Bourcier, 2012; **B, II** Baron, 2013; **B, III** Leber, 2016; **B, V** Miller, 2018).

Pri každom invazívne odobratom materiáli má byť na kultiváciu zaslaný aj ster zo spojovky **B, III** (Leber, 2016).

Zoškraby z rohovky by mali byť naočkované aj na médiá na kultiváciu *Acanthamoeba* spp. **B, III** (PHE, 2017a). Meňavky sa kultivujú z postihnutých tkanív, puzdier na kontaktné šošovky alebo zo šošoviek samotných **C, V** (Ondriska, 2016).

Pri podozrení na mykotickú infekciu je vhodné odobratie viacerých vzoriek z okrajov vredov alebo bioptická vzorka **C, V** (Miller, 2011).

Pri endoftalmitíde, uveitíde/retinitíde je biologický materiál odoberaný urgentne, odber vykonáva oftalmológ. Potrebné je rýchle spracovanie materiálu **B, III** (Bourcier, 2012; Leber, 2016). Inokulácia materiálu na kultivačné médiá a náter na sklíčko (na mikroskopické vyšetrenie) pri lôžku pacienta po dohode s laboratóriom **B, V** (Miller, 2018). Odber kultivačných vzoriek zo spojoviek slúži na posúdenie prítomnosti a významu bežnej mikroflóry **B, III** (Leber, 2016).

Odber krvi na hemokultiváciu sa riadi príslušným štandardným postupom.

Odber materiálu na diagnostiku mykobaktérií sa riadi samostatným štandardným postupom.

Odber krvi na sérologické vyšetrenie na stanovenie špecifických protilátok.

Na testovanie lokálnej (autochtónnej) produkcie špecifických protilátok (borelióza, toxoplazmóza, toxokaróza, HSV, VZV, CMV infekcia a i.), výpočet protilátkového indexu, je potrebný paralelný odber očnej tekutiny a séra (súčasnú stanovenie celkového IgG a albumínu).

Transport biologického materiálu:

Zásady transportu vzoriek na mikrobiologické vyšetrenie uvádza Štandardný postup pre laboratórnu diagnostiku v klinickej mikrobiológii uverejnený vo Vestníku MZ SR z 1. februára 2019, roč. 67 **A, V** (Czirfuszová, 2019).

Pri oneskorení transportu inokulovaných kultivačných platní do laboratória je potrebné upovedomiť odosielajúceho lekára, že výsledok kultivácie môže byť ovplyvnený alebo kontaminovaný **B, III** (Leber, 2016).

Stery, výtery na tampóne na bakteriologické, mykologické vyšetrenie v transportnom médiu majú byť uchovávané pri izbovej teplote +20 °C až +25 °C a do laboratória doručené čo najskôr, optimálne do 2 hod. až 4 hod. po odbere. **B, III** (Baron, 2015).

Zoškrab rohovky, komorová tekutina, vnútroočná tekutina, aspirát, výplach sklovca, bioptické vzorky sa majú optimálne (po dohode s laboratóriom) inokulovať na kultivačné médiá (pevné a pomnožovacie) a pripraviť náter na sklíčko priamo pri lôžku pacienta (**B, III** Leber, 2016; **B, V** Miller, 2018). Nátery na sklíčko a kultivačné médiá inokulované pri lôžku pacienta majú byť doručené do laboratória pri izbovej teplote +20 °C až +25 °C bezodkladne (do 15 – 30 minút) maximálne však do 2 hodín.

Na anaeróbnú kultiváciu je vhodné odobratie väčšieho množstva biologického materiálu, a spracovať v laboratóriu bezodkladne (do 15 – 30 min.) po odbere **B, III** (Baron, 2015; Leber, 2016), najneskôr však do 2 hod. od odberu. Pri transporte je nevyhnutné zachovať anaeróbne podmienky (injekčná striekačka bez vzduchu s bezpečným uzáverom striekačky (bez ihly!), transportné médium, anaeróbne transportné súpravy).

Materiál (stery, tkanivá, očná tekutina) na molekulárno-biologickú analýzu treba doručiť do laboratória najneskôr do 24 hod po odbere, uchovávať pri teplote +2 až +8 °C. V prípade dlhšie trvajúceho transportu vzorky zmraziť pri teplote -18 °C až -24 °C (uviesť na žiadanke, že vzorka bola zmrazená a dátum zmrazenia).

Očná tekutina s paralelným odberom séra na dôkaz autochtónnej produkcie protilátok sa odoberá do sterilnej skúmavky. Transportuje sa pri +2 až +8 °C do 6 – 12 hod. po odbere. V prípade dlhšie trvajúceho transportu sa vzorky musia zmraziť na -18 až -24 °C (uviesť na žiadanke, že vzorka bola zmrazená a dátum zmrazenia). Vzorky nie je možné opakovane zmrazovať a rozmrazovať **B, III** (Leber, 2016).

Zrazená krv na sérologické vyšetrenie sa transportuje v deň odberu pri izbovej teplote (+20 až +25 °C). Ak transport vyžaduje dlhší čas, je potrebné krv centrifugovať a do laboratória zaslať asepticky odobraté sérum, resp. plazmu. Vzorka je potom stabilná pri teplote +2 až +8 °C do 48 hod. V prípade dlhšieho transportu je potrebné vzorku zmraziť pri teplote -18 °C až -24 °C (uviesť na žiadanke, že materiál bol zmrazený a dátum zmrazenia). Následne

sérum/plazma musí byť do laboratória prepravované zmrazené. Opakované zmrazenie séra/plazmy po rozmrazení je neprípustné.

Odôvodnenie testovania

Záchyt a identifikácia mikrobiálneho pôvodcu infekcie, nepriama mikrobiologická diagnostika pôvodcu infekcie a cieleňá liečba ochorenia.

- **Detekcia a izolácia mikroorganizmov vyvolávajúcich infekčné ochorenie oka,** stanovenie citlivosti mikroorganizmov voči antimikrobiálnym látkam. Mikrobiologické vyšetrenie vedie/napomáha k detekcii mikrobiálneho pôvodcu ochorenia (stanoveniu diagnózy) a výberu účinnej antimikrobiálnej liečby.
- Mikrobiologické vyšetrenie vedie k zisteniu výskytu ochorení vyvolaných **epidemiologicky významnými mikroorganizmami** (napr. sexuálne prenášané infekcie, rýchlo sa šíriace nákazy, nozokomiálne infekcie, multirezistentné mikroorganizmy) a tvorí podklad pre hlásenie vybraných nákaz a účinnú intervenciu.

Podľa Európskeho manuálu klinickej mikrobiológie cieľom je testovať v nasledovných situáciách:

- podozrenie na ťažkú akútnu infekciu rohovky alebo spojovky (rizikové faktory alebo špecifická oblasť) alebo pri chronickej infekcii (rezistencia na empirickú liečbu),
- vred, keratitída alebo absces rohovky a pri každom podozrení na amébovú alebo fungálnu (mykotickú) keratitídu,
- podozrenie na akútnu alebo chronickú endoftalmitídu, infekčnú uveitídu, nekrotizujúcu retinitídu,
- chirurgická liečba infekcií očných adnexov,
- choroby z povolania, testovanie pre epidemiologické účely **B, III** (Bourcier, 2012).

Mikroskopické vyšetrenie a kultivácia sa má vykonať vo všetkých prípadoch purulentnej, membránóznej alebo pseudomembránóznej konjunktivitídy. Laboratórne vyšetrenie je povinné v prípade konjunktivitídy u novorodencov a malých detí (dojčiat) **C, V** (Miller, 2011; Török, 2017).

Laboratórny algoritmus

Metódy mikrobiologickej diagnostiky infekcie závisia od charakteru infekčného procesu, jeho lokalizácie a predpokladaného pôvodcu a na odbere vhodného materiálu z postihnutého miesta **B, III** (Leber, 2016). Metódy priameho dôkazu pôvodcu infekcie uvádza Tabuľka č. 7a a nepriamej mikrobiologickej diagnostiky Tabuľka č. 7b. Podmienky kultivácie mikroorganizmov (baktérie, huby) pri laboratórnej mikrobiologickej diagnostike infekcií oka uvádza Tabuľka č. 8.

Pri endoftalmitíde, uveitíde/retinitíde, keratitíde, infekciách orbity, infekciách vnútorných štruktúr oka je biologický materiál spracovávaný ako urgentný.

Tab. č. 7A

 Mikrobiologická laboratórna diagnostika infekcií oka (priama)			
Ochorenie oka	Druh biologického materiálu	Transport ^a	Mikrobiologické vyšetrenie
Materiál z povrchových štruktúr oka			
Konjunktivitída Blefaritída Celulitída Slzný aparát (kanalikulitída, dakryocystitída, dakryoadenitída*)	výter zo spojkového vaku, spojovky, sekret, hnis (z vnútorného kútika oka) (párový odber vzoriek), obsah lumenu kanálik, materiál získaný pri drenáži, hnis, syrovitý exudát	transportné médium (napr. podľa Amiesa), transport bezodkladne pri +20 až 25 °C, maximálne však do 2 až 4 hod. po odbere	Mikroskopia (farbenie podľa Grama, p.p. Giemsa, kalkofluor) (mykológia, Acanthamoeba spp.) (Miller, 2018) Kultivácia aeróbna a p.p. anaeróbna , mykologická, v prípade orbitocelulitídy a infekcie slzného aparátu aj anaeróbna ; (Actinomyces, anaeróby). Pri požiadavke indikujúceho lekára kultivácia alebo NAAT na <i>N. gonorrhoeae</i> - pri NAAT osobitný odber a žiadanka
Preseptálna orbitocelulitída	výter z rany, punktát (purulentný materiál, sekret), zoškrab, biopsia spojovky (anaeróby)	výtery - transportné médium (napr. podľa Amiesa), tekutý materiál (punktát) v striekačke s bezpečným uzáverom (bez ihly) alebo v sterilnej skúmavke/nádobke, transport bezodkladne pri +20 až 25 °C, maximálne však do 2 hod. po odbere	Mikroskopia Kultivácia aeróbna, anaeróbna, mykologická



**Mikrobiologická laboratórna diagnostika infekcií oka (priama)
(pokračovanie Tab. 7A)**

Ochorenie oka	Druh biologického materiálu	Transport ^a	Mikrobiologické vyšetrenie
Materiál z povrchových štruktúr oka			
Preseptálna orbitocelulitída	krv na hemokultiváciu	hemokultivačná nádobka, dodať do laboratória pri +20 až 25 °C, najneskôr do 2 hod. po odbere	Kultivácia aeróbna a anaeróbna , pri požiadavke indikujúceho lekára aj mykologická (osobitné hemokultivačné nádobky)
	Ch. trachomatis	transportné médium pre virológiu, transport pri +2 až 8 °C, do 24 hod. po odbere	priama IF; izolácia na bunkových kultúrach (nevykonáva sa rutinne)
		odberová súprava na molekulárno-biologickú analýzu, transport pri +2 až 8 °C, do 24 hod. po odbere	NAAT
	sekrét, pseudomembrány, výter, zoškrab zo spojovky, slzy	transportné médium pre virológiu (na izoláciu vírusov transport na ľade do 24 hod. po odbere)	izolácia vírusov (nevykonáva sa rutinne)
		dakrónový tampón v sterilnej skúmavke bez transportného média, v prípade tekutých vzoriek sterilná skúmavka, transport pri +2 až 8 °C, do 24 hod. po odbere	NAAT
	roztok a puzdro na kontaktné šošovky		Mikroskopia, kultivácia aeróbna, mykologická, kultivácia na akantaméby

Ochorenie oka	Druh biologického materiálu	Transport ^a	Mikrobiologické vyšetrenie
Materiál z vnútorných štruktúr oka			
Keratitis	zoškrab z rohovky, zo spodiny a okraja abscesu (vredu) rohovky, biopsie, ster z rohovky	inokulácia materiálu na kultivačné médiá vrátane anaeróbneho bujónu (dodáva laboratórium) a náter na sklíčko ihneď pri lôžku pacienta, bezodkladný transport do laboratória (do 15 - 30 min.), pri +20 až 25 °C	Mikroskopia (farbenie podľa Grama, p.p. Giemsa, kalkofluor) (mykológia, Acanthamoeba spp. p.p.), kultivácia aeróbna a anaeróbna, mykologická Pri požiadavke indikujúceho lekára kultivácia na N. gonorrhoeae
	Acanthamoeba spp.	transportné médium alebo inokulácia kultivačného média pri lôžku pacienta, bezodkladný transport do laboratória (do 15 - 30 min.), pri +20 až 25 °C	Acanthamoeba spp. - mikroskopia, kultivácia, NAAT
	acidorezistentné baktérie ^b	biopsia, zoškrab - sterilná skúmavka/nádobka, v sterilnom fyziologickom roztoku pri +2 až +8 °C, do 24 hod. po odbere	Mikroskopia a kultivácia na acidorezistentné baktérie
	ster z rohovky, biopsia	transportné médium pre virológiu (na izoláciu vírusov transport na ľade do 24 hod. po odbere)	izolácia vírusov (nevykonáva sa rutinne)

Ochorenie oka	Druh biologického materiálu	Transport ^a	Mikrobiologické vyšetrenie
Materiál z vnútorných štruktúr oka			
Keratitída	ster z rohovky, biopsia	dakrónový tampón v sterilnej skúmavke, biopsia - sterilná skúmavka/nádobka, v sterilnom fyziologickom roztoku	NAAT
	vyšetrenie materiálu zo spojovky; roztok a puzdro na kontaktné šošovky	viď vyššie	viď vyššie
Zápal vnútroočných štruktúr (endofthalmitída, uveitída, retinitída)	vnútroočná tekutina, aspirát zo sklovca, výplach sklovca, komorový mok***, bioptické vzorky, chirurgicky získaný materiál (vitrektómia) ster z vredov, zoškrab z rohovky krv na hemokultiváciu, ster zo spojovky**	stery - transportné médium (napr. podľa Amiesa) tekuté vzorky - v striekačke s bezpečným uzáverom (bez ihly), v sterilnej nádobke alebo skúmavke bioptické vzorky, tkanivá - v sterilnej nádobke alebo skúmavke pri nedostatku materiálu inokulácia na kultivačné médiá vrátane anaeróbneho bujónu (kultivačné médiá dodáva laboratórium), náter na sklíčko ihneď pri lôžku pacienta bezodkladný transport do laboratória (do 15-30 min.), najneskôr do 2 hod. od odberu	Mikroskopia, kultivácia aeróbna, anaeróbna; mykologická Mikroskopia a kultivácia na záchyt mykobaktérií - osobitný odber a žiadanka NAAT (napr. toxoplazmóza, vírusy) - osobitný odber a žiadanka
Infekcie orbity - orbito celulitída	sekrét, aspiráty, chirurgicky získaný materiál, subperiostálny aspirát (sínusy), krv na hemokultiváciu		Izolácia vírusov - odber do transportného média pre virológiu, osobitný odber a žiadanka, nevykonáva sa rutinne



Mikrobiologická laboratórna diagnostika infekcií oka (priama) (pokračovanie Tab. 7A)

Ochorenie oka	Druh biologického materiálu	Transport ^a	Mikrobiologické vyšetrenie
Materiál z vnútorných štruktúr oka			
Infekcie orbity - orbito celulitída	krv na hemokultiváciu	hemokultivačná nádobka, dodať do laboratória pri +20 až 25 °C, najneskôr do 2 hod. po odbere	

Upravené podľa: Miller, 2011; Bourcier, 2012; Baron, 2013; Baron 2015, Leber, 2016; Miller, 2018

^a Podmienky odberu, transportu a uchovávania vzoriek uvádza Štandardný postup pre laboratórnu diagnostiku v klinickej mikrobiológii, Czirfuszová a kol., 2019.

^b Podľa Miller, 2018, u pooperačných infekcií rohovky by malo byť vykonané mikroskopické a kultivačné vyšetrenie na acidorezistentné baktérie. V takýchto prípadoch je častý záchyt *Mycobacterium chelonae*. Pri endoftalmitíde u všetkých pooperačných infekcií má byť urobené mikroskopické a kultivačné vyšetrenie na acidorezistentné baktérie (špecializované kultivačné médiá, možná inokulácia pri lôžku, okamžitý transport). V prípade dostatku materiálu okamžitý transport do laboratória v sterilnej nádobe pri izbovej teplote na inokuláciu aj do tekutých médií a ďalšie spracovanie.

* Pri dakryoadenitíde odoberať hnisavý výtok pomocou tampónu (ako pri konjunktivitíde), nerobiť aspiráciu zo slznej žľazy ihlou (Leber, 2016).

** Ster zo spojovky odobrať popri odbere tekutých materiálov na určenie významu bežnej/indigénnej mikroflóry.

*** Ak je v striekačke dodané malé množstvo tekutého materiálu z vnútorných štruktúr oka, naberte/vypláchnite do striekačky malé množstvo bujónu a inokulujte na médiá (2 kvapky na jednu platňu) a inokulujte aj do skúmavky s bujónom (Leber, 2016).

NAAT molekulárno-biologické testy

Tab. č. 7B

 Mikrobiologická laboratórna diagnostika infekcií oka (nepriama)			
Ochorenie oka	Druh biologického materiálu	Transport ^a	Mikrobiologické vyšetrenie
Zápal vnútroočných štruktúr (endofthalmitída, uveitída, retinitída)	paralelný odber: krv (ako na sérologické vyšetrenie) a tekutina z oka na stanovenie lokálnej tvorby protilátok, krv na sérologické vyšetrenie	Pri +2 až +8 °C, do 6 až 12 hod. po odbere	index tvorby protilátok - testovanie lokálnej (autochtónnej) tvorby špecifických protilátok v štruktúrach oka pri podozrení na toxoplazmózu, toxokarózu, cysticerkózu, HSV, VZV, CMV, EBV dôkaz protilátok v sére - syfilis, borelióza, brucelóza a i., podľa predpokladaného pôvodcu
Syfilitická uveitída	likvor		VDRL test na syfilis

Upravené podľa: Miller, 2011; Bourcier, 2012; Baron, 2013; Miller, 2018

^a Podmienky odberu, transportu a uchovávania vzoriek uvádza Štandardný postup pre laboratórnu diagnostiku v klinickej mikrobiológii, Czifruszová a kol., 2019.

Tab. č. 8

 Podmienky kultivácie mikroorganizmov (bakteriologická, mykologická), pri laboratórnej mikrobiologickej diagnostike infekcií oka				
Ochorenie oka	Kultivačné médiá (tuhé, tekuté ^a)	Podmienky kultivácie (teplota, atmosféra, čas, odčítanie)	Patogénny mikroorganizmus	Poznámky
Povrchové infekcie				
Konjunktivitída Blefaritída	krvný agar, čokoládový agar	35 - 37 °C; 5 - 10 % CO ₂ ; 40 - 48 hod.; denné odčítanie	Haemophilus influenzae Staphylococcus aureus Streptococcus pneumoniae Streptococcus pyogenes, iné betahemolytické streptokoky Moraxella spp. Neisseria gonorrhoeae Chlamydia trachomatis	Enterobacterales, P. aeruginosa - u hospit. a imunokompro- mitovaných pacientov U novorodencov zaradiť špecializované médiu na kultiváciu N. gonorrhoeae do základnej zostavy kultivačných médií
	MacConkey agar (hospitalizovaný pacient)	35 - 37 °C; aeróbne; 16 - 24 hod.; odčítanie po 16 - 24 hod.		
	Pri požiadavke indikujúceho lekára: Thayer-Martinovo alebo iné špeciali- zované selektívne médiu pre kultiváciu N. gonorrhoeae	35 - 37 °C; 5 - 10 % CO ₂ ; 40 - 48 hod. odčítanie po viac ako 40 hod.		

**Podmienky kultivácie mikroorganizmov (bakteriologická, mykologická),
pri laboratórnej mikrobiologickej diagnostike infekcií oka
(pokračovanie Tab. 8)**

Ochorenie oka	Kultivačné médiá (tuhé, tekuté ^a)	Podmienky kultivácie (teplota, atmosféra, čas, odčítanie)	Patogénny mikroorganizmus	Poznámky
Povrchové infekcie				
Konjunktivitída Blefaritída	Mykologická kultivácia ^b - kvasinky Sabouraudov agar	35 - 37 °C, aeróbne; 40 - 48 hod.	Candida spp.	
	tekuté aeróbne pomnožovacie médiu	35 - 37 °C, aeróbne; 24 hod.		
Periorbitálna celulitída	krvný agar, čokoládový agar	35 - 37 °C; 5 - 10 % CO ₂ ; 40 - 48 hod.; denné odčítanie	S. aureus, S. pyogenes, S. pneumoniae, H. influenzae anaeróby (Clostridium sp.)	Lokalizovaná infekcia mäkkých tkanív v okolí oka. H. influenzae môže byť izolo- vaný u detí a dojčiat (infekcia mäkkých tkanív)
	MacConkey agar	35 - 37 °C; aeróbne; 16 - 24 hod.; odčítanie po 16 - 24 hod.		
	anaeróbny krvný agar ^c	35 - 37 °C; anaeróbna; 40 - 48 hod. až 5 dní; odčítanie po viac ako 40 hod.		
	mykologická kultivácia - kvasinky Sabouraudov agar	35 - 37 °C ; aeróbne; 40 - 48 hod.	Candida spp.	



**Podmienky kultivácie mikroorganizmov (bakteriologická, mykologická),
pri laboratórnej mikrobiologickej diagnostike infekcií oka
(pokračovanie Tab. 8)**

Ochorenie oka	Kultivačné médiá (tuhé, tekuté ^a)	Podmienky kultivácie (teplota, atmosféra, čas, odčítanie)	Patogénny mikroorganizmus	Poznámky
Povrchové infekcie				
Periorbitálna celulitída	mykologická kultivácia - vláknité huby Sabouraudov agar	28 - 30 °C; aeróbne; 40 - 48 hod. (až 5 dní); odčítanie po viac ako 40 hod.		Pri náleze vláknitých húb zvážiť kontamináciu z prostredia pri odbere
	tekuté aeróbne pomnožovacie médium	35 - 37 °C, aeróbne; 24 hod.		
Dakryocystitída, dakryoadenitída, kanalikulitída	krvný agar, čokoládový agar	35 - 37 °C; 5 - 10 % CO ₂ ; 40 - 48 hod.; denné odčítanie	S. aureus S. pneumoniae P. aeruginosa anaeróbne baktérie vrátane Actinomyces spp. (hlavne u detí a/alebo chronické infekcie)	Infekcia odvodného systému slz - najmä S. aureus a S. pneumoniae. P. aeruginosa a iné aeróby menej časté. Akútne a chronické infekcie vyvolané tiež rôznymi anaeróbnymi baktériami (anaeróbne baktérie alebo anaeróby prítomné ako súčasť polymikrobiálnej zmiešanej infekcie Actinomyces spp. môže byť primárny patogén, chronická kanalikulitída
	MacConkey agar (pri sekundárnej infekcii po traume)	35 - 37 °C; aeróbne; 16 - 24 hod.; odčítanie po 16 - 24 hod.		
	anaeróbny krvný agar ^c	35 - 37 °C; anaeróbna; 40 - 48 hod. až 5 dní ^c ; odčítanie po viac ako 40 hod.; Actinomyces - anaeróbna kultivácia do 10 dní; odčítanie 7. a 10. deň		



**Podmienky kultivácie mikroorganizmov (bakteriologická, mykologická),
pri laboratórnej mikrobiologickej diagnostike infekcií oka
(pokračovanie Tab. 8)**

Ochorenie oka	Kultivačné médiá (tuhé, tekuté ^a)	Podmienky kultivácie (teplota, atmosféra, čas, odčítanie)	Patogénny mikroorganizmus	Poznámky
Povrchové infekcie				
Dakryocystitída, dakryoadenitída, kanalikulitída	mykologická kultivácia - kvasinky Sabouraudov agar	35 - 37 °C ; aeróbne; 40 - 48 hod.	Candida spp.	
	mykologická kultivácia - vláknité huby Sabouraudov agar	28 - 30°C; aeróbne; 40 - 48 hod. (až 5 dní); odčítanie po viac ako 40 hod.		Pri náleze vláknitých húb zvážiť kontamináciu z prostredia pri odbere
	tekuté aeróbne pomnožovacie médium	35 - 37 °C, aeróbne; 24 hod.		



**Podmienky kultivácie mikroorganizmov (bakteriologická, mykologická),
pri laboratórnej mikrobiologickej diagnostike infekcií oka
(pokračovanie Tab. 8)**

Ochorenie oka	Kultivačné médiá (tuhé, tekuté ^a)	Podmienky kultivácie (teplota, atmosféra, čas, odčítanie)	Patogénny mikroorganizmus	Poznámky
Infekcie vnútorných štruktúr oka				
Keratitis	krvný agar, čokoládový agar	35 - 37 °C; 5 - 10 % CO ₂ ; 40 - 48 hod.; denné odčítanie	Poranenie, vred rohovky P. aeruginosa S. aureus, S. pneumoniae, S. pyogenes, enterokoky, viridujúce streptokoky Moraxella spp., koaguláza negatívne stafylokoky, Propionibacterium sp. mykobaktérie - rýchlorastúce, Nocardia spp. Kontaktné šošovky gramnegatívne baktérie vrátane P. aeruginosa, Serratia spp. Bacillus spp. Kvasinky, vlákňité huby	Keratitis je vyvolaná mnohými mikroorganizmami v závislosti od mechanizmu poškodenia rohovky. Pri chronickej infekcii môžu byť pôvodcovia mikroskopické huby, acidorezistentné baktérie a Nocardia ^d spp.
	MacConkey agar	35 - 37 °C; aeróbne; 16 - 24 hod.; odčítanie po 16 - 24 hod.		
	anaeróbny krvný agar ^c	35 - 37 °C; anaeróbna; 40 - 48 hod. - 5 dní ^c ; odčítanie po viac ako 40 hod.; Actinomyces - anaeróbna kultivácia do 10 dní; odčítanie 7. a 10. deň		
	mykologická kultivácia - kvasinky Sabouraudov agar	35 - 37 °C ; aeróbne; 40 - 48 hod.		
	mykologická kultivácia - vlákňité huby Sabouraudov agar	28 - 30°C; aeróbne; 40 - 48 hod. (až 5 dní); odčítanie po viac ako 40 hod.		



**Podmienky kultivácie mikroorganizmov (bakteriologická, mykologická),
pri laboratórnej mikrobiologickej diagnostike infekcií oka
(pokračovanie Tab. 8)**

Ochorenie oka	Kultivačné médiá (tuhé, tekuté ^a)	Podmienky kultivácie (teplota, atmosféra, čas, odčítanie)	Patogénny mikroorganizmus	Poznámky
Infekcie vnútorných štruktúr oka				
Keratitis	tekuté aeróbne pomnožovacie médium	35 - 37 °C, aeróbne; 24 hod.	Poranenie, vred rohovky P. aeruginosa S. aureus, S. pneumoniae, S. pyogenes, enterokoky, viridujúce streptokoky, Moraxella spp., koaguláza negatívne stafylokoky, Propionibacterium sp. mykobaktérie - rýchlorastúce, Nocardia spp. Kontaktné šošovky gramnegatívne baktérie vrátane P. aeruginosa, Serratia spp. Bacillus spp. Kvasinky, vláknité huby	Keratitis je vyvolaná mnohými mikroorganizmami v závislosti od mechanizmu poškodenia rohovky. Pri chronickej infekcii môžu byť pôvodcovia mikroskopické huby, acidorezistentné baktérie a Nocardia ^d spp.
	pri požiadavke indikujúceho lekára: Thayer-Martin alebo iné špecializované médium pre kultiváciu N. gonorrhoeae	35 - 37 °C; 5 - 10 % CO ₂ ; 40 - 48 hod. odčítanie po viac ako 40 hod.		
	kultivácia acidorezistentných baktérií	riadi sa samostatným postupom		

**Podmienky kultivácie mikroorganizmov (bakteriologická, mykologická),
pri laboratórnej mikrobiologickej diagnostike infekcií oka
(pokračovanie Tab. 8)**

Ochorenie oka	Kultivačné médiá (tuhé, tekuté ^a)	Podmienky kultivácie (teplota, atmosféra, čas, odčítanie)	Patogénny mikroorganizmus	Poznámky
Infekcie vnútorných štruktúr oka				
Endoftalmitída	krvný agar, čokoládový agar	35 - 37 °C; 5 - 10 % CO ₂ ; 40 - 48 hod., denné odčítanie	Po chirurgickom zákroku alebo traumatická S. aureus, KNS, viridujúce streptokoky, Bacillus spp., P. aeruginosa C. acnes anaeróby, vrátane Clostridium spp. Pri bakteriémii S. aureus H. influenzae S. pneumoniae N. gonorrhoeae N. meningitidis gramnegatívne baktérie vrátane P. aeruginosa akékoľvek ďalšie baktérie alebo kvasinky/vláknité huby spôsobujúce bakterémiu	Pri chronickej infekcii po chirurgickom zákroku alebo úraze sa majú vylúčiť huby, acidorezistentné baktérie a Nocardia ^d spp.
	MacConkey agar	35 - 37 °C; aeróbne; 16 - 24 hod.; odčítanie po 16 - 24 hod.		
	anaeróbny krvný agar ^c	35 - 37 °C; anaeróbna; 40 - 48 hod až 5 dní ^c ; odčítanie po viac ako 40 hod.		
	mykologická kultivácia - kvasinky Sabouraudov agar	35 - 37 °C; aeróbne; 40 - 48 hod.		
	mykologická kultivácia - vláknité huby Sabouraudov agar	28 - 30°C; aeróbne; 40 - 48 hod. (až 5 dní); odčítanie po viac ako 40 hod.		
	tekuté aeróbne pomnožovacie médium, pri dostatku biologického materiálu aj tekuté anaeróbne pomnožovacie médium	35 - 37 °C, aeróbne; 24 hod. 35 - 37 °C, anaeróbne; 40 - 48 hod.		



**Podmienky kultivácie mikroorganizmov (bakteriologická, mykologická),
pri laboratórnej mikrobiologickej diagnostike infekcií oka
(pokračovanie Tab. 8)**

Ochorenie oka	Kultivačné médiá (tuhé, tekuté ^a)	Podmienky kultivácie (teplota, atmosféra, čas, odčítanie)	Patogénny mikroorganizmus	Poznámky
Infekcie vnútorných štruktúr oka				
Endoftalmitída	pri požiadavke indikujúceho lekára: Thayer-Martin alebo iné špecializované médium pre kultiváciu <i>N. gonorrhoeae</i>	35 - 37 °C; 5 - 10 % CO ₂ ; 40 - 48 hod., odčítanie po viac ako 40 hod.	Po chirurgickom zákroku alebo traumatická <i>S. aureus</i> , KNS, viridujúce streptokoky, <i>Bacillus spp.</i> , <i>P. aeruginosa</i> <i>C. acnes</i> anaeróby, vrátane <i>Clostridium spp.</i> Pri bakteriémii <i>S. aureus</i> <i>H. influenzae</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>N. gonorrhoeae</i> <i>N. meningitidis</i> gramnegatívne baktérie vrátane <i>P. aeruginosa</i> akékoľvek ďalšie baktérie alebo kvasinky/ vláknité huby spôsobujúce bakteriémiu	Pri chronickej infekcii po chirurgickom zákroku alebo úraze sa majú vylúčiť huby, acidorezistentné baktérie a <i>Nocardia</i> ^d spp.
	kultivácia acidorezistentných baktérií	riadi sa samostatným postupom		



**Podmienky kultivácie mikroorganizmov (bakteriologická, mykologická),
pri laboratórnej mikrobiologickej diagnostike infekcií oka
(pokračovanie Tab. 8)**

Ochorenie oka	Kultivačné médiá (tuhé, tekuté ^a)	Podmienky kultivácie (teplota, atmosféra, čas, odčítanie)	Patogénny mikroorganizmus	Poznámky
Infekcie vnútorných štruktúr oka				
Orbitocelulitída	krvný agar, čokoládový agar	35 - 37 °C; 5 - 10 % CO ₂ ; 40 - 48 hod.; denné odčítanie	S. aureus S. pneumoniae gramnegatívne baktérie vrátane	Sekundárna zmiešaná aeróbna a anaeróbna po traume alebo sinusitíde. Má sa odobrať krv na hemokultiváciu. Huby (vrátane Aspergillus spp. a Mucor spp.) môžu byť dôležité u diabetikov alebo imuno- kompromitova- ných pacientov
	MacConkey agar	35 - 37 °C; aeróbne; 16 - 24 hod; odčítanie po 16 - 24 hod.	P. aeruginosa H. influenzae S. pyogenes anaeróbne baktérie kvasinky, vláknité huby	
	anaeróbny krvný agar ^c	35 - 37 °C; anaeróbna; 40 - 48 hod. - 5 dní ^c ; odčítanie po viac ako 40 hod.		
	mykologická kultivácia - kvasinky Sabouraudov agar	35 - 37 °C ; aeróbne; 40 - 48 hod.		
	mykologická kultivácia - vláknité huby Sabouraudov agar	28 - 30°C; aeróbne; 40 - 48hod. (až 5 dní); odčítanie po viac ako 40 hod.		
	tekuté aeróbne pomnožovacie médiu, pri dostatku biologic- kého materiálu aj tekuté anaerób- ne pomnožovacie médiu	35 - 37 °C, aeróbne; 24 hod. 35 - 37 °C, anaeróbne; 40 - 48 hod.		

Upravené podľa: Leber, 2016; PHE, 2017a; Miller, 2018

^a Pomnožovacie tekuté médium (Scharfen, 2013); v prípade dostatočného množstva materiálu (najmä tekuté materiály) má byť použité aj pomnožovacie médium (PHE, 2017a). Bujónové kultúry z invazívne získaných materiálov majú byť kultivované do 10 dní na detekciu infekcie *Cutibacterium acnes* alebo *Actinomyces* spp., odčítanie denne (Leber, 2016).

^b Mykologická kultivácia pri týchto infekciách podľa klinických údajov – u imunokompromitovaného pacienta, pri chronickej blefaritíde

^c Pri podozrení na infekciu grampozitívnymi paličkami predĺžiť anaeróbnu kultiváciu až na 10 dní (mikroskopický obraz grampozitívnych vetviacich sa paličiek) (PHE, 2017a)

^d Pri podozrení na *Nocardia* spp. je potrebné upovedomiť laboratórium - použitie špecializovaných médií a predĺženie kultivácie (min.7 dní).

Mikroskopické vyšetrenie (baktérie, huby):

- preparát farbený podľa Grama,
- farbenie na dôkaz húb, napr. calcofluor (hýfové elementy alebo kľúčiace kvasinky),
- mikroskopia *Acanthamoeba* spp.,
- ostatné podľa predpokladaného mikroorganizmu (acidorezistentné baktérie).

Identifikácia mikroorganizmov (baktérie, huby)

Na identifikáciu mikroorganizmov sa používajú postupy testovania metabolických (biochemických) vlastností baktérií pomocou jednoduchých metabolických testov, identifikácia jednoduchým testom s antibiotikom, fenotypové komerčné identifikačné systémy na testovanie metabolických vlastností, metódy latexovej aglutinácie, metóda hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF, dôkaz tvorby kľúčnych hýf, asimilácia zdrojov uhlíka a dusíka, fermentácia sacharidov, mikrokultúry, kultivácia na chromogénnom médiu, hodnotenie makromorfologických a mikromorfologických vlastností kultúry.

Stanovenie citlivosti na antimikrobiálne látky

Vykonáva sa kvalitatívne diskovým difúznym testom, kvantitatívne metódami na princípe mikrodilučnej bujónovej metódy, gradientovým testom. Pri stanovení citlivosti na antimikrobiálne látky a interpretácii testovania sa riadime aktuálnymi zásadami Európskej komisie pre testovanie citlivosti na antibiotiká EUCAST a NRC pre sledovanie rezistencie mikroorganizmov na antibiotiká, ÚVZ SR.

Diagnostika *Chlamydia trachomatis*

- priame imunofluorescenčné vyšetrenie,
- dôkaz DNA *Chlamydia trachomatis* molekulárnymi metódami (napr.PCR),
- dôkaz špecifických protilátok v sére enzýmoimunoanalýzou,
- kultivácia na bunkových kultúrach (McCoy, Hep-2 bunky) (nevykonáva sa v rutinných laboratóriách).

Diagnostika vírusov

Dôkaz vírusovej infekcie v zoškraboch spojovky pomocou monoklonových protilátok – nevykonáva sa v rutinných laboratóriách

Izolácia (kultivácia) vírusov na bunkových kultúrach; urýchlená kultivácia „shell vial assay“; dôkaz cytopatického efektu a identifikácia, príp. typizácia vírusu príslušnými metódami (nevykonáva sa v rutinných laboratóriách).

Priamy dôkaz vírusovej nukleovej kyseliny (CMV, VZV, HSV, EBV DNA) kvalitatívne alebo kvantitatívne, metódami PCR, real-time PCR v očnej tekutine (príp. ster z rohovky, spojkového vaku, bioptické vzorky) (PCR umožňuje rýchlu diagnostiku HSV a VZV).

Priamy dôkaz vírusovej nukleovej kyseliny pri podozrení na virémiu (kvalitatívne), stanovenie vírusovej náložky v krvi molekulárnymi metódami v odôvodnených prípadoch (kvantitatívne).

Dôkaz autochtónnej tvorby protilátok proti jednotlivým vírusom (CMV, HSV, VZV, EBV), výpočet protilátkového indexu, potrebný je paralelný (súčasný) odber očnej tekutiny a séra (tiež stanovenie celkového IgG a albumínu).

Dôkaz špecifických protilátok v sére, u vybraných pacientov stanovenie avidity (CMV IgG).

Diagnostika parazitárnych infekcií:

Mikrobiologická laboratórna diagnostika voľne žijúcich améb *Acanthamoeba* spp. je založená na priamom dôkaze meňaviek. Materiál (zoškrab rohovky) sa transportuje

do laboratória okamžite v sterilnom fyziologickom roztoku alebo v sterilnej vode. Kultivuje sa na nevýživnom agare s kultúrou gramnegatívnych baktérií (*Escherichia coli*, resp. *Enterobacter aerogenes*) pri 30 – 37 °C. Do niekoľkých hodín až dní pozorujeme trofozoity **C, V** (Ondriska, 2016).

Možné je aj priame naočkovanie zoškrabu z rohovky na kultivačné médium pri lôžku pacienta **C, V** (Ondriska, 2016; PHE, 2017a).

Molekulárne metódy – PCR s použitím špecifických primerov pre identifikáciu DNA akantaméb **C, V** (Ondriska, 2016).

Mikrobiologická laboratórna diagnostika pri očnej toxoplazmóze:

Molekulárne metódy: dôkaz DNA parazita v krvi, vo vitreálnej alebo komorovej tekutine (PCR).

Dôkaz intraokulárnej (lokálnej) tvorby protilátok v očnej tekutine (komorová tekutina, sklovec) a v sére, stanovenie protilátkového indexu **B, II** (Baron, 2013)

Diagnostika očnej larva migrans: stanovenie protilátok v očnej tekutine (komorový mok, vitreálna tekutina).

Diagnostika očnej cysticercózy: stanovenie protilátok v očnej tekutine (komorový mok, vitreálna tekutina).

Dokumentácia a oznamovanie výsledkov

Výsledky jednotlivých vyšetrení v prípade závažných infekcií oka sa okamžite telefonicky hlásia ošetrovateľovi. O telefonickom hlásení výsledku sa musí urobiť a uchovávať záznam.

Výsledky musia byť klinickému oddeleniu k dispozícii v písomnej forme alebo ako výsledok v príslušnom informačnom systéme.

Všetky výsledky mikrobiologického vyšetrenia sa evidujú v laboratórnom informačnom systéme laboratória.

Minimálne materiálo-technické zabezpečenie

Zariadenie a vybavenie laboratória (stavebné, prístrojové a technologické) potrebné pre zabezpečovanie diagnostiky infekčných ochorení, prácu s infekčným materiálom (pracovné činnosti s expozíciou biologickým, chemickým faktorom), pre podmienky kultivácie a izolácie mikroorganizmov na kultivačných médiách v definovaných podmienkach (aeróbna, anaeróbna kultivácia, kultivácia rastovo náročných baktérií, mykologická kultivácia), pre identifikáciu mikroorganizmov a stanovenie citlivosti voči antimikrobiálnym látkam. Zariadenie a vybavenie laboratória na stanovenie špecifických protilátok príslušnými metódami. Vybavenie laboratória na realizáciu základných molekulárnych analýz.

Minimálne personálne zabezpečenie

Výkon vykonáva lekár mikrobiológ špecializovaný v špecializačnom odbore klinická mikrobiológia, laboratórny diagnostik so špecializáciou v špecializačnom odbore laboratórne a diagnostické metódy v klinickej mikrobiológii, zdravotnícki laboranti alebo diplomovaní medicínsko-technickí laboranti so špecializáciou v špecializačnom odbore vyšetrovacie metódy v klinickej mikrobiológii, zdravotnícki laboranti s VŠ vzdelaním 1. alebo 2. stupňa v odbore laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve.

Interpretácia výsledkov testov

Interpretáciu výsledkov vykonáva klinický mikrobiológ. V prípade potreby konzultuje s ošetrovateľom, lekárom, oftalmológom, spracovania biologického materiálu, ďalej nález mikroorganizmov a návrh antimikrobiálnej liečby podľa vykonaného testovania citlivosti voči antimikrobiálnym látkam.

Pozitívne nálezy z invazívne odobratých materiálov z vnútorných štruktúr oka je potrebné hlásiť čo najskôr. Oznamuje sa relatívny počet a morfológia všetkých mikroorganizmov, prítomnosť a počet somatických buniek (hlavne PMNL) a lokalizácia (intra alebo extracelulárna) mikroorganizmov **B, III** (Leber, 2016). Pri kultivácii invazívne odobratých materiálov sa oznamuje aj množstvo a všetky morfologické typy mikroorganizmov na kultivačnom médiu.

Mikroskopia: v preparáte farbenom podľa Grama sa posudzuje prítomnosť somatických buniek, extra a intracelulárne lokalizovaných mikroorganizmov:

- farbiteľnosť mikroorganizmov podľa Grama a ich morfológia,
- prítomnosť polymorfonukleárných leukocytov (PMNL) svedčí pre bakteriálnu infekciu,
- prítomnosť mononukleárných buniek môže indikovať vírusovú konjunktivitídu.

Kultivácia:

Korelujte výsledok kultivácie s nálezom v preparáte podľa Grama z biologického materiálu **B, III** (Leber, 2016).

Konjunktivitída: uvádzajú sa klinicky významné mikroorganizmy. Mikroorganizmy, ktoré sú súčasťou fyziologickej flóry kože a slizníc (bežná mikrobiota), t. j. koaguláza negatívne stafylokoky, *Corynebacterium* spp., viridujúce streptokoky sú pri záchytech zo sliznice spojovky považované za nepatogénne. Zvyčajne nie sú príčinou konjunktivitídy, ale môžu byť príčinou keratitídy po chirurgickom zákroku alebo endoftalmitídy. Ak sú prítomné v materiáloch odobratých z povrchu očnej gule alebo vnútorných štruktúr oka, sú spolu s *Cutibacterium (Propionibacterium) acnes* považované za patogénne, najmä u pacientov po chirurgickom výkone pre kataraktu alebo LASIC operácii **B, V** (Miller, 2018). Potrebu identifikácie kolónií z bežnej mikroflóry (koaguláza-negatívne stafylokoky, *Corynebacterium* spp., viridujúce streptokoky, *Moraxella catarrhalis*, *Cutibacterium acnes*, *Peptostreptococcus* spp. a iné anaeróby) z neinvazívne odobratých materiálov konzultujte s odosielajúcim lekárom **B, III** (Leber, 2016).

Všetky mikroorganizmy v akomkoľvek množstve z kritických materiálov (komorový mok, vitreálna tekutina) je potrebné identifikovať a stanoviť citlivosť na antimikrobiálne látky **B, III** (Leber, 2016).

Keratitída po chirurgickom zákroku: najčastejšie je vyvolaná koaguláza-negatívnymi stafylokokmi, *Cutibacterium acnes* a *Acanthamoeba* spp., ktoré by v tomto prípade nemali byť považované za kontaminanty, ale za potenciálne patogény **B, II** (Baron, 2013; Miller, 2018).

Keratitída: záchyt akéhokoľvek parazita zo zoškrabu rohovky je významný a je potrebné ho hlásiť odosielajúcemu lekárovi **C, V** (Miller, 2011).

Endoftalmitída, uveitída/retinitída: akýkoľvek rast mikroorganizmov z vnútroočnej tekutiny je potrebné vyhodnotiť a hlásiť **C, V** (Miller, 2011) a stanoviť citlivosť na antimikrobiálne látky.

Odhadované náklady

Náklady na bakteriologické kultivačné vyšetrenie aeróbne, anaeróbne, pre rastovo náročné baktérie, subkultiváciu a metódy identifikácie mikroorganizmov. Náklady na mykologické vyšetrenie kvasiniek, vláknitých húb, subkultivácie a identifikáciu mikroorganizmov, stanovenie citlivosti na antimikrobiálne látky. Počet vykultivovaných mikroorganizmov z jedného biologického materiálu môže byť rôzny. Vyšetruje sa párový orgán, pre každé oko zvlášť.

Náklady na sérologické analýzy dôkazu špecifických protilátok, stanovenie autochtónnej produkcie protilátok. Sérologické analýzy môžu vyžadovať opakovanie vyšetrenia v určenom časovom odstupe na posúdenie vývoja (štádia) infekčného ochorenia.

Náklady na molekulárno-biologické analýzy na určenie príčiny ochorenia a monitorovanie ochorenia (kvalitatívne, resp. kvantitatívne vyšetrenia). Molekulárno-biologické analýzy môžu vyžadovať opakovanie vyšetrenia v určenom časovom odstupe na posúdenie vývoja (štádia) infekčného ochorenia a/alebo úspešnosti liečby.

Zabezpečenie a organizácia starostlivosti / realizácie diagnostiky

Kultivačné bakteriologické a mykologické vyšetrenie, stanovenie špecifických protilátok (sérologické) vyšetrenie realizujú všetky pracoviská Klinickej mikrobiológie, zaradené do siete zdravotníckych zariadení.

Doplkové otázky manažmentu pacienta a zúčastnených strán

Hlásenie povinne hlásených prenosných ochorení, podozrení na ochorenia a nosičstiev choroboplodných mikroorganizmov (Príloha č. 7 k zákonu č. 355/2007 Z. z.).

Alternatívne odporúčania

Identifikácia pôvodcov infekčných ochorení oka použitím molekulárno-biologických metód. Rýchly dôkaz zistenia vyvolávajúceho infekčného agensa môže byť rozhodujúci pre liečbu (napr. vírusové ochorenia). Sledovanie vírusovej nálože v odôvodnených prípadoch.

Uvedené metódy nenahrádzajú základné metódy kultivácie, identifikácie a stanovenia citlivosti voči antimikrobiálnym látkam.

V indikovaných prípadoch kombinácia metód za účelom zvýšenia senzitivity alebo špecificity testovania.

Zavádzanie nových postupov pre identifikáciu nových a znovu sa objavujúcich infekcií.

Odporúčania pre ďalší audit a revíziu štandardu

Sledovanie nových poznatkov o infekčnej etiológii ochorení oka, infekciách v súvislosti s prítomnosťou bakteriálneho biofilmu, vývoja rezistencie mikroorganizmov na antimikrobiálne látky, zavádzanie nových mikrobiologických diagnostických metód, sledovanie platných odporúčaní príslušných odborných spoločností (mikrobiologické, oftalmologické, infektologické). Vzhľadom na uvedené je odporúčané revidovať štandardný diagnostický a operačný postup v časovom intervale 1 rok počas prvých 2 rokov, následne

každých 5 rokov, resp. pri známom novom vedeckom dôkaze o efektívnejšom manažmente diagnostiky alebo liečby a tak skoro ako je možnosť zavedenia tohto postupu do zdravotného systému v Slovenskej republike. Klinický audit a nástroje bezpečnosti pacienta budú doplnené pri 1. revízii.

Literatúra

Pri posudzovaní literárnych zdrojov sa používa upravená tabuľka GRADE podľa Štandardov Spojeného kráľovstva pre mikrobiologické vyšetrenia **B, III** (PHE, 2017b). Každý literárny zdroj sa hodnotí a prideli sa mu známka pre silu odporúčania (A-D) a kvalitu dôkazov (I-V). Súhrnná tabuľka, ktorá definuje známku, je uvedená nižšie a mala by sa používať v spojení s použitými literárnymi zdrojmi **B, III** (PHE,2017b).

1. BARON, E., J. a kol. 2013. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)^a. In *Clinical Infectious Diseases*, vol. 57, no. 4, p. e22–e121, <https://doi.org/10.1093/cid/cit278>. **B, III** Dostupné na : <https://academic.oup.com/cid/article/57/4/e22/347499/A-Guide-to-Utilization-of-the-Microbiology>
2. BARON, E. J. 2015. Specimen collection, transport and processing. In: *Jorgensen JH., Pfaller MA., editors in chief. Manual of Clinical Microbiology*, 11.ed. Washington DC: ASM Press. 2015. 1389 p. ISBN 978-1-55581-737-4. **B, III**
3. BOURCIER, T. 2012. Ocular Infection. In: *Cornaglia G., Courcol R., Hermann J.L., Kahlmeter G., Peigue-Lafeuille H., Vila J., European Manual of Clinical Microbiology*. 1st ed. Epernay (Marne): Scriptorium, 2012. 469 s. ISBN 978-2-87805-026-4. **B, III**
4. CZIRFUSZOVÁ, M., HORNIACKOVÁ, M., NIKŠ, M a kol. 2019. Štandardný postup pre laboratórnu diagnostiku v klinickej mikrobiológii. In *Vestník MZ SR, Osobitné vydanie* 1. februára 2019, roč. 67, 2019. Dostupné na: <http://www.health.gov.sk/?spdtp>. **A, V**
5. LEBER, A. a kol. 2016. *Clinical microbiology procedures handbook*. 4th ed. Washington DC: ASM Press; 2016. **B, III**
6. LIPTÁKOVÁ, A. a kol. 2019. *Lekárska mikrobiológia*. Bratislava: Herba, 2019. 952 s. ISBN 978-80-8963-191-9. **D, V**
7. MAJTANOVA, N., VODRAZKOVA, E., KURILOVA, V., HORNIACKOVA, M., CERNAK, M., CERNAK, A., MAJTAN, J. 2014. Complementary treatment of contact lens-induced corneal ulcer using honey: A case report. In *Contact Lens & Anterior Eye*, ISSN 1367-0484, 2014, s. 61-63. **D, III**
8. MILLER, D. Ocular Infection. 2011. In *Mahon K., Lehman D.C, Manuselis G., editors. Textbook of diagnostic microbiology, 4-th ed*. Missouri: W. B. Saunders Company, 2011. ISBN 978-1-4160-6165-6. 1080 s. **C, V**
9. MILLER, J.M. a kol. 2018. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology^a. In *Clinical Infectious Diseases* [online].

- 2018 vol. 67, no. 6, Dostupné na internete: <<https://doi.org/10.1093/cid/ciy381>>.ISSN 1537-6591. **B, V**
10. MURRAY, P.R. ROSENTHAL, K.S. PFALLER, M.A. 2013. *Medical Microbiology*. 7. ed. Philadelphia: ELSEVIER Saunders, 2013. 874 s. ISBN 978-0-323-08692-9. **B, III**
11. ONDRISKA, F., BOLDIŠ, V., GARAJOVÁ, M., MRVA, M. 2016. *Klinická parazitológia. 1. vyd.* [online]. Bratislava: Univerzita Komenského, 2016, 239 s. Dostupné na internete: <https://www.researchgate.net/publication/312687689_Klinicka_parazitologia>. ISBN 978-80-223-4217-9. **C, V**
12. Public Health England. 2017a. Investigation of Bacterial Eye Infections. UK Standards for Microbiology Investigations. B 2 Issue 6.1. <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories> **B, III**
13. Public Health England. 2017b. Inoculation of culture media for bacteriology. UK Standards for Microbiology Investigations. Q 5 Issue 2. <https://www.gov.uk/ukstandards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinicallaboratories>. **B, III**
14. SCHARFEN J. ml., 2013. *Diferenciální diagnostika v klinické mikrobiologii*. Praha: NUCLEUS HK, 2013. 223 s. ISBN 978-80-87009-32-1. **C, V**
15. STUDNIČKA, J., LANGROVÁ, H. 2013. Akutní stavy v oftalmologii. In *Medicina pro praxi*, ISSN 1214-8687, 3013, roč. 10, č. 5, s. 207-210. **C, V**
16. TÖRÖK, E., MORAN.E., COOKE, F. *Oxford Handbook of Infectious Diseases and Microbiology*. 2nd. ed. New York: Oxford University Press, 2017. 879 s. ISBN 978-0-19-967132-8. **B, III**
17. TRNOVEC, T., DZÚRIK, R. 1998. *Štandardné diagnostické postupy*. Martin: Osveta, 1998. 832 s. ISBN 80-88824-84-2. **C, V**

Poznámka:

Ak klinický stav a osobitné okolnosti vyžadujú iný prístup k prevencii, diagnostike alebo liečbe ako uvádza tento štandardný postup, je možný aj alternatívny postup, ak sa vezmú do úvahy ďalšie vyšetrenia, komorbidity alebo liečba, teda prístup založený na dôkazoch alebo na základe klinickej konzultácie alebo klinického konzília.

Takýto klinický postup má byť jasne zaznamenaný v zdravotnej dokumentácii pacienta.

Účinnosť

Tento štandardný postup nadobúda účinnosť od 1. apríla 2020.

Peter Pellegrini
poverený vedením
ministerstva