

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
katedra biologických a lékařských věd

Analýza rizik výskytu methicilin – rezistentních kmenů
Staphylococcus aureus (MRSA)

(bakalářská práce)

Hradec Králové, 2008

Ludmila Holubová

Poděkování

Děkuji PharmDr. Petru Jílkovi, CSc. za vstřícný přístup, věcné připomínky a čas, který věnoval mé bakalářské práci a MUDr. Evě Míčkové za konzultace z oblasti nemocniční hygieny.

Prohlašuji,

že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a veškeré použité zdroje jsem uvedla v seznamu literatury.

Hradec Králové 5.září 2008

.....

OBSAH

OBSAH	4
1. Abstrakt	6
2. Cíl práce	7
3. Zkratky	8
4. Teoretická část	9
4.1 Staphylococcus aureus.....	9
4.1.1 Morfologie	9
4.1.2 Antigenní stavba, genetika.....	9
4.1.3 Kultivace	10
4.1.4 Faktory virulence.....	11
4.1.5 Patogenita.....	11
4.1.6 Léčba	12
4.2 Methicilin-rezistentní Staphylococcus aureus.....	12
4.2.1 Genetika a rezistence k antibiotikům.....	13
4.2.2 Epidemiologie	13
4.2.3 Výskyt MRSA ve zdravotnických zařízeních	14
4.2.4 Riziko výskytu MRSA.....	14
4.2.5 Léčba MRSA.....	15
5. Laboratorní část – průkaz MRSA v mikrobiologické laboratoři	16
5.1 Kultivační průkaz	16
5.1.1 Neselektivní kultivační půda.....	16
5.1.2 Selektivní kultivační půdy.....	17
5.2 Latexová aglutinace – MRSA Latex Test.....	17
5.3 Antibiogramy.....	18
5.3.1 Difúzní disková metoda.....	18
5.3.2 Mikrodiluční metoda – minimální inhibiční koncentrace MIC.....	19
5.3.3 Gradientová difúzní metoda na agaru - E test.....	20
5.3 Polymerázová řetězová reakce – PCR	21
6. Surveillance MRSA	22
6.1 Surveillance MRSA v Evropě.....	22
6.2 Surveillance MRSA v České republice	25
7. Analýza rizik MRSA	26
7.1. Obecná charakteristika rizik.....	26

7.2. Analýza rizik MRSA	27
7.3. Vyhodnocení rizik	30
8. Opatření ve zdravotnických zařízeních	31
8.1 Vyhledávání a mikrobiologická monitorace MRSA	31
8.1.1 Vyšetření při příjmu pacienta	31
8.1.2 Vyšetřování pacientů v kontaktu s MRSA při sporadickém výskytu .	31
8.1.3 Vyšetřování pacientů v kontaktu s MRSA při epidemickém výskytu	31
8.1.4 Vyšetřování pacientů v zařízeních s endemickým výskytem MRSA	31
8.1.5 Vyšetřování pacientů s prokázaným nálezem MRSA.....	32
8.1.6 Vyhledávání nosičů u zdravotnického personálu	32
8.2 Izolace pozitivních pacientů.....	32
8.3 Bariérový ošetrovací režim	32
8.3.1 Personál.....	32
8.3.2 Pomůcky a nástroje.....	33
8.3.3 Úklid a dezinfekce	33
8.3.4 Hygiena rukou.....	34
8.4 Antibiotická politika ve vztahu k MRSA.....	34
8.5 Etické a psychologické aspekty kontroly MRSA	34
9. Nové metody v laboratorním průkazu a léčbě MRSA	35
9.1 Panton-Valentine leukocidin – PVL	35
9.2 BD GeneOhm™MRSA	35
9.3 Přípravek XF – 73.....	36
9.4 Bakteriofágový lysin – MV-L	36
10. Závěr	37
11. Seznam použité literatury a informačních zdrojů.....	38

1. Abstrakt

Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* byl poprvé popsán v Anglii v roce 1961 po zavedení methicilinu do praxe. Rezistence na methicilin je způsobena přítomností genu *mecA*, který kóduje pozměněný druh penicilinvázajícího proteinu PBP2a. Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* je rezistentní vůči všem beta-laktamům, včetně jejich kombinací s inhibitory beta-laktamáz.

Výskyt těchto rezistentních kmenů v nemocnicích má zásadní vliv na morbiditu a mortalitu hospitalizovaných pacientů a v nemalé míře i na ekonomické aspekty nákladnosti léčby.

Výskyt methicilin-rezistentních *Staphylococcus aureus* v ČR je ve srovnání s některými zeměmi západní Evropy příznivý, situace se rychle mění, a proto je třeba reagovat preventivními a konkrétními léčebnými a ošetřovatelskými postupy.

Zvýšený počet infekcí způsobených methicilin-rezistentním *Staphylococcus aureus* a jejich rychlé šíření v českých nemocnicích je důsledkem nedodržování protiepidemických opatření a nadměrného užívání antibiotik.

Výsledkem této práce má být analýza rizik výskytu methicilin-rezistentního *Staphylococcus aureus*, jehož přítomnost a šíření v ČR je komplikací pro zdravotnická zařízení.

Nejzávažnější rizika mají vyvolat potřebu zavádění nových postupů, jejichž cílem je zabránit šíření rezistentních kmenů a eliminovat riziko vzniku vážných infekcí s omezenými možnostmi antibiotické léčby.

2. Cíl práce

Cílem práce je zpracovat analýzu rizik výskytu MRSA na základě zvolených kritérií, pomocí kombinace dvou složek, a to pravděpodobnosti výskytu rizika a odhadu jeho závažnosti.

Teoretická část práce je zaměřena na molekulárně-biologickou charakteristiku bakteriálního druhu *Staphylococcus aureus* a MRSA. Laboratorní část práce popisuje běžné kultivační techniky, stanovení antibiogramů a bezkultivační metody. V další části práce uvádím přehled výskytu MRSA a doporučený postup opatření ve zdravotnických zařízeních. Poslední kapitola obsahuje nové laboratorní metody a možnosti léčby MRSA, i když některé ve stádiu výzkumu.

3. Zkratky

MRSA	methicilin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
mecA	gen
PBP	transpeptidáza
PBP2a	enzym, penecilinvázající protein
PCR	polymerázová řetězová reakce (z anglického Polymerase Chain Reaction)
EARSS	European Antimicrobial Resistance Surveillance Systém
DNA	deoxyribonukleová kyselina
JIP	jednotka intenzivní péče
PVL	Panton-Valentine leukocidin

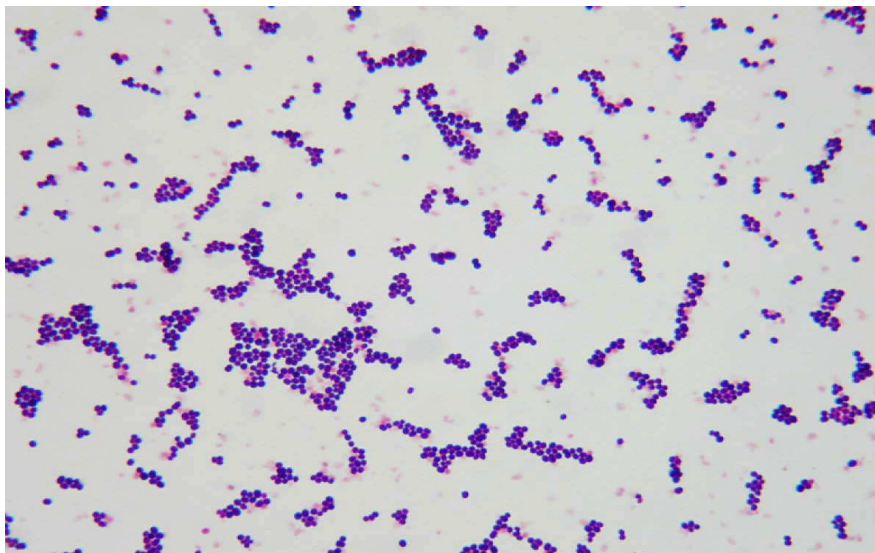
4. Teoretická část

4.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus je grampozitivní bakterie kulovitého typu. Je původce hnisavých infekcí kůže, ran, kostí, sepsí i enterotoxikózy. Mnohé tvoří enzym penicilinázu, který štěpí běžná penicilinová antibiotika, a proto je nelze použít k léčbě. (Ryšková, 2000)

4.1.1 Morfologie

Grampozitivní koky (v mikroskopickém obrazu tmavěmodré) o průměru 1 μm , uspořádané ve dvojicích, tetrádách nebo ve velmi krátkých řetězcích, ale především v nepravidelných shlucích tvaru hroznů. Jsou nepohyblivé a netvoří spóry. (Votava a kol., 2003)



Obr. 1 Grampozitivní koky

4.1.2 Antigenní stavba, genetika

Buněčná stěna stafylokoků obsahuje peptidoglykan (murein), kyselinu teichoovou a protein A. Peptidoglykan podněcuje uvolňování cytokinů z makrofágů, aktivaci komplementu a shlukování krevních destiček. Hlavní antigenní determinantou je skupinově specifický polysacharid A, který se uplatňuje v adhezi na sliznice a rány. Protein A je bílkovinnou součástí buněčné stěny a společným skupinovým antigenem většiny kmenů. Schopnost nespecificky reagovat s Fc-fragmentem imunoglobulinů chrání stafylokoka před

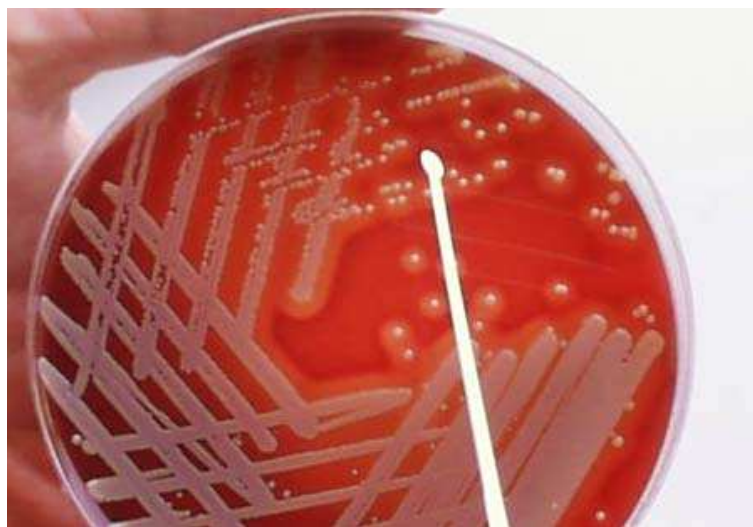
opsonizací protilátkami a má i schopnost působit proti účinku komplementu a fagocytů.

Genom *Staphylococcus aureus* obsahuje řadu profágů, transpozomů a inzerčních sekvencí. Přenos genů mezi kmeny probíhá pomocí transdukce. To se týká i genů rezistence na antibiotika umístěných na plazmidech. (Votava a kol., 2003) Kmeny izolované z nemocničního prostředí obsahují plazmidy dvojího druhu:

- 1) velký plazmid 2 107 daltonů, jehož replikace je řízena chromosomem a determinuje produkci penicilinázy a rezistenci k erytromycinu
- 2) plazmid 3 106 daltonů nese rezistenci k tetracyklinům a chloramfenikolu (web 3. LF UK)

4.1.3 Kultivace

Staphylococcus aureus roste dobře na běžných kultivačních půdách v širokém rozmezí teplot (7-46°C), růstové optimum je 37°C. Je fakultativně anaerobní, nenáročný, osmoticky rezistentní, roste i na půdě s obsahem 7,5% NaCl. V tekutých půdách roste v zákalu, tvoří výrazný sediment. Na pevných půdách roste v koloniích 1 až 3 mm velkých, jsou neprůhledné, pigmentované, mají krémovitou konzistenci s hladkým povrchem a rovným okrajem. Kolem kolonie bývá v různém stupni vyjádřená beta-hemolýza. (Votava a kol., 2003)



Obr.2 *Staphylococcus aureus* (web 3. LF UK)

4.1.4 Faktory virulence

Staphylococcus aureus je vybaven faktory virulence, které dělíme na povrchové a extracelulární.

K povrchovým faktorům patří – peptidoglykan, protein A, pouzdra, vázaná koaguláza (clumping factor), která váže fibrinogen, mění ho na fibrin a tím vyvolá shlukování stafylokoků.

Extracelulární faktory virulence lze rozdělit na enzymy a toxiny. K enzymům patří koaguláza, kataláza, hyaluronidáza, lipázy, nukleázy, fibrinolysin a penicilináza. Mezi stafylokokové toxiny se řadí hemoliziny, enterotoxiny, toxin syndromu toxického šoku a exfoliativní toxiny.

Volná koaguláza reaguje s plazmatickým faktorem za vzniku stafylothrombinu, který katalyzuje změnu fibrinogenu na fibrin. Fibrin vytváří kolem ložiska stafylokoků ochranný fibrinový obal, který chrání stafylokoky před fagocytózou, protilátkami nebo antibiotiky.

Hyaluronidáza štěpí kyselinu hyaluronovou v mezibuněčném tmelu a usnadňuje šíření stafylokoků ve tkáních.

Pantonův-Valentinův leukocidin vytváří póry v membráně neutrofilů a makrofágů, což vede k lýze těchto buněk.

Penicilináza je beta-laktamáza kódovaná plazmidem. (Votava a kol., 2003)

4.1.5 Patogenita

Stafylokokové infekce člověka jsou exogenního nebo endogenního původu. Klinická manifestace je projevem aktivity toxinů (syndrom opažené kůže, syndrom toxického šoku, stafylokoková enterotoxikóza) nebo přímé invaze s destrukcí tkání a tvorbou abscesů – hnisavá onemocnění vlasových folikulů a mazových žlázek, kůže a podkoží, rané infekce, popáleniny, otitidy, pneumonie, meningitidy, endokarditidy, osteomyelitidy, endometritidy, sepse, septikémie s rozšířením do nejrůznějších orgánů.

Pro vznik onemocnění je potřebná vysoká infekční dávka a snížená obranyschopnost organismu (kůže poškozená traumatem, chirurgickým zákrokem, infekcí, popálením, přítomností cizího tělesa – katétry, protetický materiál).

Akutní infekce často přecházejí do chronického stádia, kde se uplatňuje přecitlivělost časného i oddáleného typu. (Horáček a kol., 2000)

4.1.6 Léčba

Pro častou rezistenci kmenů je nutné zvolit vhodné antibiotikum podle zjištěného antibiogramu. Dnes je přes 90% kmenů *Staphylococcus aureus* na penicilin rezistentních, protože získaly plazmid kódující schopnost tvořit penicilinázu, tedy beta-laktamázu specificky štěpící molekulu penicilinů. Většina komunitních kmenů je u nás stále citlivá na polosyntetické peniciliny, do jejichž molekuly byla vnesena vhodná skupina, která brání přístupu beta-laktamázy k citlivému místu na beta-laktamovém kruhu. K léčbě lze použít oxacilin, v zahraničí se užívá oxacilinu příbuzný methicilin, a ostatní k beta-laktamáze rezistentní peniciliny, event. peniciliny v kombinaci s inhibítorem beta-laktamázy, cefalosporiny, makrolidy, aminoglykosidy, linkosamidy, chinolony.

K léčbě ohraničených kožních infekcí a k odstranění nosního nosičství slouží lokální antibiotikum, mupirocin. (Votava a kol., 2003 ; Horáček a kol., 2000)

4.2 Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*

Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) je rezistentní k oxacilinu (v zahraničí se užívá oxacilinu příbuzný methicilin) a všem ostatním beta-laktamovým antibiotikům, včetně kombinací s inhibitory beta-laktamázy a karbapenemům.

MRSA je významný nozokomiální patogen se schopností se rychle šířit, zejména v prostředí vysokého selekčního tlaku antibiotik. V posledních letech se však stále častěji objevují kmeny, které nepocházejí z prostředí nemocnic – komunitní MRSA (CA-MRSA), svými vlastnostmi se liší od kmenů nozokomiálních.

MRSA nejsou virulentnější než původní citlivé bakterie druhu *Staphylococcus aureus*. K vyvolání infekce je zapotřebí stejný počet bakteriálních buněk.

Infekce způsobené MRSA jsou díky omezeným možnostem antimikrobiální léčby spojeny s vysokou mortalitou a vysokými léčebnými náklady. Náklady spojené s prevencí MRSA jsou až 5x nižší než náklady na léčbu jedné klinicky manifestní infekce. (Bergerová a kol., 2006)

4.2.1 Genetika a rezistence k antibiotikům

Podstatou rezistence na methicilin či oxacilin je přítomnost genu *mecA*, jenž kóduje pozměněný druh penicilinvázajícího proteinu PBP2a. PBP jsou transpeptidázy, které se účastní na výstavbě buněčné stěny a peniciliny inhibují jejich účinek, takže v důsledku narušené buněčné stěny se mikroby rozpadají. Modifikovaný PBP2a si zachovává svoji enzymatickou schopnost, ale na peniciliny se neváže. Gen *mecA* však nemusí být exprimován, takže standardní diskový test citlivosti nemusí rezistenci na oxacilin odhalit. U kmenů, které prokazují rezistenci, se potvrzuje přítomnost genu *mecA* pomocí PCR nebo přítomnost jeho produktu PBP2a pomocí latexové aglutinace.

Nové nebezpečí představují kmeny MRSA, které jsou rezistentní k vankomycinu (VRSA). Jejich úplná rezistence ke glykopeptidům souvisí s přítomností genu *vanA*. Mohl by z nich vzniknout natolik polyrezistentní kmen, že infekce jím způsobené nebudeme mít čím léčit. (Votava a kol., 2003; Bergerová a kol., 2006)

4.2.2 Epidemiologie

Zdrojem přenosu MRSA je infikovaný nemocný nebo nosič MRSA. Nosič je osoba bez klinických příznaků infekce. Nosičství je nejčastější na nosní sliznici, na kůži (perineum, třísla, axily, hýždě). Při současném vyšetření vzorků z nosu, krku a perinea lze prokázat až 98,3% nosičů MRSA. Nosičství u zdravých osob nemusí být příčinou šíření, ale akutní respirační onemocnění může být zvýšeným rizikem.

Nebezpečným zdrojem šíření je chronický nosič, který se kolonizoval nebo prodělal infekci při pobytu ve zdravotnickém zařízení. Nosičství je spojeno s kolonizací chronických ran a defektů nebo chronických kožních lézí. Nosičství MRSA může přetrvávat týdny, měsíce i roky, může být i intermitentní, a tedy mikrobiologicky obtížně diagnostikovatelné.

V nemocnici se přenos MRSA děje nejčastěji přímo rukama ošetřujícího personálu z pacienta na pacienta, méně často prostřednictvím vyšetřovacích a jiných pomůcek. Přenos MRSA vzduchem je možný jen v silně kontaminovaném prostředí (popáleninová oddělení, JIP). (Bergerová a kol., 2006)

Staphylococcus aureus má výraznou tendenci k tvorbě biofilmu na různých biomateriálech. Biofilmy, vytvářené MRSA vykazují rezistenci na většinu antimikrobiálních látek, a umožňují tudíž kolonizaci MRSA na stentech, katetrech, kanylách. (web ČSLR)

4.2.3 Výskyt MRSA ve zdravotnických zařízeních

Výskyt MRSA může mít charakter – sporadický, epidemický a endemický. Sporadický výskyt představují ojedinělé případy bez vzájemné souvislosti. Epidemický výskyt znamená významně vyšší výskyt, než je obvyklé v daném zařízení, oddělení. Mezi jednotlivými případy existuje vzájemná souvislost, v optimálním případě ověřená biologickou příbuzností jednotlivých kmenů. Endemický výskyt je trvalá přítomnost MRSA ve zdravotnickém zařízení. Zpravidla bývá důsledkem nezvládnutého epidemického výskytu nebo opakovaného zavlékání z jiných zařízení nebo komunity. (Bergerová a kol., 2006)

4.2.4 Riziko výskytu MRSA

Rizikovými faktory pro vznik infekce, nosičství MRSA jsou dlouhodobý pobyt v zařízení, zejména na jednotkách intenzivní péče, invazivní zákroky, léčba antibiotiky, diabetes mellitus, renální insuficience, kožní choroby.

Z hlediska rizika výskytu MRSA můžeme rozdělit medicínské obory do následujících kategorií:

- riziková skupina 1 – vysoké riziko: intenzivní péče, popáleninová a transplantační oddělení, kardiochirurgie, neurochirurgie, ortopedie, traumatologie. Klinicky manifestní infekce MRSA je pro pacienty z uvedených oddělení největším nebezpečím.
- riziková skupina 2 – střední riziko: všeobecná chirurgie, urologie, gynekologie, dermatologie, ORL.
- riziková skupina 3 – nízké riziko: standardní lůžka interních oborů, neurologie, pediatrie.
- riziková skupina 4- specifické riziko: psychiatrie, léčebny dlouhodobě nemocných a pracoviště následné péče. Na tato oddělení mohou být přijímáni chronicky kolonizovaní pacienti, kteří mohou být zdrojem rezistentních kmenů v případě poskytování akutní péče. (Bergerová, a kol., 2006)

4.2.5 Léčba MRSA

Terapie infekce MRSA by měla být cílená dle citlivosti na příslušné mikrobiální agens. Při léčbě MRSA jsou lékem volby glykopeptidy – vankomycin, teikoplanin. Vankomycin vykazuje nefrotoxicitu a ototoxicitu, teikoplanin je podstatně méně toxický než vankomycin. Má velmi dobrý průnik do kůže, měkkých tkání, puchýřů, myokardu, plic.

Relativně dobrá je citlivost ke cotrimoxazolu, rifampicinu a chloramfenikolu. Cortimoxazol je účinný především u lehčích infekcí, podává se perorálně. Účinnost lze potencovat kombinací s rifampicinem, u kterého je rychlý nárůst rezistence. Chloramfenikol se neužívá perorálně a při delším podávání je nutné kontrolovat krevní obraz.

Linezolid patří do skupiny oxazolidinonů. Vzhledem k malé molekule výborně proniká do svalů, měkkých tkání a kostí. Téměř 100% biologická dostupnost po parenterálním i perorálním podání. Senzitivita u stafylokoků je téměř 100%, včetně MRSA.

Preparát quinupristin/dalfopristin patří do skupiny strep-tograminů. Senzitivita u MRSA přesahuje 80%. Vyznačuje se dobrou distribucí do tkání, včetně kostí.

V současné době je nutné vidět i ekonomické hledisko léčby. Cena denní dávky antibiotik, které se běžně užívají při léčbě infekce u pacientů s MRSA:

- vankomycin – 1 280 – 1 880 Kč (iv. aplikace)
- teikoplanin – 4 200 – 5 920 Kč (iv. aplikace)
- linezolid – 7 209 – 10 316 Kč (per os aplikace)

MRSA mohou způsobit těžké systémové infekce se septickými komplikacemi, závažné infekce měkkých tkání, kostí, implantátů. Nález MRSA není vždy důvodem k zahájení antibiotické léčby.

Eradikace, obzvláště u chronických nosičů, bývá velmi náročná, a ne vždy úspěšná. V případě kolonizace se nedoporučuje léčba antibiotiky.

Možnost léčby rezistentních kmenů perorální formou antibiotika při stejné dostupnosti v tkáních výrazně snižuje náklady na hospitalizaci. Zkrácením délky hospitalizace se tak daří kompenzovat část vysokých nákladů na léčbu. (web ČSLR, web HPB)

5. Laboratorní část – průkaz MRSA v mikrobiologické laboratoři

5.1 Kultivační průkaz

K průkazu stafylokoků včetně MRSA používáme klasické kultivační metody, které umožňují stanovení kompletního antibiogramu, přítomnosti faktorů virulence, hodnocení růstových vlastností. Kultivační metody lze modifikovat s cílem zvýšit senzitivitu a také urychlit vyšetření. Nejnovější metody toto umožňují, ale s podstatně vyššími náklady na vyšetření a vyžadují přístrojové vybavení. K vyhledávání nosičů MRSA se stále častěji používají bezkultivační metody (PCR), ale pokud jsou používány izolovaně bez paralelní kultivace, nelze kmen blíže specifikovat.

Stafylokokové infekce většinou nejsou spojeny s diagnostickými problémy, *Staphylococcus aureus* roste na běžných půdách, identifikaci lze provést jednoduchými testy a stanovení antibiogramů za použití standardních metod. K průkazu MRSA můžeme použít selektivní kultivační půdy, u izolovaných kmenů latex-aglutinační testy, PCR.

Situace je poněkud jiná při vyhledávání MRSA screeningovými metodami u nosičů přijatých k hospitalizaci. Laboratoř musí prokázat nebo vyloučit MRSA co nejdříve z důvodů epidemiologických. Pro tyto situace byly vyvinuty selektivní půdy, PCR metody a rychlé kultivační metody. Nové metody přinesly možnost rychlého vyšetření s vysokou senzitivitou a specificitou, ale s vyššími náklady. (web Kmil)

5.1.1 Neselektivní kultivační půda

Kultivační průkaz se provádí běžnými rutinními metodami na neselektivní půdě – krevní agar (obsahuje beraní erytrocyty). Vždy je nutné kultivovat MRSA na neselektivní kultivační půdě, protože MRSA s extrémně nízkou koncentrací buněk rezistentních k oxacilinu se mohou jevit na selektivních půdách jako kmeny citlivé.



Obr.3 MRSA, FN HK ÚKM

5.1.2 Selektivní kultivační půdy

Na selektivní půdě kultivujeme vzorky bez ohledu na původ. Půda obsahuje antibiotikum v koncentraci inhibující citlivé kmeny *Staphylococcus aureus*. Komerčně dostupné selektivní půdy (CHROMagar, Orsab) obsahují oxacilin nebo cefoxicin v koncentraci 2 mg/l, respektive 4 mg/l. (Bergerová a kol., 2006)



Obr.4 Orsab, FN HK ÚKM



Obr.5 CHROMagar (web Trios)

5.2 Latexová aglutinace – MRSA Latex Test

MRSA-SCREEN je latex aglutinační test s použitím vysoce specifických monoklonálních protilátek pro detekci penicilinvázajícího proteinu PBP2a. Výsledek testu hodnotíme za 10-15 minut z jedné kolonie odebrané z krevního

agaru. MRSA-SCREEN je výhodný pro rychlou detekci v laboratořích, 99% testů je citlivých a specifických pro MRSA.



Obr.6 Souprava MRSA-SCREEN (web Denka-Seiken)

5.3 Antibiogramy

5.3.1 Difúzní disková metoda

Diskovou difúzní metodou se semikvantitativně stanoví citlivost nebo rezistence podle toho, zda vyšetřovaný kmen ve stanovené koncentraci buněk na agarové půdě vytvoří nebo nevytvoří přípustnou zónu inhibice kolem disku s určitou koncentrací antibiotika, a to po předepsané době inkubace. Vytvoří-li vyšetřovaný kmen inhibiční zónu o stejném nebo větším průměru, než je hraniční průměr, pokládá se za citlivý k dané antimikrobiální látce. V opačném případě je kmen označen jako rezistentní.

Vytvoření inhibiční zóny < 20 mm kolem disku s 30 µg cefoxitinu nebo <13 mm kolem disku s obsahem 1µg oxacilinu spolehlivě odlišuje MRSA od kmenů *Staphylococcus aureus* citlivých k oxacilinu. U těchto kmenů MRSA se potvrzuje přítomnost *mecA* genu pomocí PCR, nebo produktu PBP2a genu *mecA* latexovou aglutinací. (Bergerová a kol., 2006)

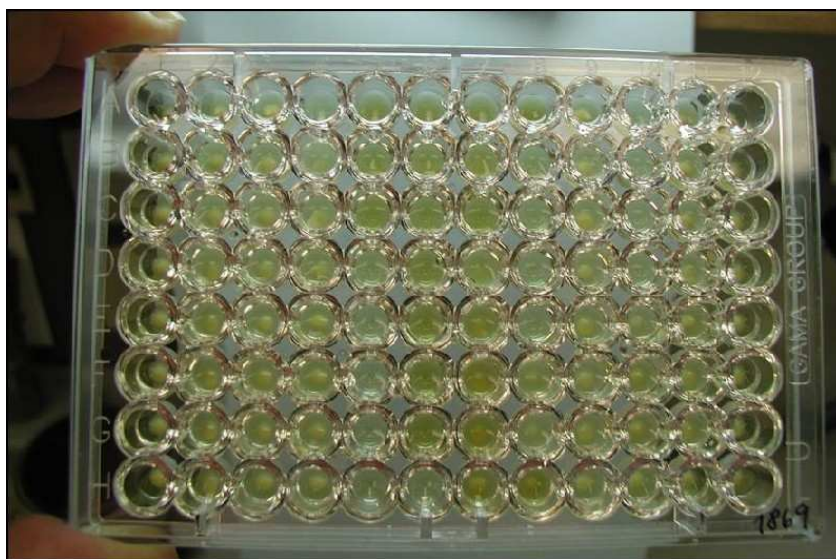


Obr.7 MRSA – difúzní disková metoda (web Zdravotnické noviny)

5.3.2 Mikrodiluční metoda – minimální inhibiční koncentrace MIC

Mikrodiluční metoda je kvantitativní metoda, při které se hodnota MIC (minimální inhibiční koncentrace) odečítá v jamkách mikrotitrační destičky, které obsahují roztok zvolené koncentrace antibiotik v živném bujónu. Do jamek se očkuje standardní inokulum vyšetřovaných bakterií. Po příslušné době inkubace se odečítá MIC. Obvykle se připravuje 8 koncentrací jednoho antibiotika v dvojnásobné geometrické řadě a na jedné destičce se vyšetřuje MIC dvanácti antibiotik na jeden testovaný kmen.

Hodnocení MIC - Minimální inhibiční koncentrace je nejnižší koncentrace antibiotika, jež zabrání viditelnému růstu za 24 hodin.



Obr.8 MIC (web VFU Brno)

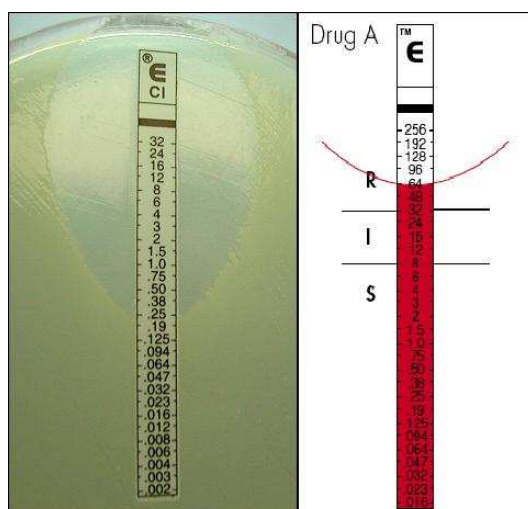
MIC-Strip MRSA – komerční in vitro diagnostikum

Fenotypový konfirmační test určený pro detekci methicilin rezistentních stafylokoků.

Vyšetření citlivosti diluční mikrometodou na MIC-Stripech je založeno na rehydrataci antibiotik přidáním standardizované bakteriální suspenze. Růst bakterií je indikován změnou barvy AST indikátoru lyofilizovaného v jamkách stripů z původní modré na růžovou. Po inkubaci trvající 18 - 24 hodin při 35 - 37 °C jsou výsledky vizuálně odečteny a interpretovány. V MIC-Stripech jsou antibiotika cefoxitin a oxacilin. Pro MRSA fenotyp jsou stanovené koncentrace pro oxacilin ≥ 4 , cefoxitin > 8 . (web Bagmed)

5.3.3 Gradientová difúzní metoda na agaru - E test

E test je metoda pro kvantitativní vyšetření citlivosti, která kombinuje principy diskové difúzní metody a diluční metody. E test je inertní plastický proužek, který na jedné straně obsahuje exponenciální gradient koncentrací stabilizované antimikrobiální látky v suchém stavu. Na druhé straně proužku je kontinuální stupnice patnácti různých koncentrací jednoho antibiotika, která slouží k odečítání MIC. Na povrch agaru naočkovaného inkulem testovaného mikroorganismu se přiloží E test stranou, která obsahuje antimikrobiální látku. Po inkubaci se vytváří kolem proužku E testu elipsa inhibovaného růstu. MIC se odečítá v místě, kde elipsa přetíná okraj proužku.



Obr. 9 E test (web VFU Brno)

5.3 Polymerázová řetězová reakce – PCR

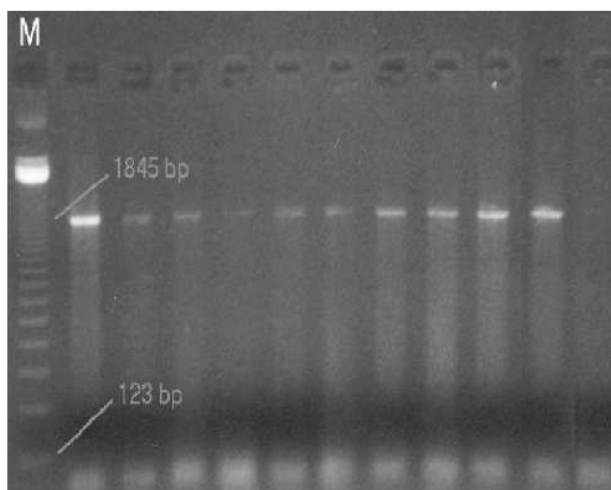
PCR je metoda rychlého a snadného zmnožení stejného úseku DNA. Úseky DNA, které se mají namnožit musí být předem označeny na začátku a na konci přidáním primerů. PCR slouží k vytvoření až mnoha milionů exaktních kopií vzorového fragmentu DNA a maximální délce 10 tisíc nukleotidů, což umožňuje provést analýzu DNA i z velmi malého množství vyšetřovaného vzorku.

Výsledkem PCR je mnohonásobné množství původní sekvence DNA. Metoda je tak citlivá, že dokáže odhalit i jedinou molekulu DNA ve vzorku.

PCR se sestává ze tří kroků:

- 1) **Denaturace** – DNA se po dobu 15-30 sekund zahřívá na teplotu 92 - 95 °C. Při této teplotě dochází k disociaci fragmentů dsDNA na jednotlivé řetězce. Vzniká tak jednovláknová DNA.
- 2) **Annealing (hybridizace primerů)** – teplota se sníží na 50-55 °C, což umožňuje nasednutí primerů na specifická místa DNA. Na primery se váže polymeráza. Annealing je nejdůležitější krok PCR, na správné vázbě primerů závisí úspěch celé PCR.
- 3) **Extenze (polymerace)** – teplota použitá při této fázi závisí na použité DNA polymeráze. Nejběžnější Taq polymeráza má optimum aktivity při 72 °C (70-80 °C). Při tomto kroku dochází k samotné syntéze DNA. Ve směru od 5' ke 3' přirůstá komplementární vlákno k původní molekule DNA.

V roce 2006 byl uveden na trh komerční test LightCycler®SeptiFastTest M^{GRADE} pro detekci a identifikaci 20 nejčastějších původců sepsí. SeptiFast test je in vitro test (CE-IVD) založený na amplifikaci nukleových kyselin a identifikaci DNA bakterií obsažených v lidské krvi. Pokud je ve vzorku pacienta přítomen *Staphylococcus aureus*, je třeba použít pomocný test Septi Fast mecA, který vyhodnotí během dvou hodin, zda se jedná o methicilin-rezistentního *Staphylococcus aureus*. Stanovení MRSA pomocí tohoto testu trvá 8 hodin. Odhalení MRSA standardními mikrobiologickými postupy činí 4-5 dní. (web Stapro)



Obr. 10 Lane 1; DNA ladder, lane 2-10; MRSA isolates, lane 11; positive control, lane 12; negative control (web ankemdernegi.org.)

6. Surveillance MRSA

6.1 Surveillance MRSA v Evropě

Mezi nejvýznamnější rezistentní patogeny patří MRSA. Celoevropský systém EARSS sleduje jeho výskyt v invazivních infekcích od r.2000. Infekce způsobené MRSA jsou příčinou prolongované hospitalizace pacientů, jejich vyšší úmrtnosti a způsobují nárůst nákladů na léčbu. Z těchto důvodů se věnuje vysoká pozornost celosvětovému sledování MRSA .

Podle dlouhodobých údajů EARSS je nejnižší výskyt invazivních infekcí způsobených MRSA ve Skandinávii a v Holandsku, v těchto zemích je nízká spotřeba antibiotik a přísné dodržování protiepidemického opatření. K zemím s vyšším výskytem MRSA patří státy jižní Evropy (Řecko, Bulharsko, Španělsko, Portugalsko, Francie, Itálie) a Velká Británie, Irsko, Turecko. Rumunsko v r. 2002 patřilo mezi země s vyšším výskytem MRSA (25-50%), od r. 2004 má nelichotivé první místo - > 50%. (Bergerová a kol., 2006, web EARSS)

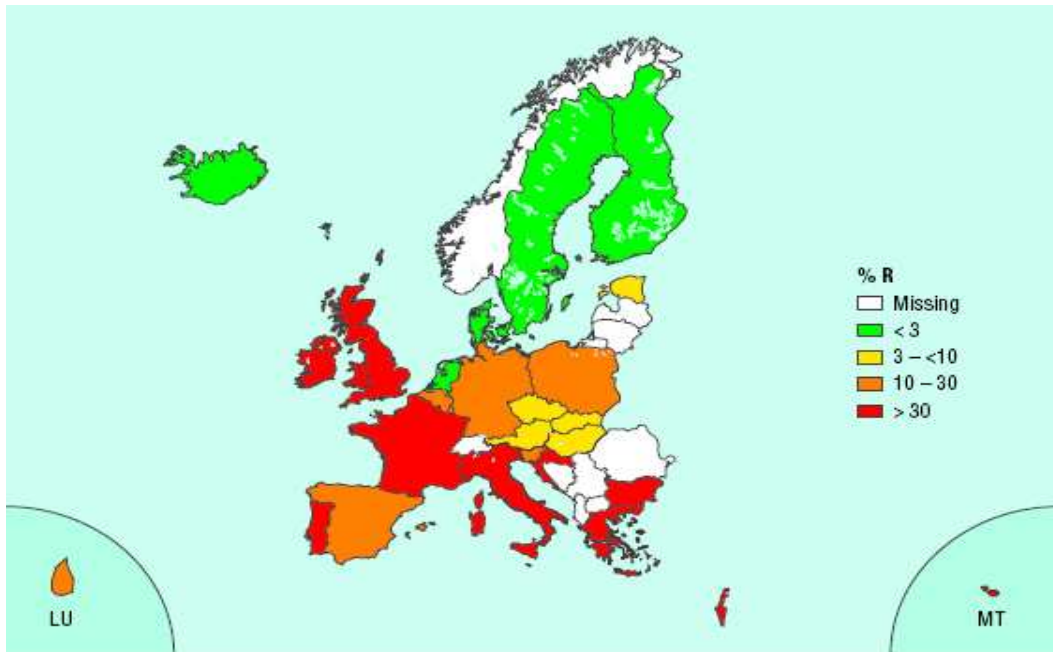


Figure 4.1. Mean proportion of *Staphylococcus aureus* methicillin resistance (MRSA) in blood isolates from the period 1999-2001.

Obr.11 MRSA – rok 2001 (web EARSS)

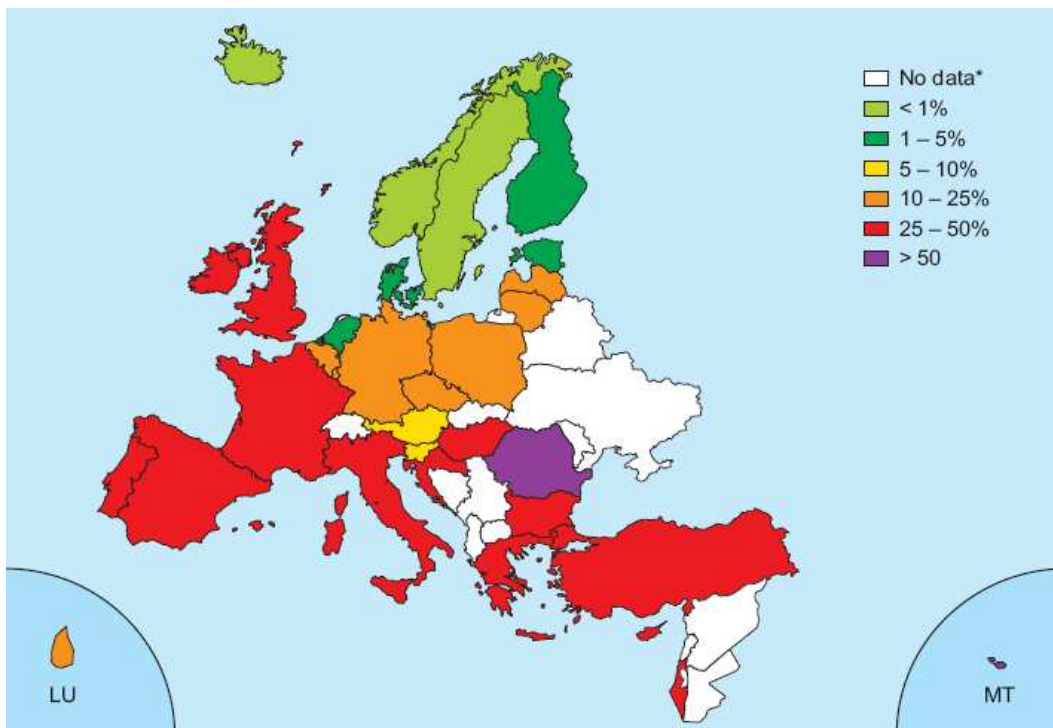


Figure 5.8. *Staphylococcus aureus*: proportion of invasive isolates resistant to oxacillin (MRSA) in 2006.

* These countries did not report any data or reported less than 10 isolates.

Obr.12 MRSA – rok 2006 (web EARSS)

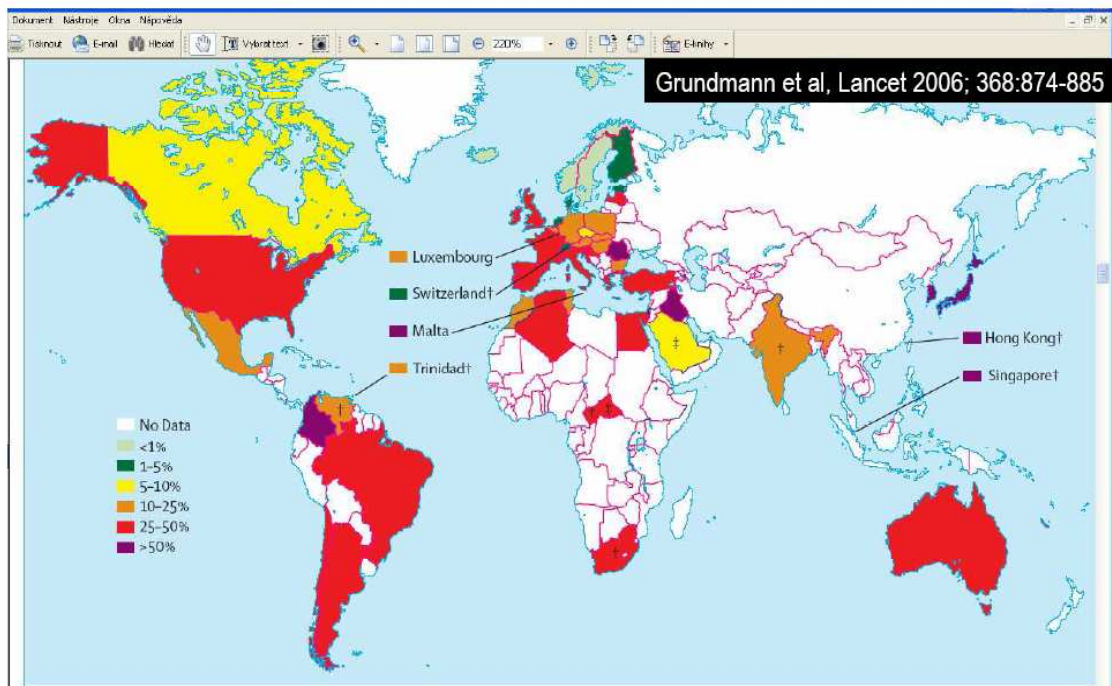
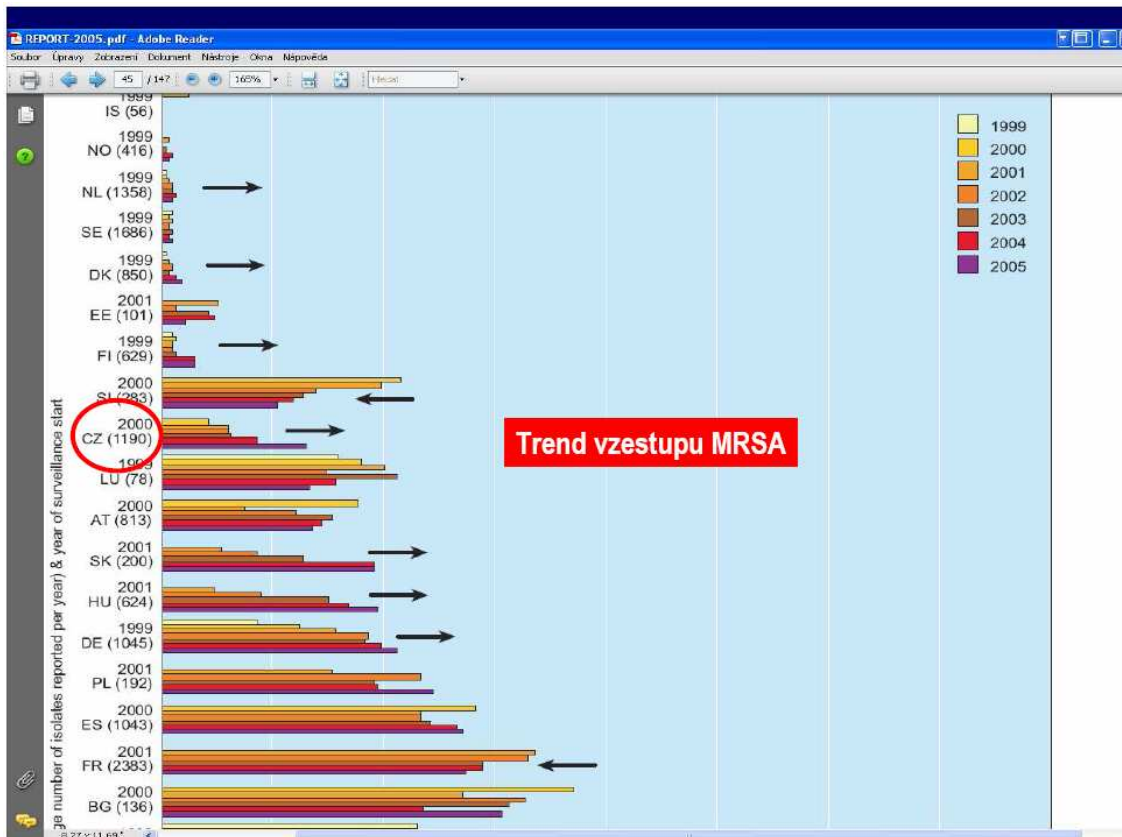


Figure 1: Worldwide prevalence of MRSA displayed by country*

*All presented MRSA proportions are from peer-reviewed studies undertaken since 1998.^{2,27-46} Prevalence estimates for Morocco, Algeria, Tunisia, Egypt, Jordan, Lebanon, and Turkey are from the antimicrobial resistance in the Mediterranean region website⁶⁶ at www.slh.gov.mt/armed/earss.asp. Studies providing most recent estimate of the MRSA proportion taken into account. If more than one study reported over same period, study including different types of clinical isolates was preferred over studies including only one specific type of specimen. †=Prevalence estimates are based on a study that included only one hospital. ‡=Prevalence estimates are based on studies between 1993 and 1997.



Obr. 13 Prevalence MRSA ve světě v roce 1993-1997 (web FAF UK)

Obr. 14 MRSA – rok 1999-2005 (web FAF UK)

6.2 Surveillance MRSA v České republice

ČR se účastní EARSS od r.2000. V roce 2005 se EARSS účastnilo 48 mikrobiologických laboratoří, v jejichž spádové oblasti bylo 88 nemocnic. V 51 nemocnicích byla v roce 2005 již potvrzena infekce MRSA. Vyšetřením 7265 izolátů, získaných z krve pacientů v letech 2000 – 2005, bylo zjištěno, že trvale roste počet kmenů rezistentních k oxacilinu – MRSA. Počet kmenů MRSA se za sledované období trojnásobně zvýšil (z 3,8% na 12,5%), a bylo prokázáno jejich rychlé šíření v nemocnicích. V roce 2000 byly invazivní infekce způsobené MRSA potvrzeny v 1/5 a v roce 2005 již ve 2/3 nemocnic účastnících se EARSS. Absolutní vzestup počtu invazivních infekcí způsobených MRSA a jejich rychlé šíření na území ČR si vyžádalo zavedení a dodržování zásad, které jsou uvedeny v dokumentu: „Doporučený postup pro kontrolu výskytu kmenů *Staphylococcus aureus* rezistentních k oxacilinu (MRSA) a jinou nebezpečnou antibiotickou rezistencí ve zdravotnických zařízeních“.

Výskyt MRSA má podobnou frekvenci bez ohledu na pohlaví pacientů (tabulka1), nejnižší výskyt je u dětí mladších 15 let a nejvyšší u osob nad 65 let (tabulka 2). Vyšší prevalence MRSA souvisí se zvyšujícím se počtem rizikových faktorů a delší dobou hospitalizace starších osob. (Urbášková a kol., 2006; Bergerová a kol., 2006)

Pohlaví	Frekvence výskytu MRSA (%)					
	2000	2001	2002	2003	2004	2005
muži	4,7	6,7	6,5	5,6	9,0	12,9
ženy	2,4	4,4	5,1	7,3	7,8	12,8

Tabulka 1. Frekvence výskytu kmenů MRSA v krvi mužů a žen (2000 – 2005)

Věk	Frekvence výskytu MRSA (%)					
	2000	2001	2002	2003	2004	2005
< 15 let	0,0	5,5	4,9	2,6	1,3	2,5
> 65 let	4,4	5,4	5,6	6,3	10,2	14,7

Tabulka 2. Frekvence výskytu kmenů MRSA v krvi pacientů v krajních věkových kategoriích (2000 – 2005)

7. Analýza rizik MRSA

7.1. Obecná charakteristika rizik

Posouzení rizik v sobě zahrnuje určení nebezpečí, analýzy a vyhodnocení rizik souvisejících s vystavením tomuto nebezpečí.

Pro účely posouzení rizik často poslouží tyto tři základní otázky:

1. Co by mohlo selhat?
2. Jaká je pravděpodobnost tohoto selhání?
3. Jaké jsou důsledky ?

Identifikace rizik představuje systematické využití informací pro stanovení nebezpečí vztahující se k riziku nebo popisu problému.

Analýza rizik představuje odhad rizik souvisejících s určenými nebezpečími. Jedná se o kvalitativní či kvantitativní proces stanovení vazeb mezi pravděpodobností výskytu a závažností .

Vyhodnocení rizik porovnává stanovené a analyzované riziko s danými rizikovými kritérii.

Výstupem z posouzení rizik je buď kvantitativní odhad rizika nebo kvalitativní popis rozsahu rizika. V případě kvalitativního popisu rizika, používáme vyjádření „vysoké“, „střední“ nebo „nízké“ riziko, které je však třeba co nejpodrobněji definovat.

Kontrola rizik zahrnuje rozhodování o snížení nebo přijetí rizik. Účelem kontroly rizik je **snížit** riziko na přijatelnou úroveň.

Snížení rizika se zaměřuje na procesy zmírnění nebo prevence vzniku rizika , pokud toto překročí určenou (přijatelnou) úroveň. Snížení rizika může zahrnovat opatření vedoucí ke snížení závažnosti a pravděpodobnosti poškození.

Přijetí rizika představuje rozhodnutí o tom, že riziko bude přijato.

Pojetí rizika je kombinací dvou složek, a to pravděpodobnosti výskytu a následků. Kritéria pro kvalitativní posouzení významnosti poruchy:

P **pravděpodobnost**

Z **závažnost**

Pravděpodobnost výskytu nebezpečí – P:

P4 – nepravděpodobné

P3 – malá pravděpodobnost

P2 – střední pravděpodobnost

P1 – vysoká pravděpodobnost

Závažnost nebezpečí – Z:

Z1 – kritické/katastrofální – může vést k úmrtí nebo vážnému poškození pacienta s trvalými následky

Z2 – mezní – může vést potenciálně k poškození pacienta, nutný zásah lékaře k zabránění trvalému poškození pacienta nebo jeho části těla

Z3 – střední – vede k nespokojenosti pacienta, není třeba lékařského zásahu

Z4 – zanedbatelná – je nepravděpodobné, že by měl nedostatek vliv na klinický stav pacienta

Vyhodnocení míry přijatelnosti rizika při kombinaci pravděpodobnosti a závažnosti:

Pravděpodobnost (P)/ Závažnost (Z)	Kritická Z1	Mezní Z2	Střední Z3	Zanedbatelná Z4
Vysoká P1	A 1	A 1	A 2	A 2
Střední P2	A 1	A 2	A 3	A 3
Malá P3	A 2	A 3	A 4	A 4
Nepravděpodobné P4	A 3	A 4	A 4	A 4

Vysvětlení klasifikačního stupně – míry přijatelnosti rizika:

A1 nepřijatelné riziko

A2 nežádoucí riziko

A3 rozumně přijatelné riziko bez vážnějších dopadů

A4 zanedbatelné riziko

V případě, že riziko je hodnoceno stupněm **A3** nebo **A4** je vhodné provést nápravná opatření ke snížení rizika vč. kontroly.

V případě, že riziko je ohodnoceno stupněm **A1** nebo **A2** – musí být vždy navrženo a provedeno řízení rizik a jejich kontrola, tj. nápravná opatření pro snížení na hladinu A3/A4. (web SÚKL)

7.2. Analýza rizik výskytu MRSA

Analýza rizik výskytu MRSA je uvedena na následujících stránkách:

Riziko	Příčina rizika	Následek	Před řešením			Řešení, opatření	Po řešení		
			P	Z	A		P	Z	A
Přenos infekce/opakovaná infekce	Kontaminované ruce personálu	Infekce, poškození zdraví pacienta	P2	Z1	A1	Důsledná dezinfekce rukou, používání jednorázových rukavic dle charakteru výkonu	P3	Z3	A4
Kontaminované ruce personálu	Nedůslednost personálu, neznalost správné techniky	Infekce, poškození zdraví pacienta	P2	Z2	A2	Pravidelná školení personálu o hygienické dezinfekci rukou, používání OOPP dle charakteru výkonu	P3	Z2	A3
Přenos infekce vyšetřovacími pomůckami	Kontaminované vyšetřovací pomůcky	Infekce, poškození zdraví pacienta	P3	Z3	A4	Vyčleněné vyšetřovací pomůcky pro jednoho pacienta, správná dezinfekce a sterilizace pomůcek, vyšetření pacienta provádět až poslední	P4	Z4	A4
Nedodržování bariérového ošetrovacího režimu	Přenos MRSA mimo izolační pokoj, nedůslednost personálu při práci	Epidemický výskyt MRSA v zařízení	P2	Z2	A2	Mikrobiologická kontrola prostředí, vyčlenění ošetřujícího personálu, konzultace situace s nemocničním hygienikem	P3	Z3	A4
Léčba antibiotiky	Závažná onemocnění	Vznik rezistentních kmenů MRSA	P1	Z1	A1	Omezení indikace léčby na nezbytné situace, eliminovat nadužívání antibiotik v léčbě i profylaxi, léčbu antibiotiky konzultovat s ATB střediskem	P3	Z2	A3
Infikovaný pacient	Zdroj MRSA	Zvýšené riziko přenosu MRSA	P2	Z2	A2	Umístění pacienta do izolace, zavedení bariérového ošetrovacího režimu	P3	Z3	A4
Dlouhodobý pobyt v nemocnici - JIP	Přenos infekce na pacienta	Kolonizace pacienta	P1	Z1	A1	Zkrácení doby hospitalizace na nezbytně nutnou dobu	P2	Z3	A3
Pobyt v blízkosti jiného pacienta s MRSA	Pacient s otevřenými a drénovanými ranami, defekty, s tracheostomií	Zvýšené riziko přenosu MRSA	P1	Z1	A1	Vyhledávání kontaktů, pravidelný mikrobiologický monitoring pacientů a prostředí	P2	Z3	A3

Riziko	Příčina rizika	Následek	Před řešením			Řešení, opatření	Po řešení		
			P	Z	A		P	Z	A
Chronický nosič MRSA	Nosičství MRSA týdny, měsíce, roky	Kolonizace defektů, ran, přenos MRSA	P2	Z2	A2	Poučení pacienta o nosičství MRSA, dodržování hygienických opatření, povinnost informovat lékaře o nosičství	P3	Z2	A3
Personál s pozitivním nálezem MRSA	Zdroj MRSA	Zvýšené riziko MRSA	P3	Z2	A3	Individuální edukace kolonizovaného pracovníka, důsledné používání OOPP a provádění hygieny rukou	P3	Z3	A4
Dezinfekční prostředky	Nevhodné dezinfekční prostředky	Neúčinná desinfekce na MRSA	P2	Z2	A2	Používání dezinfekčních přípravků s deklarovaným účinkem proti MRSA, konzultace s nemocničním hygienikem, revize komplexního dezinfekčního programu	P4	Z3	A4
Nesprávné používání	Chybné ředění dezinfekčního prostředku, nesprávný postup	Neúčinný dezinfekční prostředek	P2	Z2	A2	Školení pomocného personálu o používání tabulek pro ředění – jednoznačný a jasný návod na ředění	P3	Z3	A4
Neschopnost dodržet hygienická opatření	Kontaminace při osobní hygieně, nedostatečný úklid	Infekce, kontaminace prostředí	P2	Z3	A3	Vyčleněné hygienické pomůcky, pravidelná školení pracovníků úklidu	P3	Z4	A4
Překlad pacienta v zařízení i mimo něj	Zdroj MRSA	Zavlečení infekce do zařízení	P2	Z2	A2	Vzájemná důsledná informovanost všech zúčastněných	P3	Z2	A3
Laboratorní diagnostika	Finanční náročnost speciálních diagnostik	Nedostatečná laboratorní diagnostika	P2	Z2	A2	Vyčlenění finančních prostředků-zodpovědnost managementu zařízení	P4	Z4	A4

7.3. Vyhodnocení rizik

Z analýzy rizik je zřejmé, že řešení problematiky rezistentních kmenů se dotýká tří oblastí, které vykazují nejvyšší riziko výskytu - dezinfekce rukou, léčba antibiotiky a délka pobytu pacienta ve zdravotnickém zařízení.

Jedním z hlavních zdrojů přenosu jsou ruce zdravotnického personálu. Je nutné striktně dodržovat základní hygienická pravidla. U rizikových pacientů používat jednorázové rukavice, empíry, dezinfikovat si ruce nejen při převazech infikovaných ran a při vizitách, ale při jakémkoli jiném kontaktu s pacientem. Pro ošetřování rizikových pacientů vyčlenit zdravotnický personál .

Před zahájením antibiotické léčby je třeba zvážit, zda se skutečně jedná o infekci. Stav pacienta je třeba hodnotit komplexně a zvážit, jestli se nejedná pouze o kolonizaci a nebo kontaminaci. Při zahájení antibiotické terapie je nutno zvolit preparát podle výsledku antibiogramu zachyceného agens, lokalizace a celkového stavu pacienta tak, aby při podání netoxické dávky pronikl v dostatečné hladině do místa infekce.

Methicilin-rezistentní stafylokoky představují významný medicínský problém z důvodu jejich sdružené rezistence k dalším antibiotikům. Rezistence k methicilinu je u stafylokoků podmíněna přítomností genu *mecA*, který kóduje penicilinvázající protein 2a (PBP2a). PBP2a má k beta-laktamovým antibiotikům velmi malou afinitu a k terapii je proto nezbytné použít antimikrobní přípravky z jiných skupin. Často se používají glykopeptidy, jejichž aplikace je však rizikovým faktorem pro výskyt vankomycin-rezistentních enterokoků.

V klinické praxi je velmi důležité odlišit skupinu oxacilin-rezistentních stafylokoků, které sice fenotypově vykazují rezistenci, ale tato je podmíněna hyperprodukcí beta-laktamázy. Na rozdíl od rezistence podmíněné přítomností *mecA* genu, je rezistence založená na hyperprodukcii beta-laktamázy blokovatelná inhibitory bakteriálních beta-laktamáz, např. kyselinou klavulanovou nebo sulbaktamem. Dalším možným podkladem pro rezistenci stafylokoků k oxacilinu je modifikace normálních PBPs a jejich snížená afinita. (Kolář, 2002, web HPB)

Hospitalizace pacienta s MRSA by měla být ukončena co nejdříve, jakmile to zdravotní stav pacienta dovolí, aby byl co nejrychleji eliminován potencionální zdroj infekce pro další nemocné.

8. Opatření ve zdravotnických zařízeních

8.1 Vyhledávání a mikrobiologická monitorace MRSA

Aktivní mikrobiologická surveillance spočívá v cíleném vyšetřování vzorků na přítomnost MRSA v indikovaných případech.

8.1.1 Vyšetření při příjmu pacienta

Odebírá se sada minimálně dvou vzorků – výtěr z nosu, krku, perinea, z potenciálně infekčních ložisek (rány, defekty, tracheostomie, moč).

Tento režim se vztahuje zejména na:

- pacienty překládané z rizikových oddělení jiných zdravotnických zařízení
- pacienty překládané ze zdravotnických zařízení s vysokým výskytem MRSA
- pacienty s prokázaným nosičstvím nebo infekcí MRSA v anamnéze
- pacienty přijímané k plánovanému chirurgickému výkonu

8.1.2 Vyšetřování pacientů v kontaktu s MRSA při sporadickém výskytu

Pacienti v přímém kontaktu s MRSA se při sporadickém výskytu vyšetřují okamžitě po zjištění kontaktu a opakovaně s týdenním odstupem. Rozsah odpovídá příjmovému vyšetření.

Pacienti na JIP jsou pravidelně mikrobiologicky monitorováni 2 – 3x týdně.

8.1.3 Vyšetřování pacientů v kontaktu s MRSA při epidemickém výskytu

Na odděleních, kde došlo k epidemickému výskytu MRSA, se vyšetřují pacienti v přímém kontaktu s pozitivním nemocným 2x týdně do zvládnutí epidemie. Pacienti JIP jsou pravidelně mikrobiologicky monitorováni 2 – 3x týdně, pacienti z jiných oddělení v rozsahu příjmového vyšetření.

8.1.4 Vyšetřování pacientů v zařízeních s endemickým výskytem MRSA

Vyhledávání pozitivních pacientů se provádí podle aktuální epidemiologické situace. Strategie musí zohlednit riziko přenosu MRSA podle typu oddělení s endemickým výskytem.

8.1.5 Vyšetřování pacientů s prokázaným nálezem MRSA

Mikrobiologický screening pozitivních pacientů se provádí individuálně se zaměřením na průkaz osídlení rizikových míst pacienta, z nichž může snadno docházet k dalšímu šíření.

8.1.6 Vyhledávání nosičů u zdravotnického personálu

Vyšetření je omezeno na situace, kdy se jedná o vyhledávání zdrojů MRSA při epidemickém výskytu, a nebo se nedaří zvládnout epidemii.

8.2 Izolace pozitivních pacientů

Izolace pacienta je nutná při každém zjištění pozitivního nálezu MRSA. Provádí se v rámci vlastního oddělení, na kterém je pacient hospitalizován, aby mu byla řádně poskytována kvalitní diagnostika a léčba onemocnění, které bylo důvodem jeho přijetí. V případě, že JIP není dispozičně řešena boxovým systémem, lze na tomto pracovišti osídleného pacienta izolovat za podmínek mikrobiologické monitorace všech pacientů, striktního dodržování zásad bariérového ošetrovacího režimu a při vyčlenění personálu.

Pacient je izolován na samostatném pokoji nebo boxu, který musí být viditelně označen. Při vyšším výskytu MRSA na oddělení je možné izolovat pozitivní pacienty na vicelůžkovém pokoji (kohorta).

Dokumentace (chorobopis) se viditelně označí, veškerá zdravotní dokumentace pacienta zůstává trvale mimo izolační pokoj.

8.3 Bariérový ošetrovací režim

Při vyšetřování a ošetrování pacienta s výskytem MRSA je nezbytné dodržovat přísný bariérový ošetrovací režim a tím minimalizovat riziko přenosu infekce.

8.3.1 Personál

Veškerý ošetrojící personál musí **důsledně** provádět hygienickou dezinfekci rukou. Na pokoji musí být umístěn alkoholový dezinfekční přípravek na ruce v nádobce s dávkovačem, na JIP je vhodné dávkovače umístit přímo na lůžka.

Pro pacienta je vyčleněn ošetrovatelský personál, minimalizuje se vstup personálu a na izolační pokoje vstupuje jen personál, který je nutný pro zajištění péče.

Zásady bariérového režimu musí důsledně dodržovat konsiliáři, fyzioterapeuti a další pracovníci zdravotnického zařízení, samozřejmě i návštěvy.

Podávání medikace, ošetření, převazy a vizita se zařazují na závěr, ošetření je prováděno na pokoji.

Personál používá osobní ochranné pracovní pomůcky dle charakteristiky výkonu (jednorázový ochranný plášť, rukavice, ústenka), po kontaktu s pacientem se pomůcky odkládají přímo na pokoji do označených nepropustných obalů.

8.3.2 Pomůcky a nástroje

Pro pacienta jsou vyhrazeny pomůcky – teploměr, tonometr, fonendoskop, podložní mísa apod. Důsledně se provádí dezinfekce a sterilizace použitých nástrojů a pomůcek, k dezinfekci se používají přípravky s deklarovanou účinností proti MRSA.

Použité nástroje jsou přímo na izolačním pokoji odkládány do uzavíratelné dekontaminační nádoby s dezinfekčním roztokem.

8.3.3 Úklid a dezinfekce

V průběhu hospitalizace je důsledně prováděn průběžný úklid ploch a povrchů za použití dezinfekčních přípravků s deklarovaným účinkem proti MRSA. Použité osobní prádlo a lůžkoviny se odkládají do vyčleněných a označených nepropustných obalů, stejným způsobem se shromažďuje i kontaminovaný materiál (jednorázové pomůcky, převazy apod.) Odpad je likvidován jako infekční.

Osoby provádějící úklid musí být poučeny o bariérovém ošetrovacím režimu a manipulaci s odpadem z pokoje pacienta. Pro úklid musí být vyčleněny úklidové prostředky a pomůcky.

Po přeložení či propuštění pacienta je provedena závěrečná dezinfekce izolačního pokoje včetně dezinfekce lůžka, pomůcek, přístrojů a veškerého zařízení pokoje přípravky pro plošnou dezinfekci s deklarovaným účinkem proti MRSA.

Po závěrečné dezinfekci se provedou kontrolní stěry kritických míst pokoje na přítomnost MRSA.

8.3.4 Hygiena rukou

Klíčovým postupem v prevenci a kontrole výskytu MRSA je správně prováděná hygiena rukou založená na dezinfekci alkoholovými prostředky.

Hygienická dezinfekce rukou (HDR) se provádí po úkonech, při kterých dochází k mikrobiální kontaminaci rukou, po práci s biologickým materiálem, kontaminovanými předměty apod. HDR je namířená proti ulpívající (transientní) kožní mikroflóře. Provádí se dostatečným množstvím alkoholového přípravku, který se vtírá do suchých rukou po dobu 30-60 sekund podle typu použitého přípravku. Ruce se vodou neoplachují. Správně provedená a účinná HDR patří k základním dovednostem zdravotnického personálu.

8.4 Antibiotická politika ve vztahu k MRSA

Každé zdravotnické zařízení musí mít zajištěny komplexní služby antibiotického střediska. Účinná prevence vzniku a šíření MRSA vyžaduje omezení indikací antibiotické léčby na nezbytné situace a eliminaci nadužívání antibiotik v léčbě i profylaxi. Cefalosporiny, chinolony a makrolidy patří mezi nejvýznamnější selektory MRSA.

Spektrum antibiotik použitelných pro léčbu klinicky manifestní infekce vyvolané MRSA je v důsledku rezistence původce zúženo na několik skupin – glykopeptidy, linezolid, quinupristin/dalfopristin.

8.5 Etické a psychologické aspekty kontroly MRSA

Pacient nesmí být poškozen omezením léčebné péče – zastavením rehabilitace, neprovedením potřebných vyšetření.

Zvýšenou pozornost je třeba věnovat psychice pacienta v izolaci, citlivější povahy trpí i tím, že veškerý personál vchází do pokoje s ústenkami – pacient vlastně ani nezná obličej ošetřujícího lékaře a sester, odpadá důležitá složka nonverbální komunikace. Nepříznivě může působit i dotýkání se pacienta jen v rukavicích ošetřujícím personálem - vzniká psychologická bariéra, která zhoršuje podmínky léčby.

Pacient a jeho blízcí musí být adekvátně a citlivě informováni o zásadách bariérového režimu. (Urbášková a kol., 2006; Bergerová a kol., 2006)

9. Nové metody v laboratorním průkazu a léčbě MRSA

9.1 Panton-Valentine leukocidin – PVL

Panton-Valentine leukocidin (PVL) je nekrotizující toxin produkováný některými kmeny methicilin-senzitivních i methicilin-rezistentních stafylokoků, který vyvolává vysoce virulentní nákazy. PVL vytváří póry v membráně neutrofilů a makrofágů, což vede k lýze těchto buněk. Chrání stafylokoky před účinkem leukocytů.

Onemocnění má celosvětový výskyt, v ČR byly kmeny produkující PVL toxinu zaznamenány poprvé v roce 2004. V terapii je rozhodující rychlá a prolongovaná antibiotická léčba kombinovaná v indikovaných případech s chirurgickým zákrokem. (web Kmil)

Hyplex *StaphyloResist*@plus – komerční in vitro diagnostikum

Multiplex-PCR-ELISA je systém sloužící k průkazu rezistentních stafylokoků.

Soupravu hyplex *StaphyloResist*@plus lze využít k průkazu genu *mecA* zodpovědného za rezistenci k methicilinu a k průkazu *lukS-lukF* genu pro Panton-Valentinův leukocidin, který je asociovaný s CA-MRSA (Community-Acquired MRSA). CA-MRSA vedle geneticky podmíněné rezistence k methicilinu často nese významný faktor patogenity – Panton-Valentinův leukocidin kódovaný genem *lukS-lukF*, který je v současnosti považován jako znak tohoto typu MRSA.

Uvedená CA-MRSA má často formu mnohonásobných, navracejících se hlubokých abscesů, stejně jako pneumonií s nekrózami a často fatálními následky. (web Bagmed)

9.2 **BD GeneOhm™MRSA**

BD GeneOhm™MRSA je rychlý molekulární test, který je určen k identifikaci MRSA. Detekuje kolonizaci MRSA během dvou hodin, provádí se přímo z odebraných vzorků od pacienta.

Test vykazuje senzitivitu 93% a specificitu 96%. Jedná se o rychlou analýzu, která usnadňuje včasnější zákrok při přenosu infekce a snižuje náklady spojené s komplikacemi a léčbou. (web I.T.A-Intertact)

9.3 Přípravek XF – 73

Biotechnologická společnost z Brightonu informovala o úspěšném laboratorním testování přípravku XF-73.

Přípravek XF-73 je silný bakteriocid (MIC pro MRSA je 0,06g/ml). Testy in vitro zatím prokázaly, že XF-73 je schopen zničit 99,99% kmenů MRSA, aniž byly překročeny bezpečné koncentrace.

Experimentální léky ze skupiny XF se váží na všechny části bakterie uvnitř její buněčné membrány, což snižuje možnost mutace bakterie v rezistentní kmen.

Přípravek XF-73 by měl být aplikován na nosní sliznice ve formě gelu. Nosní sliznice je jedním ze zdrojů MRSA u pacientů přicházejících do nemocnice, nazální gel by tak mohl být ideální formou léku. (web Zdravotnické noviny)

9.4 Bakteriofágový lysin – MV-L

Nové možnosti přináší studie publikovaná v časopise Journal of Infectious Diseases, která informuje o nové potencionální „zbrani“ proti MRSA, lysinu extrahovaném z bakteriofágů.

Studie prokázaly baktericidní účinek lysinu některých typů bakteriofágů na některé patogeny. Specifický bakteriofágový lysin (MV-L) in vitro způsoboval rozklad MRSA, ale i methicilinsenzitivního *Staphylococcus aureus*.

Autoři studie se domnívají, že specifický bakteriofágový lysin by mohl být velmi výhodnou alternativou v terapii infekcí stafylokoky, zejména MRSA. (web MeDitorial)

10. Závěr

Výskyt rezistentních kmenů ve zdravotnických zařízeních vyvolává celosvětově potřebu zavádění postupů, jejichž cílem je zabránit šíření kmenů *Staphylococcus aureus* rezistentních k oxacilinu a eliminovat riziko vzniku závažných infekcí s omezenými možnostmi antibiotické léčby.

Během posledních desetiletí se *Staphylococcus aureus* adaptoval na nově vyvinutá antibiotika. Podstata jeho flexibility se ukrývá v jeho genomu. Faktory virulence jsou kódovány geny, které se mohou nacházet na chromozomu, plazmidu, transpozonu a na genomu mírného bakteriofága.

Staphylococcus aureus je původcem celé řady onemocnění, disponuje faktory virulence, které může produkovat, a zejména schopností získat a předávat si mezi kmeny cizorodý genetický materiál s geny pro rezistenci na antibiotika, které ještě více zvyšují jeho odolnost. Právě kmeny MRSA se stávají celosvětovým problémem. Závažné je rozšiřování rezistentních komunitních kmenů CA-MRSA a zvýšená četnost výskytu infekcí způsobených MRSA s PVL.

Analýza rizik výskytu MRSA ukázala kritická místa při léčbě a ošetřování pacientů ve zdravotnických zařízeních – nedůsledná dezinfekce rukou personálu, masivní léčba antibiotiky a dlouhodobý pobyt pacienta ve zdravotnickém zařízení. Výskyt infekcí MRSA bude stoupat a je nezbytné dodržovat preventivní opatření, rozlišit celkovou či lokální infekci a zvolit optimální léčbu antibiotiky. Ekonomická náročnost léčby je zřejmá, naopak náklady na prevenci představují 15-20% nákladů potřebných k vyřešení průměrného klinického případu MRSA.

Prevence a kontrola MRSA ve zdravotnických zařízeních nesmí být řešena izolovaně, vytržena z kontextu komplexní prevence a kontroly infekcí vyvolaných *Staphylococcus aureus*, protože kmeny citlivé k oxacilinu představují pro rizikové pacienty srovnatelné nebezpečí jako MRSA, zejména z hlediska mortality. (Jindrák, 2006)

11. Seznam použité literatury a informačních zdrojů

Použitá literatura

Ryšková, O.: *Základy lékařské mikrobiologie a imunologie pro bakalářské studium*. 1 vydání. Praha. Karolinum, 2000. [str.95 -96]

Votava, M. a kol.: *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno. Neptun. 2003. [str.98 -105]

Horáček, J. a kol.: *Základy lékařské mikrobiologie*. 1 vydání. Praha. Karolinum. 2000. [str.134 -135]

Bergerová, T. a kol.: *Doporučený postup pro kontrolu výskytu kmenů Staphylococcus aureus rezistentních k oxacilinu (MRSA) a jinou nebezpečnou antibiotickou rezistencí ve zdravotnických zařízeních*. Zprávy CEM (SZÚ). Praha. 2006. ročník 15 (příloha 1). ISSN 1211-7358

Urbášková, P. a kol.: *Surveillance antibiotické rezistence invazivních izolátů Staphylococcus aureus v rámci EARSS*. Zprávy CEM (SZÚ). Praha. 2006; 15(5): 200-203

Kolář, M. a kol.: *Klinicko-mikrobiologické podklady racionální antibiotické léčby*. Praha. TRIOS, s.r.o. 2002. ISBN 80-238-9301-07. [str.27-29]

Jindrák, V.: *Staphylococcus aureus rezistentní k oxacilinu (MRSA)-klinický a ekonomický význam u nozokomiálních infekcí*. Zprávy CEM (SZÚ). Praha. 2006; 15(5): 198-200

Informační zdroje

web 3. LF UK:

<http://old.lf3.cuni.cz/mikrobiologie/rep/graphics/clump1.jpg>

web ČSLR:

<http://www.cslr.cz/kongresy/veverkova.php>

web Trios:

http://www.trios.cz/_sgt/m6m2_1.htm

web Denka-Seiken:

<http://www.denka-seiken.co.jp/english/products/bacteriology/staphylococcusAureus.html>

web Zdravotnické noviny:

<http://www.zdravotnickenoviny.cz/scripts/detail.php?id=338505>

web VFU Brno:

<http://vfu-www.vfu.cz/mikrob-atlas/Main.html>

web ankemdernegi.org.:

http://www.ankemdernegi.org.tr/ANKEMJOURNALPDF/ANKEM_18_4_205_208.pdf

web FAF UK:

http://www.faf.cuni.cz/conference/2007/PracovniDnySekceKlinickeFarmacie11/Documents/Soucasny_stav_AB_rezistence_bakterii_CR.pdf

web kmil:

<http://kmil.trios.cz/UstiAbstr/usti003.htm>

<http://kmil.trios.cz/UstiAbstr/usti013.htm>

web Bagmed:

<http://www.bagmed.cz/soubor-hyplex-staphyloresist-cesky-navod-621-.doc>

<http://www.bagmed.cz/clanek-mic-strip-mrsa-45-410>

web I.T.A-Intertact:

http://www.ita-intertact.com/we_soubory.php/BD_GeneOhm_MRSA.pdf?id=75

web Zdravotnické noviny:

<http://www.zdravotnickenoviny.cz/scripts/detail.php?id=362975>

<http://www.medicalnewstoday.com/articles/33863.php>

web MeDitorial:

<http://www.pandemie.cz/aktuality?id=173>

web Stapro:

<http://www.stapro.cz/bullfons/32007/lab01.pdf>

web HPB:

<http://www.hpb.cz/index.php?pld=06-4-02>

web SÚKL:

<http://www.sukl.cz/vyr-32-dopl-20>