

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Detekce meticilin – rezistentního *Staphylococcus aureus* (MRSA)
v Nemocnici České Budějovice, a. s. a ve Fakultní nemocnici
Hradec Králové

Bc. LUCIE POLENOVÁ

Vedoucí diplomové práce: MUDr. PAVLA PATEROVÁ

HRADEC KRÁLOVÉ, 2016

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala MUDr. Magdaleně Horníkové a MUDr. Pavle Paterové za cenné rady, trpělivost a vstřícný přístup. Dále mé poděkování patří celému Bakteriologickému oddělení v Nemocnici České Budějovice, a.s. za ochotu zasvětit mě do tajů mikrobiologického vyšetření.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 16. 5. 2016

Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Studentka: Bc. Lucie Polenová

Školitel: MUDr. Pavla Paterová

Název práce: Detekce meticilin – rezistentního *Staphylococcus aureus* (MRSA) v Nemocnici České Budějovice, a. s. a ve Fakultní nemocnici Hradec Králové

Rezistence mikrobů k antibiotikům se řadí mezi celosvětové zdravotnické problémy. Infekce způsobené methicillin-rezistentním *Staphylococcus aureus* (MRSA) se vyskytují především v nemocnicích. Důvodem vzniku rezistence těchto kmenů je nesprávné a nadbytečné užívání antibiotik. Na šíření kmenů se poté podílí nedostatečné dodržování hygienicko-epidemiologických postupů.

Cíl práce: Cílem práce bylo zjistit výskyt MRSA kmenů ve dvou českých nemocnicích – v Nemocnici České Budějovice, a.s. a ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové v roce 2015. Zároveň posoudit a porovnat výskyt kmenů MRSA u různých skupin pacientů a další základní charakteristiky izolovaných kmenů v obou nemocnicích.

Metodika: Výsledky práce vycházejí z retrospektivní analýzy dat z elektronické databáze laboratorního informačního systému Mikrobiologického oddělení Nemocnice České Budějovice (NemČB) a Ústavu klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice Hradec Králové (FNHK). Do studie byla zařazena data všech pacientů hospitalizovaných v nemocnici nebo přicházejících k ambulantnímu ošetření, u kterých byl izolován methicillin-rezistentní *Staphylococcus aureus* z klinického materiálu z období 1. 1. 2015 – 31. 12. 2015. Zpracování a kultivace vzorku proběhly dle standardních mikrobiologických postupů. U určených izolátů *Staphylococcus aureus* byla testována jejich citlivost k antibiotikům.

Výsledky: Největší záchyt MRSA byl ve FNHK na Klinice gerontologické a metabolické (32 % ze 493 izolátů), v NemČB byl podobný výskyt na Interním oddělení

a na Oddělení následné péče (27 % a 25 % z 882 izolátů). Nejčastějším místem nálezů byly ve FNHK horní cesty dýchací (34 %), v NemČB rány a defekty (28 %). Převažoval výskyt u mužů a pacientů ve věku 50 let a více. Nejčastějším fenotypem rezistence byla kombinace ciprofloxacin, erytromycin, klindamycin (73 % FNHK 67 % NemČB). Citlivost (100 %) byla zachována k vankomycinu, linezolidu, a tigecyklinu.

Závěry: Obě nemocnice nepřekračují celorepublikový výskyt MRSA (14 % EARS-Net). V NemČB se zvyšuje rezistence MRSA ke gentamicinu a objevují se nové fenotypy rezistence. Je proto nutné situaci neustále sledovat, zajistit informovanost lékařů a při výskytu MRSA dodržovat hygienicko-epidemiologické postupy.

Klíčová slova: bakteriální rezistence, nozokomiální nákaza, methicillin-rezistentní *Staphylococcus aureus*, antibiotika

Abstract

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Sciences

Student: Bc. Lucie Polenová

Supervisor: MUDr. Pavla Paterová

Title of diploma thesis: Detection of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Hospital České Budějovice, a. s. and in University Hospital Hradec Králové

The resistance of microbes to antibiotics belongs to worldwide health problems. Infections, which are caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), occur mainly in hospitals. It is because of incorrect and excessive consumption of antibiotics. Insufficient observance of hygienic-epidemiological measures helps to spread resistant strains.

Background: The aim of the study was to determine the incidence of MRSA strains in two Czech hospitals – in Hospital České Budějovice, a.s. and in University Hospital Hradec Králové. To compare results with figures in the previous years and sort isolated strains by different characteristics in both hospitals.

Methods: Results of the study are based on retrospective data analysis from electronic database. All data from hospitalized patients or outpatients during 1.1.2015 – 31.12.2015 with isolation of MRSA were counted. Processing and cultivation of isolates were made by standard microbiology measures. Strains, which were specified as *Staphylococcus aureus*, were tested to antibiotics.

Results: In FNHK the highest finding was in Gerontological and Metabolic Clinic (32 % in 493 isolates), similar count in Internal Department and Department of Subsequent Care (27 % and 25 % 882 isolates) was in NemČB. The most frequent materials in FNHK were samples from respiratory tract (34 %), in NemČB there were samples from wounds (28 %). Higher number of isolates was found among men and older people (≥ 50 years). The most frequent phenotype of resistance was combination

ciprofloxacin, clindamycin, erythromycin (73 % FNHK, 67 % NemČB). Sensitivity (100 %) was kept to vancomycin, linezolid, and tigecycline.

Conclusions: Incidence of MRSA in these hospitals is not higher than in the Czech Republic (14 % EARS-Net). Resistance to gentamicine is increasing in NemČB and there are new phenotypes of resistance. It is necessary to oversee the situation, to inform doctors and to stick hygienic-epidemiological measure.

Key words: bacterial resistance, nosocomial infections, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, antibiotics

Obsah

Abstrakt.....	4
Abstract.....	6
1 Úvod.....	10
2 Cíl práce	11
3 Teoretická část	12
3.1 Antimikrobiální léčiva	12
3.1.1 Mechanismus účinku antibiotik.....	14
3.1.2 Antibiotická rezistence	15
3.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	17
3.2.1 Faktory virulence <i>Staphylococcus aureus</i>	19
3.2.2 Onemocnění vyvolávaná <i>Staphylococcus aureus</i>	21
3.2.3 Epidemiologie.....	24
3.2.4 Prevence.....	24
3.2.5 Antibiotika používaná k léčbě infekcí vyvolaných STAU	24
3.3 Methicillin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	25
3.3.1 Rozdělení a šíření MRSA	27
3.3.2 Výskyt MRSA.....	29
3.3.3 Léčba infekcí MRSA	32
3.4 Postupy prevence a kontroly infekcí	35
3.4.1 Postup pro kontrolu výskytu kmenů MRSA ve zdravotnických zařízeních	36
3.5 Možné postupy vedoucí k omezení výskytu infekce	39
4 Experimentální část.....	44
4.1 Materiál a metodika	44
4.1.1 Zpracování klinického materiálu	44

4.1.2	Kultivace vzorků.....	44
4.1.3	Identifikace methicillin-rezistentního <i>Staphylococcus aureus</i>	44
4.1.4	Testování citlivosti na antibiotika.....	45
4.1.5	Výběr dat.....	46
4.1.6	Statistické zpracování	46
5	Výsledky	52
5.1	Rozdělení izolátů dle typu materiálu	52
5.2	Zastoupení materiálu na jednotlivých odděleních nemocnic	56
5.3	Analýza MRSA pozitivních pacientů dle pohlaví a věku	63
5.4	Výskyt rezistence na antibiotika u MRSA kmenů	66
6	Diskuze.....	71
6.1	Zhodnocení a porovnání výsledků v Nemocnici České Budějovice, a.s. a ve Fakultní nemocnici Hradec Králové za rok 2015	71
7	Závěr	76
8	Použité zkratky.....	78
9	Citovaná literatura.....	79
10	Přílohy.....	83

1 Úvod

Odolnost bakterií vůči užívaným antibiotikům je jedním z problémů světového zdravotnictví. Již krátce po objevu antibiotik a jejich zavedení do zdravotnictví se objevily kmeny, které vykazovaly známky rezistence. Jedním bakteriálním kmenem je i methicillin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA). Antibiotikum methicillin přestalo na tento kmen účinkovat již dva roky po zavedení léčiva do oběhu. Důvodem je získání výhodných genů, mutace vlastních genů či selekční tlak antibiotik za vzniku rezistentních buněk v přítomnosti minimálních koncentrací antibiotik. *Staphylococcus aureus* je častým původcem infekcí ran, kůže, septikémií či infekcí kloubů. Vyznačuje se vysokou schopností přežití v nepříznivých podmínkách a přítomností velkého množství virulentních faktorů. Nesprávným užíváním antibiotik dochází ke vzniku rezistence až multirezistence. Tyto kmeny se často vyskytují v nemocničních zařízeních, kde kolonizují oslabené pacienty. Infekce MRSA následně prodlužuje léčbu, zvyšuje morbiditu i mortalitu a její léčba je finančně náročnější. V poslední době se objevují i komunitní kmeny MRSA, které vznikají bez předchozí hospitalizace a osídlení kmeny MRSA. Tyto kmeny se selektují na základě neuváženého předepisování antibiotik v primární péči, nesprávného užívání antibiotik pacientem či nesprávné léčby. Vzniklé rezistentní kmeny se poté mohou šířit při nedodržování hygienicko-epidemiologických postupů či jejich nedostatečnou aplikací. Infekce MRSA se šíří především kontaktem, obvykle rukama personálu, dále kontaminovanými předměty, pomůckami či kontaminací povrchů a prostředí zdravotnického zařízení. Zvýšené riziko nákazy hrozí pacientům s diabetes mellitus, osobám s onemocněním kůže, s renální insuficiencí či HIV infekcí.

Česká republika se řadí mezi evropské země se středně vysokým výskytem rezistentních kmenů MRSA (12-14 %).

2 Cíl práce

Rezistence bakterie *Staphylococcus aureus* k methicilinu (MRSA) je známá již po několik let. Přesto se vzniku infekce MRSA v nemocničních zařízeních nedaří zabránit a v některých zemích je výskyt ve vysokých procentech.

Cílem práce je hodnotit situaci ve výskytu kmenů MRSA v roce 2015, zjistit jejich charakteristiky a porovnat vývoj výskytu MRSA v předchozích letech ve dvou českých nemocnicích: Nemocnici České Budějovice, a.s. a Fakultní nemocnici Hradec Králové. Vedlejším cílem je zhodnotit rozdíly a účinnost protiepidemických opatření obou nemocnic.

3 Teoretická část

3.1 Antimikrobiální léčiva

Antimikrobiální léčiva jsou látky, které lze využít k léčbě a profylaxi infekčních onemocnění. Látky mohou být produkovány plísněmi či bakteriemi (antibiotika v užším slova smyslu), dnes jsou však většinou vyráběny synteticky. Do této skupiny se řadí i tzv. chemoterapeutika, která se získávají pouze chemicky. (1)

Historické používání kůry chininovníku, rtuti a arzenu k léčbě syfilitidy a hnisavých infekcí bylo nahrazeno prvními chemoterapeutiky, toxicky působícími barvivy, které cíleně zasáhnou bakteriální buňku či parazita. S objevem přišel Paul Ehrlich, podařilo se mu syntetizovat látku arsfenamin (na trhu pod názvem Salvarsan), která dokázala zneškodnit původce syfilitidy, *Treponema pallidum*. Další látkou byl Prontosil, sloučenina byla zkoumána Gerhardem Domagkem. Tuto látku vyzkoušel při léčbě těžké streptokokové infekce. Obměnou a připojováním různých řetězců dala tato sloučenina vznik první skupině chemoterapeutik, sulfonamidům. (2)

Již v roce 1897 si všiml Ernest Duchesne mikrobiálního antagonismu, a to působení plísně *Penicillium glaucum* na kulturu *Escherichia coli*. Bohužel, jeho objev nebyl dále rozvíjen, ale tohoto úkazu si opět povšiml až Alexander Fleming v roce 1928. Plíseň *Penicillium notatum* v tomto případě inhibovala růst kolonií streptokoků, stafylokoků a neiserií. Fleming nedokázal stabilizovat účinnou látku, penicilin. To se podařilo až týmu Howarda Floreye, který ve svém týmu měl chemika Ernsta Chaina. Penicilin se podařilo extrahovat z růstového média pomocí éteru při nízkém pH v roce 1938. První použití penicilinu k léčbě člověka bylo v roce 1941 a v roce 1944 již byla zahájena jeho masová výroba. Následovaly objevy i dalších antibiotik - streptomycin (1944), bacitracin (1945), chloramfenikol (1947) aj. (2)

Antimikrobiální látky jsou schopné inhibovat či inaktivovat mikroorganismy. V této práci se zabývám látkami, které vykazují své účinky na bakterie - antibiotiky (ATB). V současné době platí tato definice pro antibiotika: „*Antibiotikum je substance biologického, semisyntetického nebo syntetického původu, která vykazuje selektivní toxicitu proti bakteriím, a je tudíž potenciálně použitelná k léčbě infekcí. Dezinfekční a*

antiseptické látky nejsou do této definice zahrnuty.“ (3) Selektivní toxicitou se rozumí schopnost látky zasáhnout mikroorganismus, ale s minimálním rizikem poškodit buňku živočišnou, a tím pacienta. Antibiotika se dělí z různých hledisek.

První z nich je typ účinku. Baktericidní ATB jsou látky, které ireverzibilně usmrcují bakteriální buňku. Jejich účinek nastane většinou do 48 hod. a využívají se především u vážnějších zdravotních stavů či při oslabené imunitě jedince (beta-laktamy, aminoglykosidy, glykopeptidy, fluorochinolony aj.). Bakteriostatická antibiotika zastavují růst a množení mikroorganismů a při přerušení dodávky ATB se jejich životaschopnost může obnovit. Klinický efekt je pozorovatelný až za 3-4 dny (tetracykliny, makrolidy, linkosamidy, aj.). Baktericidní antibiotikum podávané v nízké koncentraci v místě infekce může mít účinek pouze bakteriostatický a naopak.

Účinnost dané látky lze hodnotit určením tzv. minimální inhibiční koncentrace (MIC), je to: *„Nejnižší koncentrace dané látky, která zabrání růstu příslušného mikroba.“* (1) Hodnota MIC se využívá ke stanovení citlivosti mikroba k danému ATB. Požadovaného klinického efektu se dosáhne, pokud podávané ATB přesahuje hodnoty MIC. Dále se bere v úvahu dávka ATB. Některá ATB jsou účinnější, čím více jejich koncentrace převyšuje MIC (aminoglykosidy, fluorochinolony) a čas - doba, po kterou je hladina ATB v plasmě nad MIC (glykopeptidy). (1)

Antibiotika se dále dělí dle spektra účinku, tedy seznamu mikroorganismů, které ATB zasáhne a projeví se klinickým účinkem. Navíc podává informaci o přirozené rezistenci, a tím předchází k chybnému podání a selhání léčby. Dle rozsahu účinku se rozlišují ATB:

- **úzkospektrá:** působí pouze na určitý druh bakterií (oxacilin-stafylokoky a některé hemolytické streptokoky; glykopeptidy-některé grampozitivní bakterie, antituberkulotika aj.)
- **středněspektrá:** zasahují větší skupinu (peniciliny-grampozitivní aerobní i anaerobní bakterie a spirochety)
- **širokospektrá:** účinkují na grampozitivní i gramnegativní bakterie (tetracykliny, makrolidy, cefalosporiny vyšší generace aj.) (3)

3.1.1 Mechanismus účinku antibiotik

Antibiotika jsou rozdělena do několika skupin, jedná se o různé látky, které zasahují různá místa v bakteriální buňce. Zásahová místa jsou však omezená, což vnáší problém při výzkumu nových skupin ATB, jelikož bakterie rychle nacházejí způsob rezistence i na nové skupiny léků. Rozdělení antibiotik do skupin a uvedení mechanismu účinku ukazuje Příloha 1 na str. 68.

3.1.1.1 Inhibice syntézy buněčné stěny

Tato skupina antibiotik se vyznačuje minimálním toxickým účinkem, jelikož zasahuje buněčnou stěnu, která u živočišné buňky zcela chybí. Jejich účinek je baktericidní. Do této skupiny řadíme beta-laktamy (peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy, karbapenemy), glykopeptidy (vankomycin), antituberkulotika (isoniazid). (1)

Syntéza buněčné stěny probíhá na rozhraní buněčné stěny a cytoplasmatické membrány. Ke konci syntézy dochází pomocí enzymů ke zpevnění peptidoglykanu příčnými vazbami. Označují se jako penicillin - binding proteins (PBP) a jsou schopné vázat peniciliny a jiné beta-laktamy. Důvodem je podobnost beta-laktamového kruhu s D-alanyl-D-alanyl-dipeptidem mureinu. Těchto bílkovin je v buňce více a liší se svojí molekulární hmotností. PBP s menší molekulovou hmotností jsou transpeptidázy či karboxypeptidázy. Nejsou citlivé k cefalosporinům. PBP o vyšší molekulové hmotnosti se podílí na tvorbě zkřížených vazeb v peptidoglykanu. Jejich úloha je důležitá pro dělení a metabolismus buňky. Po navázání beta-laktamu na PBP dojde k acylaci a inaktivaci tvorby stěny. Buňka se nedělí a hyne. Glykopeptidy zasahují až konečnou fázi, kdy se váží na D-alanyl-D-alanyl prekurzor stěnového pentapeptidu, čímž zastaví růst buňky. Působí pouze na grampozitivní bakterie, jelikož gramnegativní bakterie tyto látky nepropustí skrze vrstvu buněčné stěny. (4)

3.1.1.2 Poškození buněčné membrány

Tento typ antibiotik zasahuje fosfolipidy cytoplasmatické membrány, dochází tak ke snížení selektivní permeability a integrity membrány. Navíc je zde vysoké riziko poškození cytoplasmatické membrány u člověka, projevuje se hlavně poškozením

ledvin. Do této skupiny se řadí polypeptidy (kolistin, polymixin B) a některá antimykotika (ketokonazol, flukonazol, aj.) (4)

3.1.1.3 Inhibice proteosyntézy

K tvorbě nových bílkovin dochází v procesu proteosyntézy, která probíhá na ribozomech. Jsou to buněčné orgány skládající se ze dvou podjednotek o rozdílné velikosti. Nejprve dochází k přepisu genetické informace z DNA vzniklé v nukleoidu na mRNA, poté na mRNA nasedají ribozomy a zahajuje se proces translace. tRNA pomocí kodonového ramena rozeznává pořadí nukleotidů, triplet nukleotidů odpovídá určité aminokyselině, jednotlivé aminokyseliny jsou peptidovou vazbou spojovány do peptidových řetězců.

Antibiotika mohou zasahovat menší podjednotku, kde se ireverzibilně naváží, a zabrání tak procesu proteosyntézy, kdy ribozom nemůže nasednout na mRNA a zahájit translaci (aminoglykosidy – streptomycin, gentamicin, amikacin) nebo způsobí tvorbu nefunkčních bílkovin. Pouze bakteriostatický účinek mohou mít po navázání tetracykliny. Na větší podjednotku se váží makrolidy, linkosamidy a chloramfenikol. Zabraňují posunu ribozomu po vlákně, transpeptidaci. (1)

3.1.1.4 Inhibice syntézy nukleových kyselin

Skupina těchto antibiotik se může vázat na podjednotku DNA gyrázy, enzymu zodpovědného za správný průběh replikace DNA (chinolony), dále mohou inhibovat DNA dependentní RNA polymerázu, a tím zabránit transkripci (rifampicin), nebo mohou rozrušovat již hotovou DNA (nitroimidazoly). (4; 1)

3.1.1.5 Inhibice metabolismu – tvorba antimetabolitů

Antibiotika narušují syntézu kyseliny listové, a to buď inhibicí přeměny p-aminobenzoové kyseliny na dihydrofolát (sulfonamidy), nebo inhibují reduktázu dihydrofolátu na tetrahydrofolát (trimethoprim). Jejich účinek je bakteriostatický. (4)

3.1.2 Antibiotická rezistence

Rezistence neboli odolnost daného mikroba k podávanému antibiotiku se rozlišuje primární (přirozená) a sekundární (získaná). Primární rezistence je determinována na chromosomu, je na potomstvo přenášena vertikálně a je typická pro

celý bakteriální druh. Lze toho využít při přípravě selektivních půd. Získaná rezistence se projeví u kmenů, které byly původně na podávané antibiotikum citlivé. Tento typ rezistence je vážným problémem ve zdravotnictví, jelikož rezistentních kmenů přibývá a účinných léků ubývá. Rezistence může vzniknout v rámci mutace, stačí i bodová, nebo přenesením genu mutace. K tomu nejčastěji dochází pomocí plazmidu nebo transpozonu. Rezistence se šíří horizontálně mezi bakteriemi jednoho druhu, ale i mezidruhově. Rezistence nemusí být pouze k jednomu antibiotiku z jedné skupiny, ale i k více preparátům z více skupin, i s jiným mechanismem účinku, označuje se multirezistencí. Mechanismy rezistence bakterií zahrnují změnu cílového místa (beta-laktamy, makrolidy, linkosamidy), zhoršený průnik do buňky či jejich vyčerpání z buňky (aminoglykosidy, tetracykliny, chinolony) a inaktivace antibiotika produkcí enzymů (beta-laktamy, aminoglykosidy). (1; 3)

3.1.2.1 Rezistence grampozitivních bakterií

Řada grampozitivních bakterií je součástí přirozené mikroflóry, kde u normálních jedinců nezpůsobují vážná onemocnění. Jiné způsobují běžná bakteriální onemocnění (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*). Většina ATB používaných k léčbě těchto nemocí zasahuje buněčnou stěnu (beta-laktamy, glykopeptidy) nebo ovlivňují proteosyntézu (fluorochinolony, makrolidy, linkosamidy). (5)

Je zajímavé, že většina mechanismů rezistence se u bakterií vyvinula dříve, než daná antibiotika vznikla. Vysvětlením je boj o přežití bakteriálního druhu, který se vyskytuje v místě s jiným bakteriálním druhem (většinou půdní bakterie) schopným produkovat látky s antimikrobiálním účinkem. Ne všechny buňky tuto výhodu mají, ale vlivem selekčního tlaku přežijí pouze bakterie rezistentní k dané látce a tuto informaci šíří dále i na své potomstvo. Příkladem může být rychlý vznik rezistence *Staphylococcus aureus* na penicilin či methicilin krátce po zavedení těchto antibiotik do oběhu. (5)

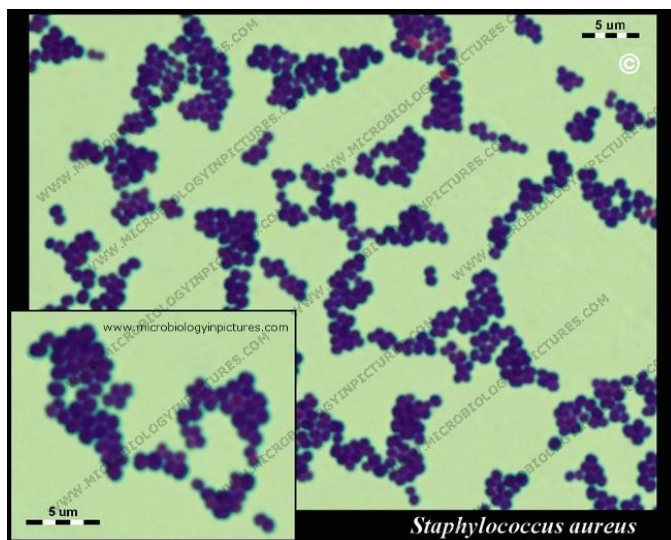
U *Staphylococcus aureus* se vyskytuje rezistence pomocí tvorby enzymů, penicilináz, které štěpí beta-laktamový kruh, čímž zabrání vazbě ATB na PBP a tvorba buněčné stěny může pokračovat. Proto byla vyvinuta antibiotika, která jsou odolná vůči

působení bakteriálních enzymů (methicilin, oxacilin). I přesto se našel jiný způsob, jak antibiotikum deaktivovat. Jedná se o změnu cílového místa. Stafylokoky obsahují na své DNA úsek, chromosomální kazetu - staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec). Tyto kmeny jsou poté schopny změnit PBP na PBP2a. Tyto proteiny poté mají nižší afinitu k methicilinu/oxacilinu, a způsobí tak rezistenci ke všem beta-laktamovým antibiotikům. Alternativní skupinou antibiotik u rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* jsou glykopeptidy. V několika případech však již byly popsány případy hraniční citlivosti k vankomycinu (vancomycin-intermediate resistant *S. aureus* – VISA) i úplná rezistence (vancomycin-resistant *S. aureus* VRSA). V prvním případě bakterie snižují propustnost buněčné stěny pro glykopeptidy, v druhém případě je přítomen gen *vanA* v genomu *S. aureus*, který byl předán enterokoky mezidruhově na stafylokoky. (5; 6)

U grampozitivních bakterií se dále vyskytuje rezistence k makrolidům, linkosamidům a streptograminu B (MLS_B). Jedná se o sdruženou rezistenci, je to skupina antibiotik ovlivňující proteosyntézu. Pokud je přítomen gen erytromycin ribosomal methylase (*erm*), dochází k metylaci ribozomální RNA, a účinek antibiotik je tak narušen. Rozlišuje se rezistence inducibilní (iMLS_B) a konstitutivní (cMLS_B). U methicilin rezistentního *Staphylococcus aureus* převládá výskyt inducibilní rezistence. Tento typ rezistence se in vitro vyznačuje rezistencí k makrolidům, ale linkosamidy zůstávají účinné. Ke stanovení se používá disková difúzní metoda, kdy v přítomnosti obou skupin ATB dochází k deformaci inhibiční zóny linkosamidů. (5)

3.2 *Staphylococcus aureus*

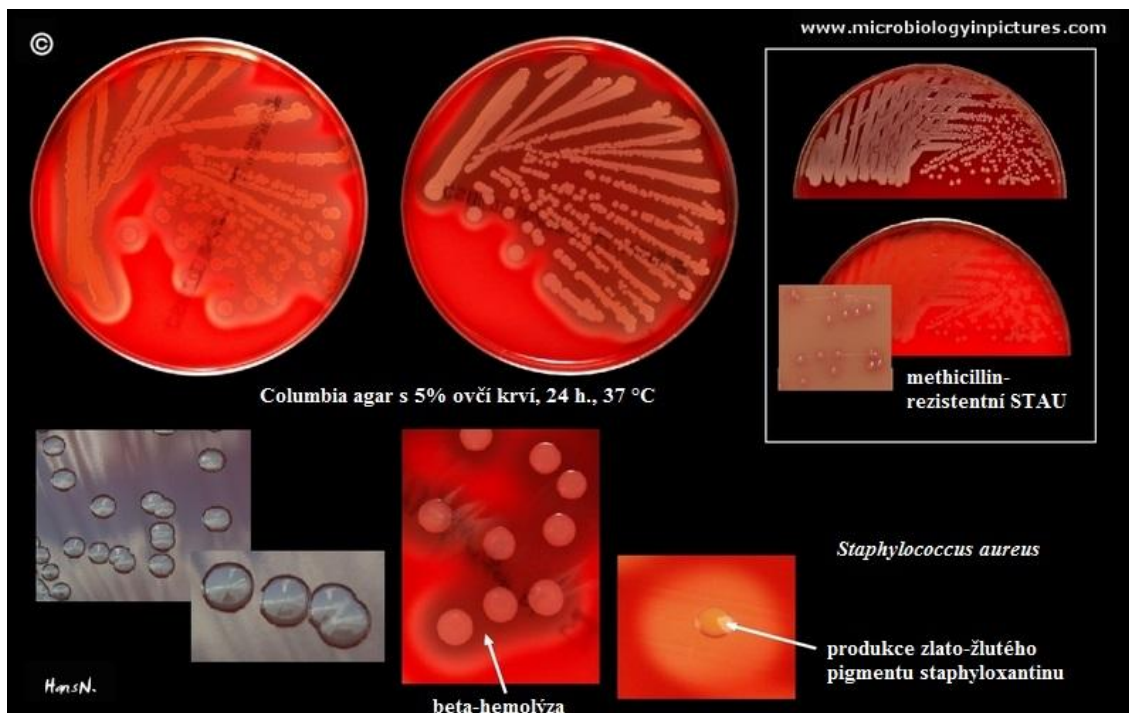
Morfologicky lze tyto bakterie popsat jako grampozitivní koky o průměru zhruba 1 μm, uspořádané nejčastěji do tvaru hroznů (Obrázek 1 str. 18). Jedná se o nepohyblivé, fakultativně anaerobní, spory netvořící bakterie. U řady osob se přirozeně vyskytují na povrchu kůže a sliznic bez zjevných příznaků infekce. Po oslabení organismu či poranění způsobují hnisavé infekce kůže, záněty až sepse. Je u nich popisována i otrava z potravin. (3; 7)



Obrázek 1 Staphylococcus aureus ve světelném mikroskopu, Gramovo barvení (8)

Staphylococcus aureus (STAU) má jednodušší stavbu buněčné stěny jako všechny grampozitivní bakterie. Skládá se z peptidoglykanu, kyseliny teichoové a proteinu A. Peptidoglykan zde působí jako endotoxin, stimuluje uvolňování cytosinů z makrofágů, aktivuje komplement a aglutinuje krevní destičky. Skupinově specifický je protein A, skládá se z ribitolových podjednotek kyseliny teichoové. Zvyšuje adhezi mikroba na sliznice a rány navázáním na fibronectin. Protein A navíc dokáže nespecificky reagovat s Fc-fragmentem imunoglobulinů. Zabrání tak označení bakterie protilátkami a nedochází k aktivaci komplementu a fagocytů. (7)

Kultivace STAU se provádí na běžných půdách, mikrob roste v širokém rozmezí teplot (7 – 46 °C) i hodnot pH (4,2 – 9,3). K izolaci se používá nejčastěji krevní agar s 5 % ovčích erytrocytů a obyčejný nebo thioglykolátový bujon. K selekci gramnegativních bakterií se využívá krevní agar s 10 % NaCl. Kolonie jsou neprůhledné, hladkého povrchu a rovných okrajů, krémové konzistence a pigmentované. Barva je od smetanové, zlatožluté až po naoranžovělou. Kolem kolonie se vyskytuje beta-hemolýza (Obrázek 2 str. 19). Růst v bujonu se projevuje zákalem a tvorbou sedimentu. (7)



Obrázek 2 Růst STAU na krevním agaru s typickou beta-hemolýzou (8)

3.2.1 Faktory virulence *Staphylococcus aureus*

Na buňce STAU lze nalézt celou řadu faktorů virulence. Lze je dělit na povrchové (vázané na bakteriální buňku) a extracelulární (uvolňované do prostředí). **Povrchové antigeny** jsou především *peptidoglykan*, *protein A*, *polysacharid A*, který má adhezní vlastnosti. Dále u mukoidních kmenů dochází k tvorbě pouzdra, na kterém se nachází *kapsulární antigeny*, které zabraňují fagocytóze buňky. *Adhezní proteiny* umožňují vazbu na kolagen, elastin a fibronektin k lepšímu přichycení na sliznici a povrch kůže. *Clumping factor* neboli vázaná koagulasa umožní navázání na fibrinogen a jeho přeměnu na fibrin. Následně dochází ke shlukování stafylokoků. (7)

Extracelulární faktory je možné dělit na enzymy a toxiny. Mezi enzymy se řadí *volná koagulasa*. Tento protein vytváří s protrombinem aktivní komplex staphylothrombin, který je schopen přeměnit fibrinogen na fibrin. Vzniklý fibrin napomáhá k ohraničení vzniklé léze, a vzniká tak stafylokokový absces. *Katalasa* je enzym, štěpící peroxid vodíku, který je pro mikroba toxický. *Hyaluronidasa* je schopna štěpit kyselinu hyaluronovou, která je přítomna v mezibuněčné hmotě. Stafylokoky se tak mohou šířit do okolních tkání. *Lipasy* jsou odpovědné za štěpení mazových žlázek a

průnik do podkoží. *Nukleasy* štěpí jádra leukocytů. *Staphylokinasa* (fibrinolyzin) aktivuje přeměnu plasminogenu na plazmin, a tím rozpuštění fibrinové sraženiny. Opět se tak umožní průnik mikroba do okolí. *Penicilinasa* umožňuje rozštěpení beta-laktamového kruhu, tím zastaví účinek ATB. (4; 7)

Druhou skupinou extracelulárních faktorů jsou toxiny. Cytolyziny poškozují povrchovou membránu buněk. *Alfa-hemolyzin* je schopný vázat se na lipidy v buněčné membráně, a způsobit tak perforaci. Účinek je podobný jako při tvorbě komplementového komplexu. Způsobuje dermonekrotické až letální poškození tkání. Na krevním agaru z ovčích erytrocytů způsobuje úplnou beta-hemolýzu. *Beta-hemolyzin* (sfingomyelinasa C) poškozuje tkáně a podílí se na tvorbě abscesů. Štěpí sfingomyelin v membráně buněk různých živočišných druhů. Nejvíce obsahují sfingomyelin ovčí a hovězí erytrocyty, proto je zde účinek nejvýraznější. Na agaru z ovčích erytrocytů může docházet při kultivaci i k tzv. hot-cold-hemolysis, kdy vlivem chladu při kultivaci dojde k hemolýze. Jedná se o neúplnou beta-hemolýzu. Beta-hemolyzin potlačuje hemolýzu alfa-hemolyzinu a naopak zesiluje účinek hemolyzinu delta. *Gama-hemolyzin* se pravděpodobně podílí na vzniku osteomyelitidy, jelikož pacienti s tímto onemocněním mají zvýšené protilátky proti tomuto toxinu. Je inhibován agarem, proto není na krevním agaru prokazatelný. *Delta-hemolyzin* působí nejvíce na humánní erytrocyty a za účasti beta-hemolyzinu se projevuje na krevním agaru úplnou beta-hemolýzou. *Pantonův-Valentinův leukocidin* se skládá ze dvou složek, pomalé a rychlé. Účinek je zjevný pouze v přítomnosti obou složek. Narušuje permeabilitu, iontovou výměnu a integritu buněčné membrány neutrofilů, makrofágů a monocytů, buňky poté lyzují. (4; 7)

Stafylokokové *enterotoxiny* jsou bazické proteiny, které jsou schopny odolávat vlivu trávicích enzymů a půlhodinovému varu. Řadí se mezi superantigeny, a jsou tak schopny vyvolat onemocnění i při malých dávkách. Působí jako lokální neurotoxiny, které zrychlují peristaltiku a vyvolávají průjem. Dále dráždí vegetativní nervstvo a dochází k dráždění emetického centra v CNS, projevuje se zvracením. Enterotoxin B se vyskytuje u nemocničních kmenů a může vyvolat pseudomembranosní enterokolitidu po antibiotické léčbě. U zánětlivých syndromů může vyvolat syndrom toxického šoku.

Toxin syndromu toxického šoku I (TSST-1) je dalším superantigenem, který v malých koncentracích zvyšuje permeabilitu endotelií, přímo se napojuje na vazebná místa makrofágů a lymfocytů a vede k nadprodukci cytokinů, následně může vyústit v šokový stav, kdy hrozí až multiorgánové selhání. Toxin se vyznačuje mitogenními účinky na T-lymfocyty, dále je pyrogenní, inhibuje syntézu makromolekul a poškozují řadu orgánů. Irreversibilně zasahuje endotelie ledvinných kanálků. *Exfoliatiny* (epidermolytické toxiny) poškozují mukopolysacharidovou matrix v epidermis. Dochází tak k tvorbě intradermálních trhlin, následně vyplňované tkáňovou tekutinou, mění se v puchýře a dochází k olupování velkých ploch pokožky, projevující se jako syndrom opařené kůže. (4; 7)

3.2.2 Onemocnění vyvolávaná *Staphylococcus aureus*

STAU je spojen s nozokomiálními nákazami, především infekcemi v místě chirurgického výkonu, primárních i sekundárních infekcí krevního řečiště a infekcí respiračních. Třetina populace bývá bezpříznakovými nosiči. Ložiska nosičství jsou nejčastěji nosní sliznice, kůže a kožních adnex (zevní zvukovod, axily, perineum), vzácněji vaginální sliznice. (3)

- **Infekce krevního řečiště:** STAU se řadí mezi častého původce primární bakteriémie nozokomiálního původu. Riziko je spojeno hlavně s osídlením cévních katétrů. K sekundárním infekcím poté dochází nejčastěji v místě chirurgického zákroku. S bakteriémií je spojena hrozba sepse a tvorba metastatických ložisek (plíce, kostra, CNS). Původní infekční ložisko nemusí být nalezeno, jelikož se může jednat o malou ranku.
- **Infekce srdce a cév:** u osob po operaci srdečních chlopní, chlopenními vadami či zavedenými katétry je nebezpečná akutní stafylokoková endokarditida. Na povrchu srdečních chlopní se vytváří biofilm tvořený bakteriemi a mezibuněčnou hmotou. Navíc dochází k neustálému uvolňování stafylokoků a k tvorbě septických embolů, kdy opět hrozí tvorba metastatických abscesů. Infekce je navíc obtížně léčitelná ATB z důvodu horšího průniku léčiva k chlopním. Katetrizace může způsobovat i infekční endarteritidu, která může

vyústit v tvorbu falešných výdutí. Další komplikací může být supurativní tromboflebitida, kdy v žíle zůstává infikovaný trombus.

- **Stafylokokový toxický šok:** může se jednat o infekci rány, infekci pochvy při nesprávném používání menstruačních tampónů, ale i komplikaci stafylokokové infekce, pokud kmen je producentem toxinu syndromu toxického šoku či jiného enterotoxinu se superantigenní aktivitou.
- **Respirační infekce:** STAU je typickým původcem ventilátorové pneumonie, tracheobronchitidy. Plíce se mohou stát cílovým místem při metastazování během přetrvávající bakteriémie.
- **Infekce v místě chirurgického výkonu:** jedná se o nejčastějšího původce infekce ran, popálenin či zranění. Často dochází ke zhnisání na základě přítomnosti cizího tělesa (tříska, špína, umělé implantáty, stehy). Proto tato infekce hrozí a představuje riziko u operací kloubů, srdce a cév, CNS.
- **Infekce kůže a měkkých tkání:** jsou to infekce hnisavé. Nejčastěji se jedná o impetigo (Obrázek 3 str. 23) – tvorba puchýřů v povrchové vrstvě, vyplněných žlutým hnisem, které jsou pokryty žlutohnědou krustou. Vyskytuje se hlavně u malých dětí. Dále folikulitida (Obrázek 4 str. 23), v tomto případě dochází ke zhnisání vlasového míšku v mazové žláze. Projevuje se žlutavou pustulkou se zarudlým okolím. STAU může být původcem i zánětu mazové žlázy na okraji víčka, tzv. ječného zrna (hordeolum), které může vyústit v zánět víčka (blepharitis) a hnisavý zánět spojivky (conjunctivitis). Pokud zánět folikulu prostupuje i do škáry, jedná se o furunkl (nežít). Může docházet i k zánětu mléčné žlázy či potní žlázy v podpaží.



Obrázek 3 Impetigo (9)



Obrázek 4 Folikulitida (9)

- **Syndrom opařené kůže a Ritterův syndrom u novorozenců:** působením toxinu exfoliatinu dochází k tvorbě puchýřů, tekutina v puchýřích je sterilní. Zdrojem infekce může být i nemocniční personál.
- **Infekce kostí a kloubů:** k zanícení dochází nejčastěji jako následek operačního výkonu nebo k rozsevu dochází při infekci krevního řečiště.
- **Infekce centrálního nervového systému:** STAU do CNS může vnikat vstupy po invazivním zákroku (likvorové zkraty, drenáže), hematogenně při bakteriémii či v místě neurochirurgického zákroku.
- **Infekce močového ústrojí:** většinou se jedná o vzácné nozokomiální onemocnění v místě zavedeného močového katétru či absces ledvin.

- **Stafylokoková enterotoxikóza:** příčinou je pomnožení kmene produkujícího enterotoxiny v potravě (saláty, zmrzlina, zákusky) a následná jejich konzumace. Vyvolává rychle odeznívající (v řádu hodin) akutní gastroenteritidu. (3; 7)

3.2.3 Epidemiologie

Nákazu většinou způsobí kmeny vyskytující se endogenně na těle pacienta (kůže, horní cesty dýchací). K exogennímu přenosu dochází kontaktem s osídlenými osobami (jiní pacienti, ošetřující personál) či kontaminovanými rezervoáry (kontaminované předměty). Kmen je nejčastěji přenášen přímým kontaktem, kapénkami, infekčním aerosolem. Ve zvýšeném riziku jsou nazální nosiči, diabetici, osoby s kožním onemocněním, osoby s chronickou renální insuficiencí, nemocní s revmatoidní artritidou nebo s HIV infekcí. (3)

3.2.4 Prevence

K zabránění přenosu infekce exogenním způsobem je nutné dodržování standardních opatření, která zabraňují přenosu infekčních agens. Nejúčinnějším a nejlevnějším způsobem je mytí rukou, konkrétně alkoholová dezinfekce rukou. Pokud je prokázáno nazální nosičství, zejména u ošetřujícího personálu, je nutné dodržovat tzv. respirační etiketu. Je nutné omezit dotýkání se nosu, a tím zabránit kontaminaci rukou, případně nosit ústenky, používat jednorázové kapesníky a dodržovat hygienu rukou. (3)

U některých operací má přínos aplikovat (lokálně) antibiotika před chirurgickým výkonem. V případě nasálních nosičů se u některých chirurgických výkonů snižuje riziko vzniku infekce snížením nálože STAU, či se úplně eliminuje. Prakticky se aplikuje lokální ATB mupirocin ve formě gelu. Podává se několikrát denně po dobu 5 dnů před plánovanou operací. Gel lze aplikovat i na kůži jinde po těle. (3)

3.2.5 Antibiotika používaná k léčbě infekcí vyvolaných STAU

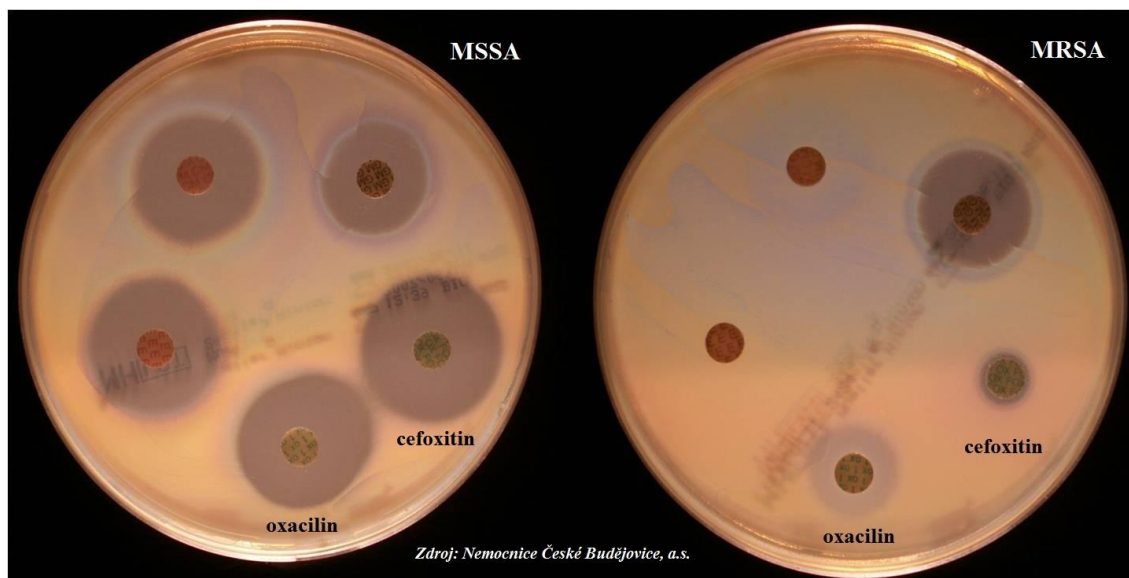
Antibiotikem volby k léčbě infekce je *oxacilin* (či methicillin). Jedná se o antibiotikum ze skupiny penicilinů, které je odolné vůči penicilinázám. Využívá se k léčbě lokálních i systémových onemocnění stafylokokového původu či při smíšených infekcích se streptokoky (infekce měkkých tkání). Podávání je především parenterální

(perorální forma současně neexistuje). Účinek ATB je závislý na čase a doporučuje se dávkovat po 4-6 hodinách. U endokarditidy a celkové infekce se kombinuje *oxacilin* s *gentamicinem*, kdy se využívá synergie účinku obou antibiotik. U stafylokokového syndromu toxického šoku se *oxacilin* podává společně s *klindamycinem* - ATB ze skupiny linkosamidů. Klindamycin inhibuje proteosyntézu, a potlačuje tak tvorbu bakteriálních toxinů. K léčbě lehčích infekcí lze použít *amoxicilin/klavulanát*, jedná se o penicilinové antibiotikum obohacené o inhibitor beta-laktamáz. (1; 3; 10)

Alternativními antibiotiky může být pro parenterální podání *cefazolin* ze skupiny cefalosporinů 1. generace, uplatňuje se především při profylaktickém užití před chirurgickými výkony či při nedostupnosti oxacilinu. K perorálnímu užití se používá *klindamycin*, *kotrimoxazol* či *linezolid*, který je účinný k léčbě nekrotizující pneumonie vyvolané kmeny STAU produkujícími Pantonův-Valentinův leukocidin. Při endokarditidě u intravenózních uživatelů drog se perorálně podává *ciprofloxacin* + *rifampicin*. Z důvodu snadného vzniku rezistence na rifampicin je nutná jeho kombinace s dalším antibiotikem. (3)

3.3 Methicillin rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Již krátce po zavedení penicilinu k léčbě infekcí se objevují první případy STAU, u kterých se objevuje rezistence. Je u nich prokázána produkce enzymu penicilináza. Gen kódující tento typ rezistence je lehce přenášen plazmidem, proto dnes až 95 % kmenů STAU je rezistentních k penicilinu. Následuje vývoj léčiv ze skupiny semisyntetických penicilinů, kam se řadí i methicillin. Další alternativou jsou penicilinová antibiotika obsahující navíc inhibitor betalaktamázy, cefalosporiny a antibiotika jiného mechanismu účinku (makrolidy, linkosamidy). V roce 1961 byly prokázány první kmeny, které byly schopné tvořit alternativní PBP2a, a tím odolat účinku všech betalaktamových antibiotik. Tyto kmeny jsou nazývány jako methicillin – rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA). Rozdíl v nárůstu bakterie při diskové difúzní metodě testování citlivosti k ATB zobrazuje Obrázek 5, pozitivní růst na selektivní chromogenní půdě (růžové kolonie) Obrázek 6 str. 26. (11)



Obrázek 5 Porovnání diskové difúzní citlivosti k ATB u MSSA a MRSA



Obrázek 6 Růst MRSA na selektivní chromogenní půdě

U kmenů MRSA byl prokázán výskyt genu *mecA*, který leží na chromozomu v oblasti tzv. *staphylococcal cassette chromosome mec element* (SCC*mec*). Je to jedinečná třída mobilního genetického elementu, který integruje do chromozomu

MRSA na specifickém místě (*attB_{sc}*), které se nachází na začátku replikace. Tento gen rezistence je tak přepisován přednostně. Výsledkem přítomnosti genu *mecA* u kmenů MRSA je schopnost tvořit transpeptidázu PBP2a podílející se na syntéze buněčné stěny. Klasické transpeptidázy (PBP 1-4) v přítomnosti betalaktamových antibiotik neplní svou funkci. V případě PBP2a je enzym schopný pokračovat v syntéze, jelikož má nižší afinitu k této skupině antibiotik. Protein PBP2a může být produkován všemi buňkami určitého kmene (homorezistence) nebo pouze některými, poté se jedná o heterorezistenci. (12)

Původ genu *mecA* je zatím neznámý. Jedna z domněnek je, že k přenosu genu *mecA* pravděpodobně došlo od druhu *Staphylococcus sciuri*, u kterého byla nalezena 88 % sekvenční podobnost syntetizovaného proteinu s PBP2a. Gen byl přenesen na citlivý kmen *S. aureus*, kde poté došlo k inzerci do chromozomu. (13) Citlivé kmeny se postupně začaly stávat rezistentními. Při porovnání citlivých kmenů *S. aureus* z počátku 60. let ve Velké Británii a Dánsku a prvních nemocničních kmenů MRSA byla nalezena shoda.

3.3.1 Rozdělení a šíření MRSA

Kmeny MRSA po celém světě se dělí do 5 klonálních komplexů. Tzn., že k inzerci *SCC_{mec}* úseku pravděpodobně došlo pětkrát. (14; 12)

První klasifikace klonů MRSA proběhla na základě makrorestrikční analýzy DNA a *SCC_{mec}* úseku pomocí pulzní elektroforézy (PFGE). Oliveira a kol. (15) rozděluje klony do 4 typů. Typ I o délce 34 kbp byl nalezen u prvního kmene MRSA z Velké Británie. Typ IA navíc obsahuje plazmid pUB110 a je charakteristický pro Iberský klon. Typ II je dlouhý 52 kbp a vyskytl se v Japonsku a New Yorku. Na Novém Zélandu byl nalezen typ III (66kbp) a vyskytuje se u Maďarského a Brazílského klonu. Typ IV (20-24 kbp) byl nalezen v Portugalsku a Polsku, dále je charakteristický pro klon UK EMRSA-15 vyskytující se v Anglii. Ito a kol. (16) poté klasifikoval typ V (28 kbp), který objevil u komunitních kmenů MRSA. (12)

Nyní je klasifikace založena na sekvenčním typu (ST), citlivosti (MSSA) nebo rezistenci (MRSA) k methicilinu a úseku *SCC_{mec}* (I-V). Využívá se metody

multilokusové sekvenční analýzy (multilocus sequence typing MLST). Dochází při ní k porovnání sedmi alel metabolických genů, získá se alelický profil, kterému odpovídá sekvenční typ. Pokud sekvenční typ sdílí pět stejných alel, patří do klonálního komplexu. Klonálních komplexů bylo zatím určeno pět. Klony, které patří do stejného klonálního komplexu mají stejného předchůdce. Kmeny MRSA se šíří vertikálně klonální cestou. Infekce je tak přenášena pouze kontaktem s kolonizovaným nebo infikovaným člověkem, méně zvířetem. Tabulka 1 zobrazuje rozdělení do klonálních komplexů. (12; 17)

Tabulka 1 Současná klasifikace klonů MRSA a jejich příslušnost do klonálních komplexů [převzato (12) podle (17)]

Klonální komplex	Klon	Alelický profil	Původní nomenklatura klonů MRSA
5	ST5-MRSA-I	1-4-1-4-12-1-10	UK EMRSA-3
	ST5-MRSA-II	1-4-1-4-12-1-10	New York/Japanese
	ST228-MRSA-I	1-4-1-4-12-24-29	Southern German
8	ST8-MRSA-II	3-3-1-1-4-4-3	Irish-1
	ST8-MRSA-IV	3-3-1-1-4-4-3	UK EMRSA-2,-6
	ST239-MRSA-III	2-3-1-1-4-4-3	UK EMRSA-1,-4,-11, Portuguese, Brazilian, Viennese
	ST247-MRSA-I	3-3-1-12-4-4-16	UK EMRSA-5,-17, Iberian
	ST250-MRSA-I	3-3-1-1-4-4-16	First MRSA
22	ST22-MRSA-IV	7-6-1-5-8-8-6	UK EMRSA-15, Barnim
30	ST36-MRSA-II	2-2-2-2-3-3-2	UK EMRSA-16
45	ST45-MRSA-IV	10-14-8-6-10-3-2	Berlin

Podrobnější studie MRSA započala v České republice (ČR) v roce 1996. Během roku 1996 a 1997 Melter a spol. (18) provedli analýzu kmenů v několika českých nemocnicích. Kmeny byly určeny jako klon Brazílský, který se sem pravděpodobně dostal z Brazílie či Jižní Ameriky. Druhý byl klon Iberský, který se do ČR zřejmě rozšířil z Portugalska či Španělska. V roce 2003 vydává Melter a spol. (19) výsledky nové studie, která probíhala v letech 2000-2002 v několika českých nemocnicích. Kmeny byly rozděleny dle ribotypu, pulzotypu, sekvenčního typu a typu úseku *SCCmec*. (12) Kromě Brazílského a Iberského klonu pojmenovali tzv. Český klon. Dle současné klasifikace spadá do stejného klonálního komplexu jako klon Brazílský

(ST239-MRSA-III), liší se však ribotypem. Český klon pravděpodobně vznikl reorganizací chromozomu Brazílského klonu. Zastoupení Brazílského klonu v letech 1996-1997 bylo 80 % kmenů MRSA, v letech 2000-2002 jeho výskyt klesl, ale naopak Český klon tvořil až 70 %. V roce 2001 se pravděpodobně z Velké Británie rozšířil i klon UK EMRSA-15. Studie dále sledovala geny rezistence, citlivost k ATB a produkci toxinů. (19; 12) Schéma 1 zobrazuje výskyt jednotlivých kmenů v ČR.

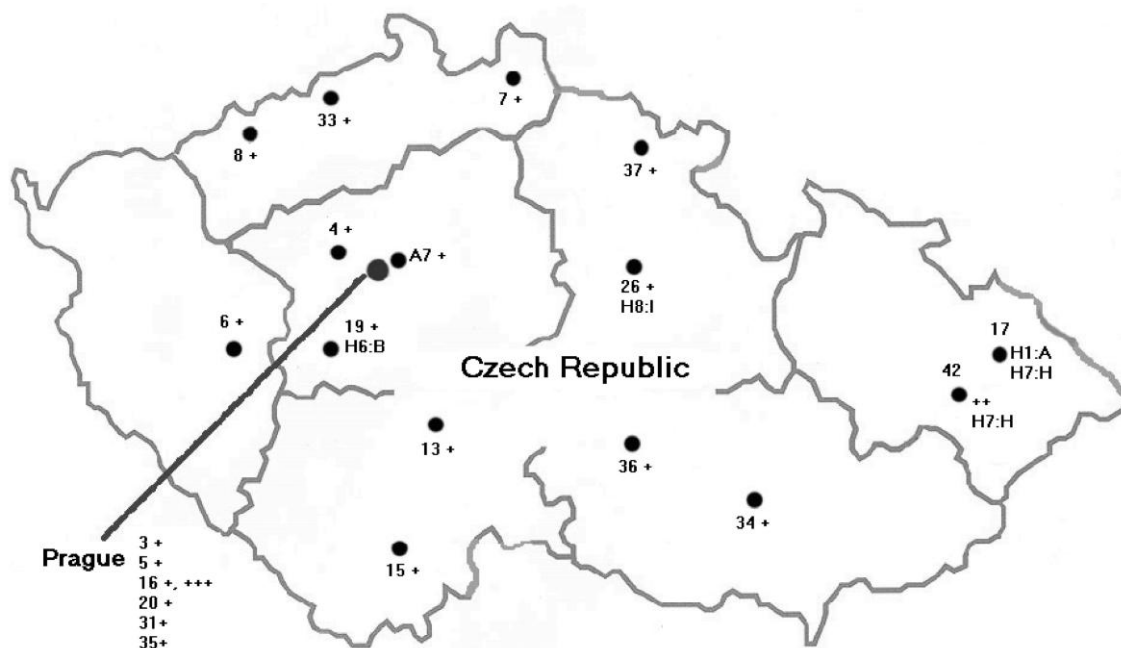


Schéma 1 Klony MRSA v ČR (2000-2002) převzato (19)

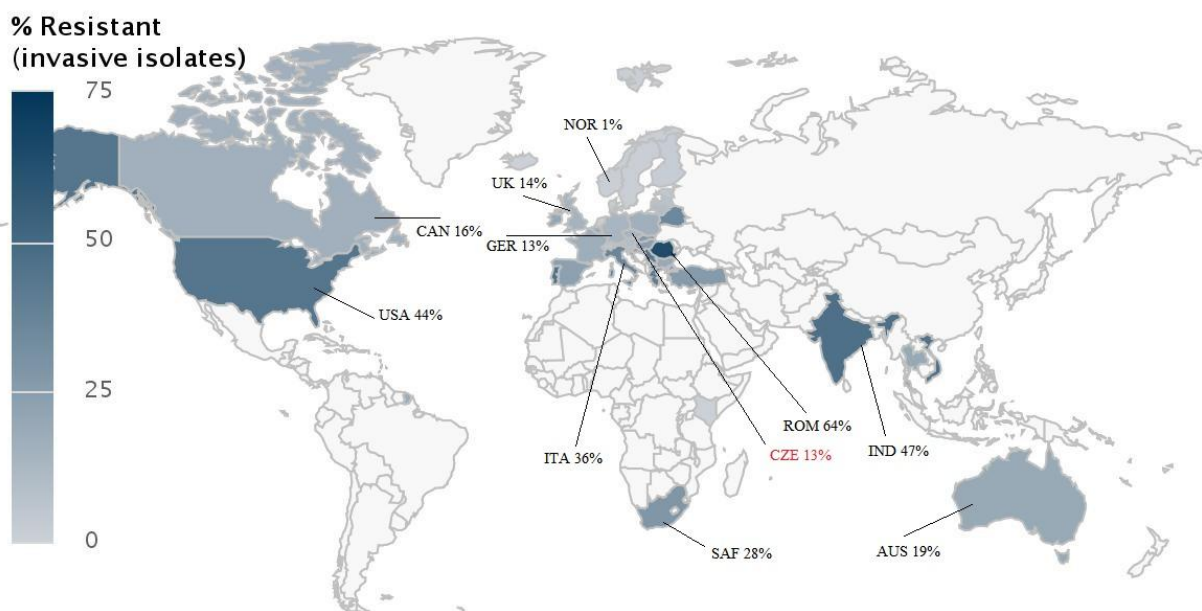
(Český klon +, Iberický ++, Brazílský +++; molekulární charakteristika ribotyp:PFGE), čísla značí kód nemocnice (3,5,16,20,31,35-Praha, 4-Kladno, 6-Plzeň, 7-Liberec, A7-Brandýs, 8-Most, 13-Tábor, 15-České Budějovice, 17-Ostrava, 19-Příbram, 26-Pardubice, 33-Ústí nad Labem, 34-Brno, 36- Havlíčkův Brod, 37-Trutnov, 42-Nový Jičín)

3.3.2 Výskyt MRSA

Infekce MRSA je jedna z nejrozšířenějších nozokomiálních nákaz po celém světě (Schéma 2 na str. 30). (20) Schéma 3 na str. 31 zobrazuje výskyt MRSA v Evropě za rok 2014. (21) MRSA je především typický nemocniční patogen. První zmínky o výskytu MRSA jsou z univerzitních nemocnic ve Velké Británii a v USA, poté se nákaza šířila do ostatních větších, následně i menších nemocnic po celém světě. Osídlení daným kmenem vede k prodloužení hospitalizace, zvýšení nákladů za léčbu účinnými antibiotiky a samozřejmě vyšší ohrožení života pacienta. Nemocniční kmeny

(hospital-associated MRSA HA-MRSA) vznikají v důsledku nesprávně aplikované antibiotické politiky (především vysoký selekční tlak antibiotik, který podněcuje vznik rezistence - podávání beta-laktamových antibiotik) a nedodržování základních hygienických opatření. Infekce MRSA ohrožuje především pacienty s otevřenou ránou (diabetická noha, popáleniny), dále způsobuje osteomyelitidy, ventilátorové pneumonie, infekce krevního řečiště, sepse, endokarditidy po náhradě chlopní, pooperační meningitidy či infekce v místě chirurgického výkonu. (3)

Resistance of *Staphylococcus aureus* to Oxacillin (MRSA)



Center for Disease Dynamics, Economics & Policy (cddep.org)

Schéma 2 Rezistence MRSA ve světě 2013 (20)

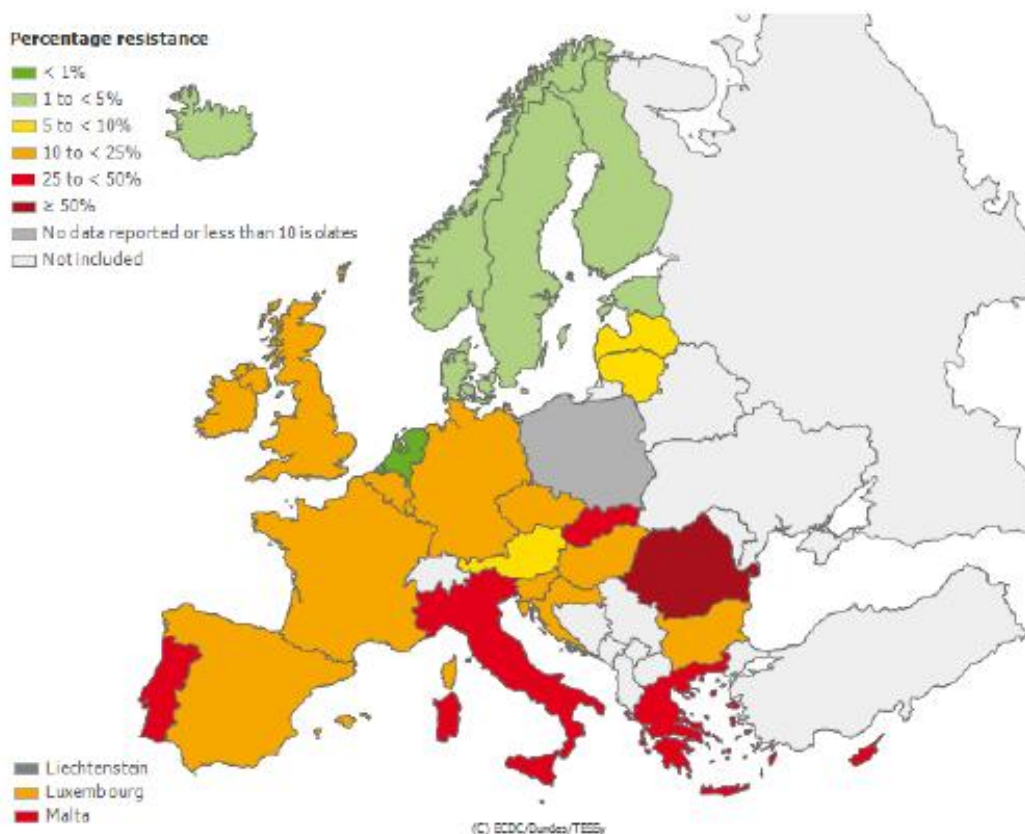


Schéma 3 Výskyt MRSA v Evropě 2014 (21)

V poslední době se zvyšuje výskyt i komunitních kmenů MRSA (community-associated MRSA CA-MRSA). Komunitní kmeny se liší genotypem, faktory virulence i antibiogramem. Způsobují infekce kůže a podkoží, nekrotizující fasciitidu a nekrotizující pneumonie. CA-MRSA je klasifikován podle několika kritérií (22):

- pozitivní nález z jakéhokoliv místa do 48 hod. od přijetí do nemocnice
- absence předchozí hospitalizace, operace nebo pobytu v pečovatelském zařízení v minulých letech
- absence zavedených katétrů
- negativní anamnéza kultivace MRSA

Rozšíření CA-MRSA v Evropě není zatím tak veliké, oproti tomu v USA, Austrálii, Kanadě nebo na Taiwanu je výskyt poměrně velký. V Evropě se poprvé komunitní kmeny diagnostikovaly v Nizozemsku, dále v Dánsku a Francii. Dnes je největší výskyt v Řecku a překvapivě v severských zemích, kde je nízký výskyt HA-MRSA. Kmeny byly pravděpodobně zavlečeny z endemických oblastí. Nejčastějším projevem jsou infekce kůže a měkkých tkání přecházející v absces a vyžadující rozsáhlé drenáže. (22)

CA-MRSA vykazují zvýšený výskyt faktorů virulence. Jedná se především o produkci Panton-Valentinova leukocidinu (PVL). Je to dvousložkový cytotoxin, který způsobuje destrukci leukocytů a nekrózu tkání. Narušuje membránu buněk tvorbou pórů, tím se poruší propustnost, integrita a iontová výměna. Podílí se především při kožních infekcích, hlubokých flebitidách, osteomyelitidách, sepsích. Nebezpečné jsou především abscedující pneumonie. Produkce tohoto toxinu je nebezpečná u methicillin-senzitivních kmenů STAU, u MRSA pak bývá často fatální. Machová a spol. (23) zjišťovali přítomnost faktorů virulence, jedním z nich byl i PVL. Z celkových 1336 sledovaných kmenů jich 108 produkovalo PVL (8,1 %), z toho 11 bylo kmenů CA-MRSA. V ČR bylo popsáno několik případů kožních infekcí s komplikacemi (24) nebo smrtelných případů pneumonie (25; 26; 27). Jedná se většinou o mladé, jinak zdravé pacienty. Je nutné v těchto případech rychle jednat (důležitou indicií je přítomnost genů kódujících PVL zachycených pomocí PCR) a nasadit adekvátní ATB terapii. Mělo by se jednat o preparáty potlačující proteosyntézu, a tím i syntézu PVL. Pokud by se podaly bakteriocidní preparáty, stav by se mohl zhoršit z důvodu uvolnění většího množství PVL (24). Kmeny CA-MRSA se liší i citlivostí k antibiotikům od HA-MRSA. Často na ně účinkují antibiotika, na která jsou HA-MRSA již neúčinná. U kožních infekcí je základem drenáž a vyčištění daného místa. Následně se použije vhodné antibiotikum (klindamycin). (3; 22)

3.3.3 Léčba infekcí MRSA

Antibiotikem volby pro léčbu komunitních infekcí způsobených CA-MRSA je *klindamycin* ze skupiny linkosamidů. Díky vhodné farmakokinetice dokáže účinně zasáhnout mikroby ve tkáních a hnisavých ložiscích. Mechanismem účinku je inhibice

proteosyntézy, čímž potlačuje tvorbu stafylokokových toxinů (PVL, TSST-1 aj.). U nemocničních infekcí je lékem volby *vankomycin* ze skupiny glykopeptidů. Inhibuje syntézu buněčné stěny. Jedná se o poměrně toxickou látku, kterou je nutno monitorovat. Od této skupiny odvozeným antibiotikem je *daptomycin* (lipopeptid), který je účinný při léčbě infekcí způsobených rezistentními bakteriemi. Lék je v ČR registrován od roku 2006, není však dodáván, jelikož prozatím stačí v ČR dostupná ATB. Tento lék se váže na cytoplazmatickou membránu, kde způsobí depolarizaci membránového potenciálu, čímž způsobí narušení základních procesů v buňce. Při endokarditidě se vankomycin kombinuje s *gentamicinem* a *rifampicinem*. Při redukovaní nosičství MRSA se využívá lokálně *mupirocin*. Alternativním lékem v léčbě komunitní infekce MRSA je *ko-trimoxazol*. Nemocniční kmeny bývají citlivé ke ko-trimoxazolu a k *linezolidu*, který je zejména účinný při léčbě infekcí MRSA s produkcí PVL. U opakovaných infekcí měkkých tkání se používá kombinace rifampicin+klindamycin/ko-trimoxazol a *ceftarolin* - cefalosporin V. generace, který má účinnost na MRSA. (3)

Bohužel, rezistence k beta-laktamovým antibiotikům bývá u MRSA doprovázena i multirezistencí k dalším skupinám antibiotik. Jedná se především o aminoglykosidy, makrolidy, chloramfenikol, fluorochinolony a glykopeptidy. Machová a spol. (23) sledovali u kmenů STAU rezistenci k oxacilinu a dalším antibiotikům. U 11 kmenů STAU byla prokázána přítomnost genu *mecA*. Všechny tyto kmeny vykazovaly rezistenci k oxacilinu, 6 bylo rezistentních k erytromycinu, 1 k chloramfenikolu, 4 ke klindamycinu a 4 k ciprofloxacinu. U 5 kmenů byla prokázána multirezistence alespoň ke 3 antibiotikům z různých skupin. (23) Rezistence k aminoglykosidům vzniká získem příslušného genu, který kóduje enzymy, které zabrání působení antibiotika. Antibiotika většinou inhibují bakteriální proteosyntézu. Vyskytují se kmeny gentamicin rezistentní MRSA, ale i gentamicin citlivé MRSA, kde však dochází k rezistenci k jiným aminoglykosidovým antibiotikům (amikacin, tobramycin). Je to způsobeno produkcí enzymu nukleotidyltransferáza ANT4', který inhibuje tobramycin, amikacin, a ztrátou produkce bifunkčního enzymu APH6'-AAC2'', který způsoboval rezistenci ke gentamicinu. (28)

Lékem volby u nemocničních kmenů je vankomycin, i zde se však objevuje selhání léčby. Nejprve hodnoty MIC byly vyšší než u citlivých kmenů. Kmeny se začaly označovat jako vancomycin-intermediate resistant *S. aureus* (VISA). Později byly popsány kmeny s vysokou rezistencí ke glykopeptidům, nazývané vancomycin-resistant *S. aureus* (VRSA). U těchto kmenů byla prokázána přítomnost genu *vanA*. Gen bývá přítomen u enterokoků rezistentních ke glykopeptidům. Enterokoky tuto vlastnost předaly kmenům MRSA, vyskytujícím se současně na témže pacientovi. Tento mezidruhový přenos je hrozbou do budoucna. Dále bývá často sdružená rezistence k makrolidům, linkosamidům a streptograminu B (MLS_B). Antibiotika jsou z různých skupin, avšak působí ve stejném místě účinku, inhibují proteosyntézu na ribozomu. Rezistence může být způsobena přítomností genu *erm*, který způsobuje metylaci rRNA, nebo efluxem antibiotika či snížením propustnosti buněčné stěny. (5)

Nová antibiotika jsou z většiny pouze deriváty již používaných léčiv. Vyznačují se především zlepšením některých farmakologických vlastností, spektrem či antimikrobiální aktivitou. Většinou je zde však riziko, že bakterie se rychle stanou opět rezistentní. Nové originální přípravky nejsou příliš registrovány z důvodu stagnace vývoje nových léčiv podceňováním závažnosti rezistence nebo rychlostí šíření rezistence mezi mikroby. Mezi nově zavedená ATB lze zařadit *quinupristin/dalfopristin*. Jedná se o streptograminy, které se podávají jako kombinovaný injekční přípravek. Inhibují syntézu proteinů tím, že se váží na 50S podjednotku ribozomu. Využití mají při léčbě pneumonií, sepsí, infekcí kůže a měkkých tkání. Nadějí jsou přípravky druhé generace glykopeptidů - *oritavancin*, *dalbavancin*, *telavancin*, které si zachovávají účinnost i na kmeny rezistentní k první generaci. *Tigecyklin* je antibiotikum řadící se mezi glycylycykliny. Skupina je odvozena od tetracyklinů, liší se vyšší účinností, větší odolností proti nejčastějším mechanismům rezistence a má poměrně dlouhý biologický poločas. Jeho účinek byl prokázán proti MRSA, ale i gramnegativním bakteriálním druhům produkujících širokospektrou beta-laktamázu a dalším skupinám bakterií. Účinný se zdá být při léčbě pneumonií neznámé etiologie. (29; 30)

3.4 Postupy prevence a kontroly infekcí

Základním předpokladem pro provoz nemocnice je vypracování provozního řádu, který zajistí postupy pro každodenní praxi. Dodržováním těchto postupů se zajistí bezpečnost pacientů, personálu i dalších osob pohybujících se v nemocnici (návštěvy, technici,...). Tento řád se zabývá dezinfekcí a sterilizací, zásadami zacházení s jednorázovými pomůckami, úklidem, stravováním, kontrolou kvality vody, manipulací s prádlem, s infekčním odpadem, krví, s ostrými předměty a jehlami. (3)

Během výkonu své práce by nemocniční personál měl především zamezit vzniku a šíření infekce. Zaměstnanec by měl ke každému pacientovi a biologickému materiálu přistupovat jako k potenciálně infekčnímu. Proto by měl dodržovat osobní hygienu, především hygienu rukou (před a po kontaktu s pacientem, před aseptickými činnostmi, po expozici biologickým materiálem, po kontaktu s okolím pacienta). Dle typu výkonu by měl používat osobní ochranné pracovní pomůcky (jednorázové rukavice, ústenka, štít, ochranný oděv,...). Jíst a pít by měl pouze v prostorech k tomu určených. Měl by informovat svého nadřízeného v situaci, kdy vykazuje příznaky průjemových, hnisavých onemocnění či jiných infekčních onemocnění. (3)

Pro ošetřování všech pacientů se dodržuje *bariérová ošetřovací technika*, která má minimalizovat riziko vzniku infekce. Jedná se především o tyto postupy:

- u ležících pacientů zajistit řádnou hygienu,
- dodržovat hygienu před výkony, operacemi a po nich,
- pacientovi individualizovat pomůcky (osobní hygiena, teploměr,...),
- používat sterilní pomůcky k parenterálním výkonům,
- vyšší pozornost věnovat imunosuprimovaným pacientům,
- léky a infuze připravovat v čisté části přípravný,
- přípojné systémy zavádět při dodržování zásad asepse,
- ventilátory používat pro jednoho pacienta, další použití pouze po důkladné sterilizaci,
- jednorázové pomůcky nelze opětovně použít či sterilizovat.

Rozlišuje se standardní a izolační režim k zabránění přenosu infekcí. *Standardní režim* je zaváděn u všech pacientů i bez podezření na infekční onemocnění. Zahrnuje hygienu rukou, používání nesterilních rukavic, používání ochranných prostředků před výkonem s rizikem potřísnění, individualizaci pomůcek pro daného pacienta, aseptické postupy, dekontaminaci a sterilizaci pomůcek, standardní úklid prostor, prádlo je umístované do pytlů na mobilních stojanech, odpad je shromažďován do sběrných pytlů na mobilních stojanech. *Izolační opatření* - konkrétně pro infekce přenášené kontaktem (multirezistentní bakterie, nozokomiální infekce, průjmy) zahrnuje tyto postupy:

- umístit pacienta na izolaci, kohortové pokoje se stejným typem infekce, či dodržování bariérové ošetrovací techniky a sledování ostatních pacientů,
- zvýšit důraz na hygienu rukou, navíc používat dezinfekční přípravky s účinností na původce,
- používat jednorázové rukavice při vstupu do izolace, po odložení provést hygienickou dezinfekci rukou,
- před vstupem do pokoje použít jednorázový plášť či zástěru,
- ústenku či štít použít jako při standardním opatření,
- při ošetřování kromě standardních postupů provést dezinfekci přípravky s účinností na původce,
- provést úklid s individualizovanými úklidovými prostředky s účinností na původce,
- prádlo a odpad shromažďovat přímo v místě vzniku. (3; 31)

3.4.1 Postup pro kontrolu výskytu kmenů MRSA ve zdravotnických zařízeních

Základní postupy, které mají zabránit šíření MRSA jsou aktivní mikrobiologická surveillance, hygiena rukou a izolační opatření. Zdrojem infekce MRSA je nemocný nebo nosič MRSA, který nemá klinické příznaky. Nosičství se nejčastěji prokáže na nosní sliznici a na kůži (perineum, třísla, axily, hýždě). U chronických nosičů, kteří byli kolonizováni či prodělali infekci během pobytu v nemocnici, lze nalézt kmeny i v chronických ranách a defektech. Za rizikové faktory lze považovat dlouhodobý pobyt v nemocnici, především na jednotkách intenzivní péče, invazivní procedury, léčbu antibiotiky, diabetes mellitus, renální insuficienci na hemodialýze, kožní choroby.

MRSA se řadí mezi infekce přenášené především přímým kontaktem mezi pacienty, personálem a pacienty, méně pomocí vyšetřovacích pomůcek, v silně kontaminovaném prostředí je možný i přenos vzduchem. Orientačně lze rozdělit oddělení nemocnic na rizikové skupiny (32):

- riziková skupina 1 – vysoké riziko: intenzivní péče, popáleninová a transplantační oddělení, kardiovaskulární chirurgie, neurochirurgie, ortopedie, traumatologie,
- riziková skupina 2 – střední riziko: všeobecná chirurgie, urologie, neonatologie, gynekologie a porodnictví, dermatologie a ORL,
- riziková skupina 3 – nízké riziko: standardní lůžková péče interních oborů, neurologie, pediatrie,
- riziková skupina 4 – specifické riziko: psychiatrie, léčebny pro dlouhodobě nemocné a následné péče. Na tato oddělení jsou přijímáni pacienti chronicky kolonizovaní, kteří mohou být zdrojem.

Aktivní mikrobiologická surveillance spočívá ve vyšetření vzorků na přítomnost MRSA při příjmu pacienta. Zahrnuje výtěr z nosu (nebo krku), stěr z perinea (nebo rekta), výtěr z potenciálně infekčních ložisek (rány a defekty, výtěr z tracheostomie, moč u cévkovaných pacientů). Pacienti, kteří jsou doporučeni k testování, se mohou lišit dle pravidel v konkrétní nemocnici. Dle doporučeného postupu (32) se režim vztahuje:

- pacienti překládaní z rizikových oddělení jiných zdravotnických zařízení (riziko 1 a 2, léčebna dlouhodobě nemocných),
- pacienti překládaní ze zdravotnických zařízení s vysokým výskytem MRSA nebo pocházející z geografických oblastí s vysokým výskytem MRSA,
- pacienti s anamnézou pobytu na rizikových odděleních, ve zdravotnických zařízeních s vysokým výskytem MRSA v posledních 12 měsících,
- pacienti s prokázaným nosičstvím nebo infekcí MRSA v anamnéze,
- pacienti přijatí na JIP v rámci rutinního screeningu,
- pacienti přijímaní k plánovanému chirurgickému výkonu (zejména kardiochirurgie, cévní chirurgie, ortopedie, neurochirurgie).

Nemocnice České Budějovice, a.s. vyšetřuje především pacienty s prokázaným nosičstvím nebo infekcí MRSA v anamnéze, pacienty před kardio- a neurochirurgickým výkonem, rizikové pacienty (onkologičtí pacienti, pacienti se sníženou imunitou při pobytu v rizikových skupinách). Fakultní nemocnice Hradec Králové vyšetřuje pacienta, který byl v kontaktu s infikovaným pacientem nebo je aktuálně kolonizovaný MRSA.

V případě nálezu *pozitivní kolonizace* MRSA je pacient převeden do *izolačního režimu*. Izolace se provádí na oddělení, kde byl doposud pacient hospitalizován. V nejlepším případě je umístěn na vlastní pokoj. Většinou nejsou dostatečné lůžkové kapacity a pacienti jsou alespoň přesunováni do tzv. kohort, pokoj s pacienty s pozitivním MRSA screeningem. V některých případech pacient zůstává na stejném pokoji, mikrobiologicky se pak monitorují všichni pacienti na pokoji, musí být dodržován bariérový ošetrovací režim a je vyčleněn speciální personál. Je nutné viditelně označit pokoj („Izolační režim“) + vyčlenit sociální příslušenství (WC, sprcha). Nález je viditelně zapsán do dokumentace pacienta.

Pacient je ošetřován v izolačním režimu. Veškerý personál musí důsledně provádět hygienickou dezinfekci rukou, na pokoji je umístěn alkoholový dezinfekční prostředek s dávkovačem. Dle možností je pro pacienta vyčleněn ošetrovatelský personál, minimalizuje se vstup personálu, bariérový režim dodržují i konsiliáři, fyzioterapeuti aj. Medikace, ošetření a převazy se zařazují na závěr v pořadí. Izolační pokoj se při vizitě zařazuje jako poslední. Samozřejmostí je používání osobních ochranných pomůcek, které se likvidují přímo na pokoji. Nemocný má vyčleněny pomůcky (teploměr, fonendoskop, tonometr,...), provádí se důsledná dezinfekce a sterilizace s prokázaným účinkem na MRSA. Použité nástroje se vkládají do dekontaminační nádoby s dezinfekcí přímo na pokoji pacienta. Úklid se provádí na konci úklidu oddělení dezinfekčním přípravkem s účinkem na MRSA. Lůžkoviny a odpad se dávají do sběrných pytlů přímo na pokoji s označením infekčního materiálu. Návštěvy musí být poučeny o bariérovém režimu a jeho podmínky dodržovat. Minimalizuje se pohyb pacienta mimo izolační pokoj. (32; 31)

Hlavním vektorem zodpovědným za přenos MRSA infekcí jsou považovány ruce personálu. Proto hlavním bodem prevence je *hygienu rukou a používání rukavic*. Stafylokoky vykazují značnou rezistenci k chemické dezinfekci. Účinnost si zachovává vtírání alkoholového přípravku do suchých rukou po dobu 30 – 60 sekund, ruce se vodou neoplachují. Dalším faktorem je dekontaminace prostředí. Stafylokoky jsou schopné odolávat fyzikálním i chemickým vlivům. Pokud jsou navíc chráněny biologickými tekutinami (hnis, sérum), zůstávají živé i několik týdnů. Je nutné provádět častý úklid, čištění a závěrečnou dezinfekci celého pokoje, kontrolní stěry před obsazením dalším pacientem. (33)

Přínos dekolonizace osob nebyl prokázán. U chronických nosičů pozbývá významu, to samé u ošetřujícího personálu, jelikož krátce poté dochází k opětovné kolonizaci. Význam má krátkodobá eradikace před rizikovou procedurou (chirurgický výkon) či snížení koncentrace patogenů v prostředí při vzplanutí nové infekce na oddělení. Doporučuje se lokální aplikace mupirocinu (často k dekolonizaci sliznice nosu). (32; 33)

Překlad pozitivního pacienta na jiné oddělení se provádí, pokud je to nutné k zajištění adekvátní péče. Informace musí být viditelně označena v dokumentaci a oddělení s předstihem informováno. Při propuštění musí být pacient dostatečně poučen o režimových opatřeních, nutnosti informovat personál při budoucím ošetření. V propouštěcí zprávě je uvedena zpráva o pozitivní infekci MRSA. (32)

3.5 Možné postupy vedoucí k omezení výskytu infekce

Rezistence mikrobů k antibiotikům je celosvětovým problémem, který má v některých zemích zvyšující se charakter. Osídlení pacienta rezistentním kmenem vede k prodloužení hospitalizace, nutnosti použít nákladnější léčiva, zvyšuje morbiditu i mortalitu. I když k projevu rezistence většinou dojde až při komplikovanějším onemocnění, podněty vedoucí ke vzniku rezistence pacient dostává již během ambulantní či primární péče. Pokud nedojde k ovlivnění způsobu preskripce antibiotik, především v ordinacích praktických lékařů, může se lidstvo dostat do předantibiotické éry z důvodu selhání dostupné léčby. Výskyt rezistence lze díky podpoře Evropské unie

sledovat pomocí systému European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) a spotřebu antibiotik v programu European Surveillance of Antibiotic Consumption (ESAC). Systémy umožňují porovnávat situaci v různých evropských zemích v průběhu let. Lze tak sledovat odlišnou situaci na severu a jihu, západu a východu Evropy. Je to dáno především odlišnou organizací v předepisování ATB, ale i socioekonomickými důvody (konkurenční boj lékařů o klienty, výška spoluúčasti pacientů na platbě ATB, volná dostupnost ATB, aj.). V České republice významně vzrostl podíl rezistentních mikrobů až v 90. letech. Přisuzuje se to změně politického režimu, kdy lékaři začali mít volnější ruku v předepisování alternativních a záložních antibiotik. Do té doby správné a uvážlivé předepisování základních penicilinů, minimální spotřeba širokospektrých antibiotik a nižší spotřeba ATB na osobu byla vystřídána preskripcí dražších a alternativních antibiotik (makrolidy, fluorochinolony, cefalosporiny všech generací). Zvýšený nátlak ze strany farmaceutického průmyslu se podílí na selekci multirezistentních kmenů bakterií, které odolávají i rezervním antibiotikům (MRSA, gramnegetivní bakterie s produkcí širokospektré beta-laktamázy). Z tohoto důvodu je nutné zavést plošné vzdělávání lékařů, veterinářů, ale i laické veřejnosti v oblasti správného předepisování ATB v primární péči. (34)

Mezi faktory, které vedou k nadužívání v primární péči, se řadí:

- nedostatečné vzdělávání lékařů v ATB problematice,
- podávané informace o tom, co předepisovat, nejsou srozumitelné a dostatečně nepodložené důkazy,
- ATB se předepisují ze strachu nesprávného postupu – raději ATB předepíše, v danou chvíli sice neohrozí pacienta, později může ublížit,
- předepisování ATB z důvodu očekávání pacienta, rodiče, na virové onemocnění,
- nedostatečná regulace předepisovaných antibiotik, zvláště ATB rezervních,
- předepisování nejnovějších, nejdražších a širokospektrých antibiotik v situacích, kdy to není nutné,
- ovlivňování nátlakem farmaceutických firem.

Cílem by mělo být zavedení speciálních programů pro podporu racionální preskripce, které se zaměří na řešení těchto faktorů. Program by měl být plošný, dlouhodobý a podporovaný vládou a pojišťovny, aby splnil svůj účel. Účelem je zachování účinnosti základních antibiotik (peniciliny) u komunitních infekcí, nenahrazovat je nákladnějšími a rizikovějšími antibiotiky (makrolidy, fluorochinolony). Problémem je, že tato antibiotika nejsou uváděna jako léky volby v daných situacích. K předepisování může vést nižší cena, široké spektrum, dobrá farmakokinetika. Zároveň tato antibiotika podněcují vznik rezistentních kmenů. U MRSA kmenů jsou tyto skupiny antibiotik hlavními selektory. (34)

Každá země by měla vytvořit doporučené postupy na národní úrovni. Tyto postupy by měly být mezioborové, oponované, pravidelně aktualizované, zohledňovat by se měly recentní odborné poznatky, vycházet by se mělo z důkazů, být nezávislémi na farmaceutickém průmyslu a vyloučit střet zájmů. V České republice se o to snaží Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně (ČLS JEP). Podpora racionální preskripce v primární péči by měla zahrnovat surveillance nad používáním ATB, a tím nad bakteriální rezistencí. Z tohoto důvodu se zřizují antibiotická střediska, která sdělují a interpretují výsledky mikrobiologických vyšetření, umožňují konzultační činnost, kontinuální vzdělávání a provádění metod preskripčního auditu. Preskripční audit zhodnotí preskripční chování auditovaného lékaře v konkrétních klinických situacích. Lékaři tak umožní dostat zpětnou vazbu, porovnání vlastních postupů s doporučenými postupy. Cílem je identifikovat chyby a zhodnotit jejich význam, vytvořit optimalizaci metod, následně zhodnotit účinnost intervenčního opatření a pomocí opakovaného auditu ovlivnit nesprávnou praxi. Nejčastěji dochází k chybné, zbytečné preskripci ATB (akutní respirační infekce způsobené virem), navíc jsou často předepisovány alternativní a nákladné léky se širším spektrem. (34)

Kromě doporučených postupů slouží ke zvýšení informovanosti lékařů, pacientů a laické veřejnosti stanovení tzv. Evropského antibiotického dne (18. listopadu). V období tohoto dne a následujícího týdne jsou ve zvýšené míře vydávány propagační materiály, které upozorňují na problematiku rezistence, pořádány přednášky či je oslokována veřejnost formou dotazníků. V roce 2009 došlo v České republice

k ustanovení Národního antibiotického programu (NAP). Jeho cílem je zajištění dlouhodobě dostupné, účinné, bezpečné a nákladově efektivní antibiotické léčby. Fungování programu vyžaduje koordinaci mezi subjekty státní správy (Ministerstvo zdravotnictví, Min. zemědělství, Min. školství, mládeže a tělovýchovy, Min. životního prostředí), státních zdravotnických institucí (Státní zdravotní ústav, Státní ústav pro kontrolu léčiv,...), státních veterinárních institucí, profesních organizací (ČLS JEP, Česká lékařská komora, Česká farmaceutická komora,...), plátců zdravotní péče (zdravotní pojišťovny), zdravotnických zařízení (nemocnice, ambulance, primární a následná péče), vzdělávacích institucí, vědeckých institucí a ostatními subjekty. Aktivita NAP probíhá nezávisle na farmaceutickém průmyslu. Hlavními činnostmi a funkcemi NAP jsou:

- aktualizace zásad NAP,
- sledování a analýza bakteriální rezistence,
- sledování spotřeby a používání antibiotik,
- realizace opatření vedoucí k trvalému zlepšení kvality používání ATB,
- realizace opatření vedoucí k prevenci a kontrole infekcí,
- vzdělávání a informování laické veřejnosti,
- vzdělávání a informování odborné veřejnosti,
- podpora vědy a výzkumu,
- koordinace mezinárodní spolupráce ČR.

Organizační struktura NAP zahrnuje centrální koordinační skupinu NAP, regionální koordinační skupiny, antibiotická střediska, národní referenční laboratoře pro ATB, subkomise pro antibiotickou politiku ČLS JEP. (34)

Dodržování doporučených postupů pro primární péči pomáhá zlepšovat situaci v šíření rezistence. Neuvážené předepisování vedlo ke vzniku rezistentních bakteriálních druhů, jedním z nich je i MRSA. Převážná část těchto kmenů se šíří v nemocničních zařízeních a způsobuje nozokomiální nákazy. Nemocniční prostředí umožňuje šíření infekce, navíc dochází k výskytu asymptomatických nosičů, kteří infekci šíří dále do komunity. Výskyt komunitních kmenů MRSA je v poslední době

vážným problémem. Správně odebranou anamnézou a provedením genetických vyšetření kmenů STAU lze rozlišit kmeny komunitní a nemocniční. K eliminaci výskytu infekce MRSA je nutno vycházet z kombinace 4 hlavních pilířů:

- včasná identifikace nově přijatých infikovaných nebo kolonizovaných pacientů,
- izolace v bariérovém režimu,
- znemožnění přenosu infekce uvnitř nemocničního zařízení, dodržení přísných hygienických opatření – hlavně dezinfekce rukou a používání rukavic,
- dekontaminace prostředí a zdravotnického materiálu. (33)

4 Experimentální část

4.1 Materiál a metodika

Výsledky práce vycházejí z retrospektivní analýzy dat z elektronické databáze laboratorního informačního systému Mikrobiologického oddělení Nemocnice České Budějovice (NemČB) a Ústavu klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice Hradec Králové (FNHK). Do studie byla zařazena data všech pacientů hospitalizovaných v obou nemocnicích, dále klinických ambulancí obvodních lékařů patřících do spádové oblasti, u kterých byl izolován methicillin-rezistentní *Staphylococcus aureus* z klinického materiálu z období od 1. 1. 2015 do 31. 12. 2015.

4.1.1 Zpracování klinického materiálu

Klinický materiál byl v laboratořích zpracován dle standardních laboratorních postupů (SOP) obou mikrobiologických oddělení. Základní schéma ukazuje Tabulka 2 na str. 45. Do MRSA screeningu byli zařazeni rizikovní pacienti (pozitivita MRSA v anamnéze, před kardio- a neurochirurgickou operací, pobyt s pozitivními pacienty aj.). Stěr se provádí z krku, nosu, axil, třísel, v NemČB i čelo.

4.1.2 Kultivace vzorků

Vzorky se kultivují 18 – 24 hod., některé se nechávají déle, při teplotě $36\pm 1^\circ\text{C}$. Dle požadavků na atmosféru se mohou kultivovat mikroaerofilně (za zvýšené koncentrace CO_2) či anaerobně ve speciálních sáčcích nebo anaerobním boxu.

4.1.3 Identifikace methicillin-rezistentního *Staphylococcus aureus*

Kmeny MRSA byly na obou pracovištích identifikovány pomocí typického růstu na KA se zónou alfa nebo betahemolýzy, charakteristickým růstem a zabarvením na selektivních půdách pro MRSA screening (NemČB používány MRSA Select od firmy BIO-RAD, ve FNHK používány ChromID MRSA od firmy bioMérieux). Podezřelé kmeny byly dále identifikovány na přístroji VITEK MS od firmy bioMérieux v NemČB nebo ve FNHK na přístroji od firmy Bruker Daltonics. Oba přístroje pracují na principu hmotnostní spektrometrie využívající měkkou ionizační techniku MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization) spojenou s pulzním hmotnostním analyzátozem doby letu (Time Of Flight – TOF).

Tabulka 2 Zpracování klinického materiálu

Materiál	Odběrová souprava	Zpracování
Horní cesty dýchací (HCD)	tampon v transportní půdě (špejle, tyčinka, drát)	CBD (+STAU čára, GEN); EA/MacConkey půda
Dolní cesty dýchací (DCD)	širší zkumavka se šroubovacím uzávěrem, tampon na drátě	CBD, CHOC, SAB, MacConkey agar, CNA, PO, preparát
Urogenitál	vatový tampon	CBD, CHOC, CNA, SAB, PO, preparát
Moč	širší zkumavka se šroubovacím uzávěrem, zkumavka	preparát, CBD, EA, automat, chromogenní půdy
Likvor	zkumavka	CBD, CHOC, EA, PO, preparát, anaerob. půda
Rectum, stolice	vatový tampon v transportní půdě, odběrová zkumavka s lopatičkou	EA, SS, CAJE, SP
Rána, defekt, dekubit	otisk na skle, vatový tampon s transportní půdou	CBD (+GEN), EA/MacConkey, PO, preparát
Punktát, hnis	zkumavka	CBD (+ GEN), EA/MacConkey, CHOC, anaerobní půda PO, preparát
Cévní katétr	koncová část katétru ve zkumavce	Makiho metoda (poválet CBD, PO)
Krev	lahvičky pro automatickou kultivaci	CBD, EA, anaerobní půda, bujon s NaCl, preparát
MRSA screening	vatový tampon	CBD, chromogenní půda

CAJE – selektivní půda pro *Campylobacter jejuni*, **CBD** – Columbia agar s příměsí 5 % ovčí krve, **CNA** – krevní agar obohacený o kyselinu nalidixovou, **EA** – Endova půda, **GEN** – gentamicin, **CHOC** – čokoládový agar, **PO** – pomnožovací půda, **SAB** – Sabouraudův agar, **SP** – selenitová půda, **SS** – Salmonella, Shigella agar

4.1.4 Testování citlivosti na antibiotika

U identifikovaných vzorků *Staphylococcus aureus* je následně testována citlivost k ATB. Na obou pracovištích byla prováděna kvalitativní disková difúzní citlivost s použitím Mueller – Hinton agaru za použití metodiky EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). (35)

Jako MRSA byl označen kmen *Staphylococcus aureus*, který je rezistentní k vyhledávacímu ATB cefoxitinu, který odhalí případnou rezistenci a průkaz MRSA .

K potvrzení MRSA je kmen nanesen i na chromogenní MRSA Select agar (firmy BIO-RAD NemČB, bioMérieux FNHK). Pokud lékař odečte menší inhibiční zónu oxacilinu, resp. cefoxitinu, a nalezne nárůst růžových kolonií na chromogenní půdě, považuje se tento kmen za MRSA.

U vybraných kmenů MRSA byla stanovena kvantitativní citlivost k antibiotikům MIC pomocí přístroje VITEK 2 od firmy bioMérieux, který využívá speciálních čipových karet. Jedná se o zkrácenou verzi dvojitého ředění pro MIC stanovené mikrodiluční metodou. Hodnoty MIC se porovnávají s hodnotami udávanými EUCAST (35).

4.1.5 Výběr dat

Do celkového počtu výskytu MRSA byly zařazeny biologické materiály, které ve sledovaném období došly do laboratoří obou nemocnic. Byly vyloučeny duplicitní materiály a kontrolní stěry ploch a pracovišť. Při analýze výskytu typů materiálu na jednotlivých odděleních byly vyloučeny vzorky od praktických lékařů.

Pro analýzu izolátů MRSA dle pohlaví a věku byl zařazen pouze jeden izolát od daného pacienta. Sledování rezistence na vybraná antibiotika za rok 2015 byla v NemČB porovnána s rezistencí v letech 2012-2014 (interní data nemocnice). Data z FNHK za rok 2015 byla porovnána s výsledky diplomové práce Lenky Bašné za roky 2010-2012 (36).

4.1.6 Statistické zpracování

Zpracování dat proběhlo v počítačovém programu MS Excel. Data z obou nemocnic obsahovala identifikační údaje pacienta, rok narození, oddělení nemocnice, typ materiálu, datum odběru a výsledky testování citlivosti na vybraná antibiotika. Materiál byl rozřazen do několika skupin, členění ukazuje Tabulka 3 na str. 47. Členění na jednotlivá oddělení se ve sledovaných nemocnicích liší, viz Tabulka 4 str. 49 a 5 str. 50. Dále bylo sledováno kolik vzorků se vyskytovalo na JIP, rozložení jednotek intenzivní péče ukazuje Tabulka 6 str. 51. Blíže byl sledován vzorek tzv. klinicky významného materiálu. Jedná se o materiál z míst, která jsou přirozeně sterilní (hemokultivace, bronchoalveolární laváž, výplach z bronchů, pleurální výpotek, hnis a

jiný tekutý materiál, cévní katétry). Výskyt MRSA byl rozdělen i dle rizikosti oddělení (32):

- **riziková skupina 1 – vysoké riziko:** intenzivní péče, popáleninová a transplantační oddělení, kardiovaskulární chirurgie, neurochirurgie, ortopedie, traumatologie;
- **riziková skupina 2 – střední riziko:** všeobecná chirurgie, urologie, neonatologie, gynekologie a porodnictví, dermatologie, ORL;
- **riziková skupina 3 – nízké riziko:** standardní lůžková péče interních oborů, neurologie, pediatrie;
- **riziková skupina 4 – specifické riziko,** minimální: psychiatrie, léčebny pro dlouhodobě nemocné.

Tabulka 3 Zařazení materiálu do tělního systému

Tělní systém	Typ vyšetření
Krevní oběh	aerobní hemokultivace
	anaerobní hemokultivace
Horní cesty dýchací	výtěr z nosu
	výtěr z krku
	výtěr z nosohltanu
Dolní cesty dýchací	bronchoalveolární laváž
	sputum
	výplach z bronchů
	stěr po tracheostomii
	tracheální aspirát/ výtěr
	výtěr z laryngu
	pleurální výpotek
GIT	stěr z jazyku, dutiny ústní
	výtěr z recta
	stěr po ileostomii
	žluč
	žaludeční laváž
Kůže	stěr z kůže
	stěr z axily/třísla/perinea/čela
	stěr z kožní léze
	stěr k hemokultuře

Tělní systém	Typ vyšetření
	stěr z pupku
Rány a defekty	stěr z dekubitu, stěr z bércevého vředu
	stěr z hnisavého ložiska
	stěr z rány, defektu
	stěr z píštěle, abscesu
	tkáň
	hnis a tekutý materiál (punktát, laváž)
Pohlavní ústrojí	výtěr z uretry
	výtěr z pochvy
	výtěr ze žaludu
	ejakulát
Ucho	stěr z bubínkové dutiny
	výtěr z ucha
	výtěr ze zvukovodu
Oko	výtěr oka
	stěr ze spojivky
Cizí materiál	arteriální a žilní katétr
	močový katétr
	dialyzační kanyla
	savka, stěr ze savky
	jiné
CNS	likvor
Močový systém	moč cévkovaná
	moč z permanentní cévky
	moč z nefrostomie
	moč klasicky vymočená

Tabulka 4 Členění oddělení ve FNHK

Obory	Klinika
Nechirurgické obory	I. interní klinika II. interní klinika Klinika infekčních nemocí Plicní klinika Neurologická klinika Psychiatrická klinika Dětská klinika Klinika anestezi., resusc. a intenzivní medicíny Klinika nemocí kožních a pohlavních Klinika onkologie a radioterapie Klinika gerontometabolická a metabolická II. interní klinika - oddělení klinické hematologie Rehabilitační klinika
Chirurgické obory	Kardiochirurgická klinika Chirurgická klinika Oddělení dětské chirurgie a traumatologie Neurochirurgická klinika Ortopedická klinika Urologická klinika Klinika ušní, nosní a krční Oční klinika Porodnická a gynekologická klinika

Tabulka 5 Členění oddělení v NemČB

Obory	Klinika
Nechirurgické obory	Anesteziologicko-resuscitační oddělení Dětské oddělení Gastroenterologické oddělení Infekční oddělení Interní oddělení Kardiologické oddělení Kožní oddělení 1., 2. oddělení následné péče Neurologické oddělení Neonatologické oddělení Onkologické oddělení Plicní oddělení Psychiatrické oddělení Rehabilitační oddělení
Chirurgické obory	Gynekologické oddělení Chirurgické oddělení Kardiochirurgické oddělení Neurochirurgické oddělení Oční oddělení Oddělení úrazové a plastické chirurgie ORL (ušní, nosní, krční) Ortopedické oddělení Urologické oddělení

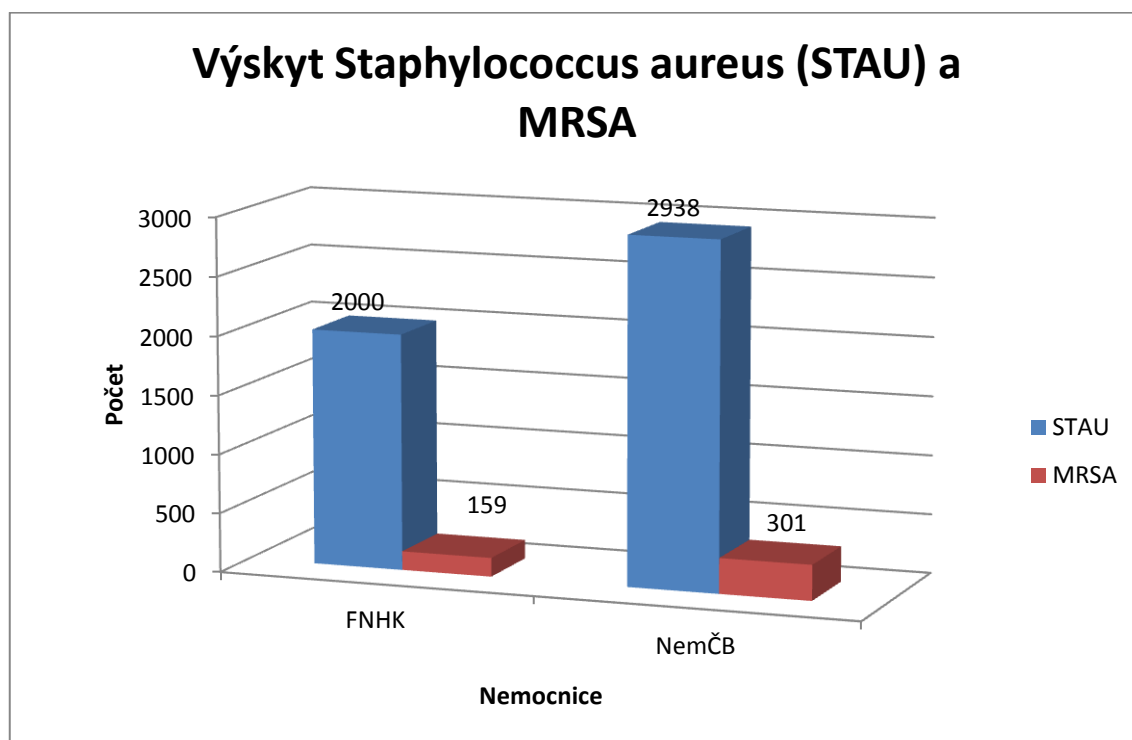
Tabulka 6 Rozmístění jednotek intenzivní péče ve sledovaných nemocnicích

Klinika FNHK	Oddělení NemČB
Dětská klinika	Gynekologicko-porodnické oddělení
Chirurgická klinika	Neurochirurgické oddělení
I. interní klinika	Kardiochirurgické oddělení
II. klinika - odd. klinické hematologie	Neurologické oddělení
Kardiochirurgická klinika	Neonatologické oddělení
Kl. anestezi., resusc. a intenzivní medicíny	Infekční oddělení
Kl. gerontometabolická a metabolická	Interní oddělení
Klinika infekčních nemocí	Chirurgické oddělení
Neurochirurgická klinika	Onkologické oddělení
Neurologická klinika	Gastroenterologické oddělení
Oddělení dětské chirurgie a traumatologie	Oddělení úrazové chirurgie
Ortopedická klinika	Ortopedické oddělení
Plicní klinika	Dětské oddělení
Porodnická a gynekologická klinika	Anesteziologicko- resuscitační oddělení
Urologická klinika	Urologické oddělení
	Plicní oddělení

5 Výsledky

Během roku 2015 došlo k záchytu 3239 kmenů *Staphylococcus aureus* v Nemocnici České Budějovice, a.s. (NemČB), z toho 301 izolátů bylo methicillin-rezistentních (9,2 %). Ve Fakultní nemocnici Hradec Králové (FNHK) bylo izolováno 2159 kmenů STAU, z toho 159 izolátů MRSA (7,4 %), viz Graf 1.

Graf 1 Výskyt *Staphylococcus aureus* (STAU) a MRSA v NemČB a ve FNHK v roce 2015



Za sledované období (1. 1. 2015 – 31. 12. 2015) bylo v NemČB zachyceno 957 izolátů MRSA od 301 pacientů. Pacient měl 1 – 26 pozitivních vzorků. Ve FNHK bylo celkem izolováno 515 izolátů MRSA od 159 pacientů, kteří mohli mít 1 – 20 pozitivních nálezů.

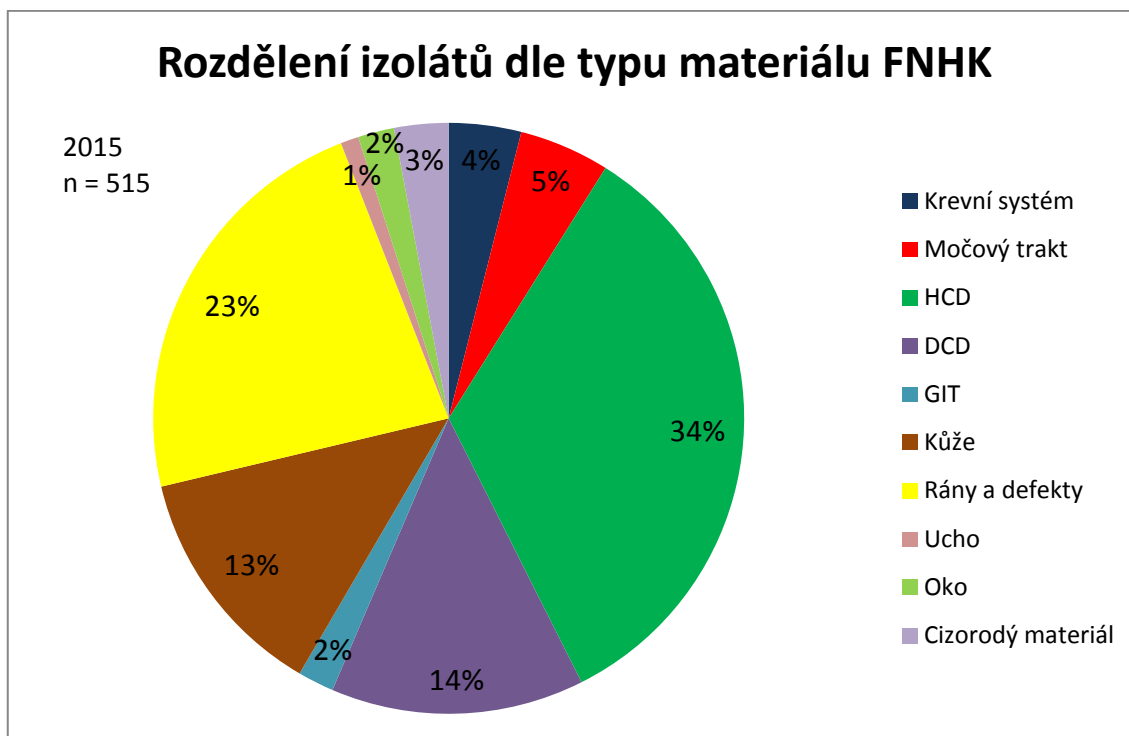
5.1 Rozdělení izolátů dle typu materiálu

Izoláty byly rozděleny do jednotlivých kategorií tělních systémů dle typu vyšetřovaného materiálu (Tabulka 7, Graf 2, Graf 3, Graf 4 str. 53, 54). Nejpočetnější systémy byly podrobněji rozděleny na konkrétní typ materiálu (Tabulka 8 str. 55).

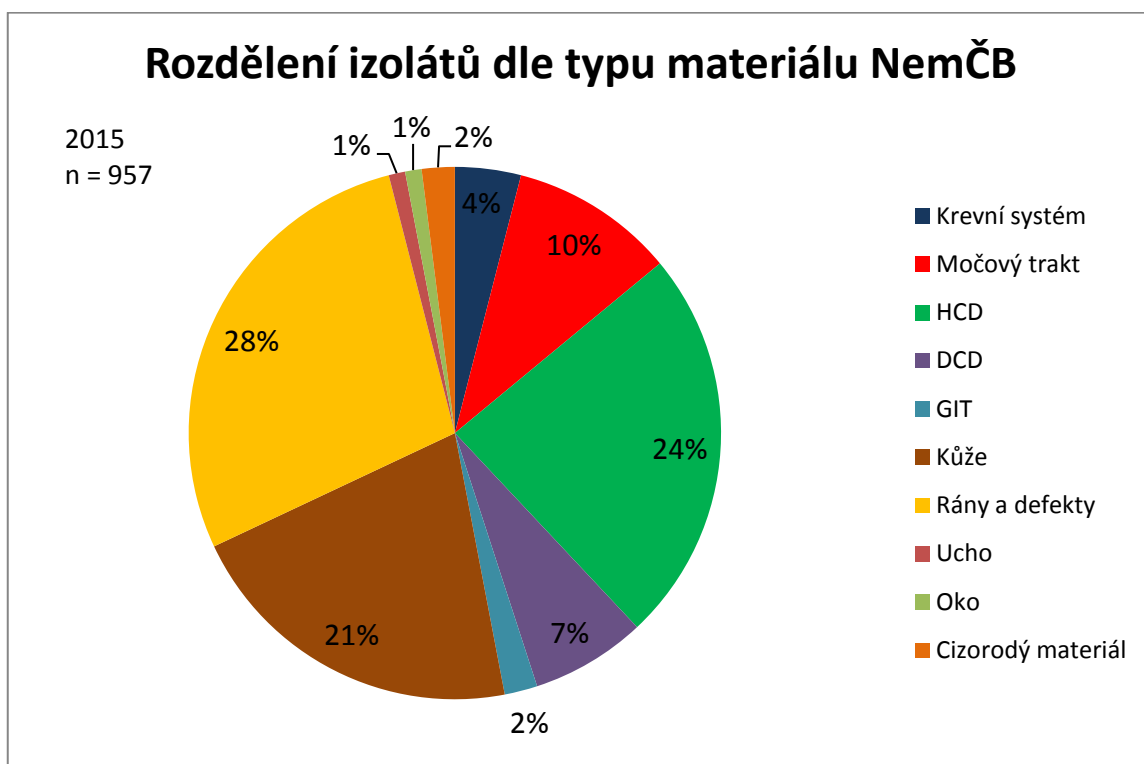
Tabulka 7 Rozdělení izolátů dle tělního systému

Tělní systém	FNHK		NemČB	
	Absolutní	Relativní [%]	Absolutní	Relativní [%]
Krevní systém	20	4	34	4
Močový trakt	26	5	97	10
HCD	177	34	228	24
DCD	71	14	68	7
GIT	8	2	21	2
Kůže	69	13	198	21
Rány a defekty	117	23	270	28
Ucho	3	1	5	1
Oko	9	2	11	1
Urogenitální ústrojí	2	0	3	0
Cizorodý materiál	13	3	21	2
Likvor	0	0	1	0
celkem	515	100	957	100

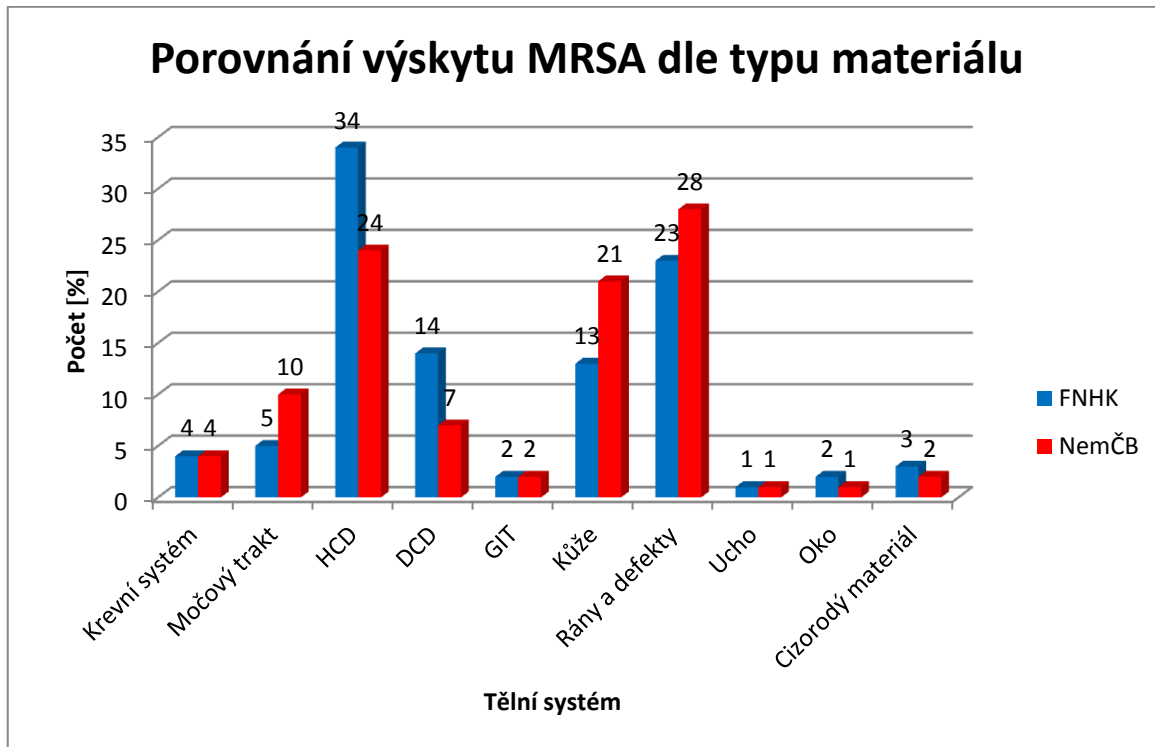
Graf 2 Rozdělení izolátů dle typu materiálu ve FNHK



Graf 3 Rozdělení izolátů dle typu materiálu v NemČB



Graf 4 Porovnání rozdělení izolátů dle tělního systému

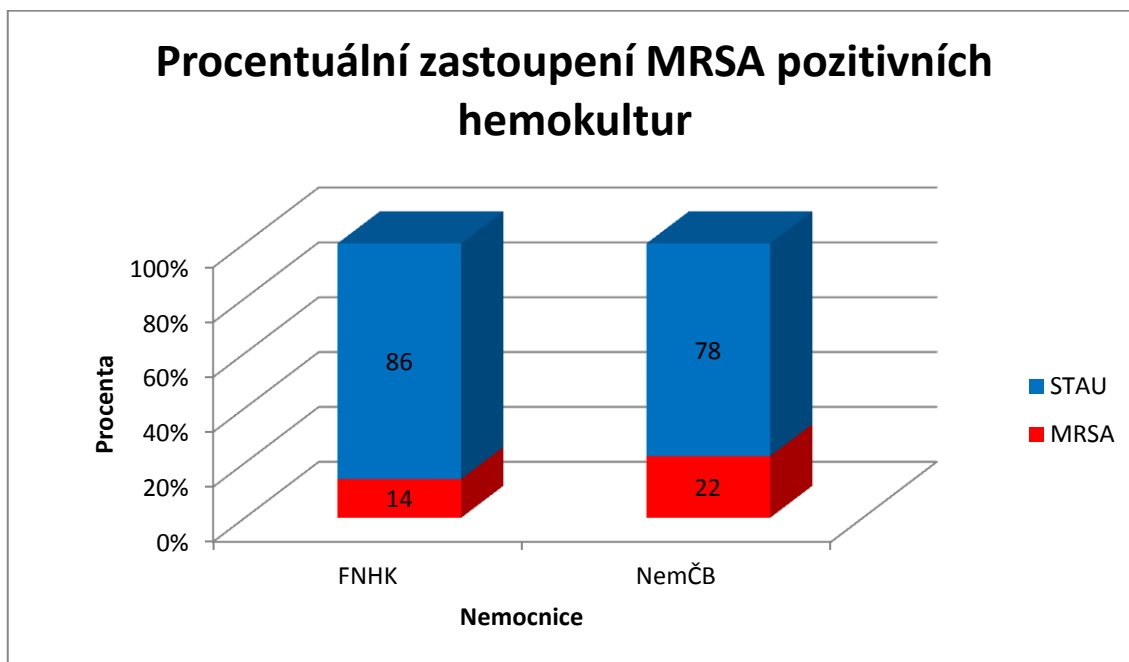


Tabulka 8 Početní zastoupení nejčastějších izolátů

Materiál	FNHK		NemČB	
	Absolutní	Relativní [%]	Absolutní	Relativní [%]
Horní cesty dýchací	177	100	228	100
výtěr z krku	65	37	81	36
výtěr z nosu	86	49	147	64
výtěr z nasopharyngu	26	15	0	0
Rány a defekty	117	100	270	100
tekutý materiál	11	9	38	14
stěr z dekubitu	5	4	22	8
stěr z bércevého vředu	7	6	13	5
stěr z hnisavého ložiska	9	8	7	3
stěr z píštěle, abscesu	10	9	12	4
stěr z rány	62	53	56	21
stěr z defektu tkáň	6	5	114	42
	7	6	8	3
Kůže	69	100	198	100
stěr z kůže	18	26	51	26
stěr z třísla	6	9	77	39
stěr z axily	7	10	36	18
stěr z perinea	26	38	2	1
stěr z čela	0	0	32	16
stěr k hemokultuře	12	17	0	0

MRSA pozitivní hemokultury + kultivace cévního katétru představovaly ve FNHK 26 izolátů (14 %) z celkových 184 izolátů krevního systému. V NemČB 47 izolátů (22 %) z 209 hemokultur bylo MRSA pozitivní (Graf 5 str. 56).

Graf 5 Zastoupení MRSA pozitivních hemokultur z celkového počtu STAU hemokultur



5.2 Zastoupení materiálu na jednotlivých odděleních nemocnic

Ze souboru byly vyloučeny izoláty pocházející od praktických lékařů. Ve FNHK soubor obsahoval 493 izolátů, v NemČB 882 izolátů (Tabulka 9 a 10 str. 57). Ve FNHK byl největší záchyt na Klinice gerontologické a metabolické (159 izolátů), v NemČB převažoval nález na dvou odděleních – na Interním oddělení (236 izolátů) a Oddělení následné péče (221 izolátů), výsledky zobrazují Grafy 6 a 8 str. 58, 59. Nález na jednotkách intenzivní péče, který představoval v NemČB 61 vzorků (7 %) a 170 vzorků (34 %) ve FNHK, byl rozdělen dle typu materiálu (Graf 7 a 9 str. 58, 59). Oddělení s největším záchytem byly dále podrobněji analyzovány z hlediska typu vyšetřovaného materiálu z daného tělního systému. Na Klinice gerontologické a metabolické převažoval nález z horních cest dýchacích (43 izolátů) a materiál z ran a defektů (34 izolátů), na Interním oddělení byl nejvíce zastoupen materiál z ran a defektů (93 izolátů), dále z kůže (51 izolátů). Materiál z kůže (62 izolátů) a z horních cest dýchacích (56 izolátů) převažoval na Oddělení následné péče (Graf 10, 11, 12 str. 60). Grafické znázornění rozdělení klinicky významného materiálu na jednotlivých klinikách zobrazuje Graf 13 a 14 str. 61, 62. Graf 15 na str. 63 rozděluje výskyt MRSA dle rizikosti oddělení. Členění rizikových skupin bylo popsáno výše v metodické části.

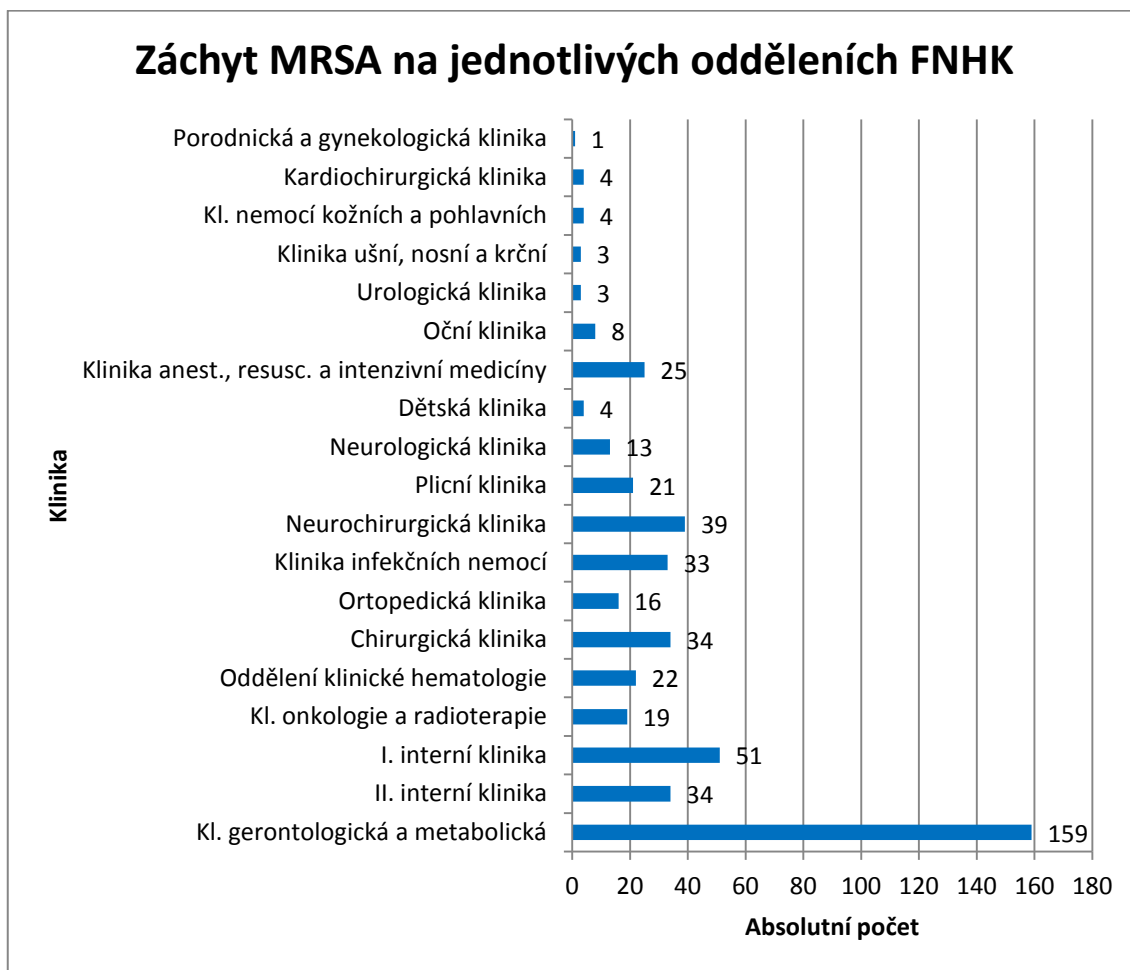
Tabulka 9 Rozdělení materiálu dle výskytu na jednotlivých klinikách ve FNHK

Oddělení	Absolutní	Relativní [%]
Kl. gerontologická a metabolická	159	32
II. interní klinika	34	7
I. interní klinika	51	10
Kl. onkologie a radioterapie	19	4
Oddělení klinické hematologie	22	4
Chirurgická klinika	34	7
Ortopedická klinika	16	3
Klinika infekčních nemocí	33	7
Neurochirurgická klinika	39	8
Plicní klinika	21	4
Neurologická klinika	13	3
Dětská klinika	4	1
Klinika anest., resusc. a intenzivní medicíny	25	5
Oční klinika	8	2
Urologická klinika	3	1
Klinika ušní, nosní a krční	3	1
Kl. nemocí kožních a pohlavních	4	1
Kardiochirurgická klinika	4	1
Porodnická a gynekologická klinika	1	0
celkem	493	100

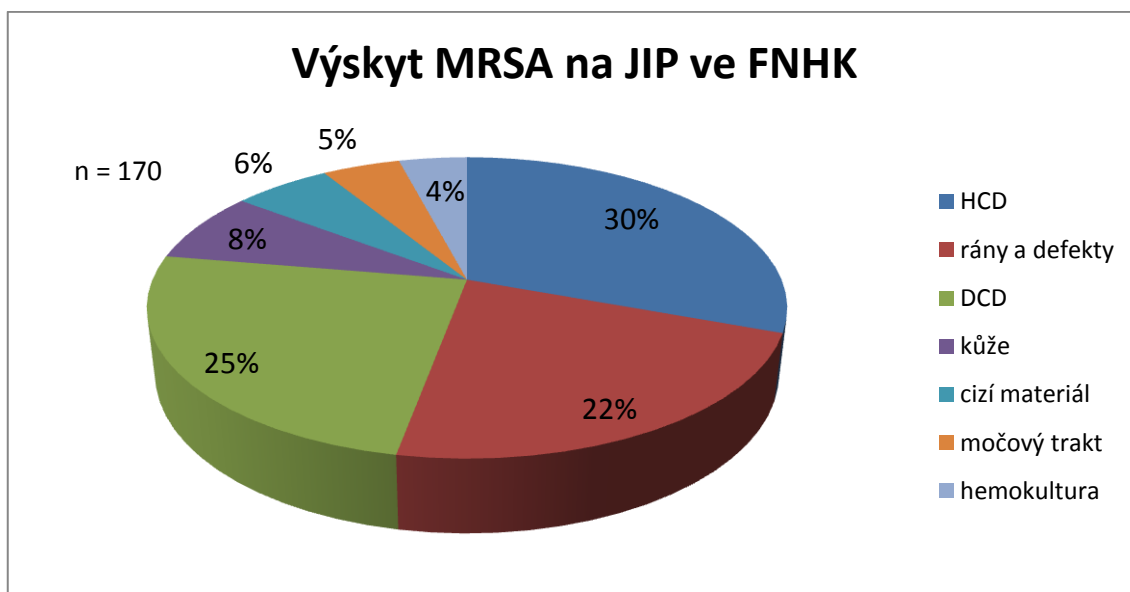
Tabulka 10 Rozdělení materiálu dle výskytu na jednotlivých odděleních v NemČB

Oddělení	Absolutní	Relativní [%]
Interní oddělení	236	27
Oddělení následné péče	221	25
Plicní oddělení	72	8
Infekční oddělení	54	6
Kožní oddělení	51	6
Anesteziologicko-resuscitační oddělení	50	6
Chirurgické oddělení	45	5
Oddělení úrazové a plastické chirurgie	42	5
Urologické oddělení	28	3
Neonatologické oddělení	21	2
Gastroenterologické oddělení	20	2
ORL	13	1
Kardiologické oddělení	10	1
Dětské oddělení	7	1
Neurologické oddělení	4	0
Kardiochirurgické oddělení	3	0
Neurochirurgické oddělení	2	0
Ortopedické oddělení	2	0
Rehabilitační oddělení	1	0
celkem	882	100

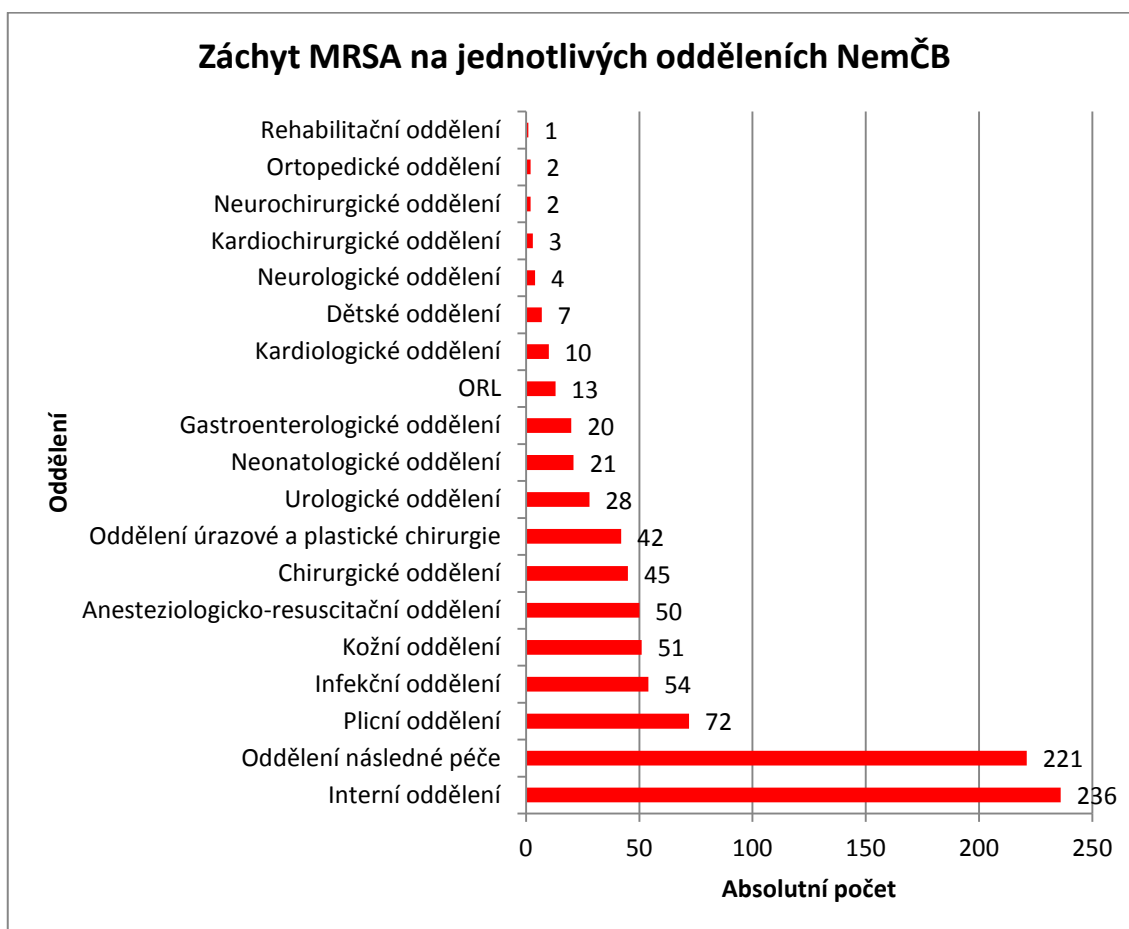
Graf 6 Absolutní počty izolátů na jednotlivých odděleních ve FNHK



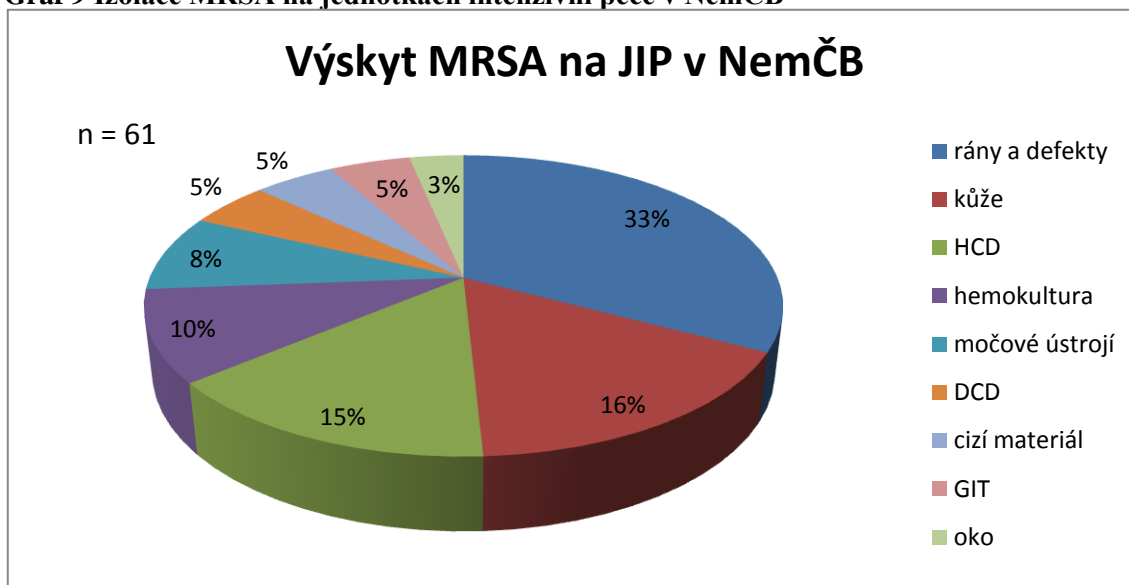
Graf 7 Izolace MRSA na jednotkách intenzivní péče ve FNHK



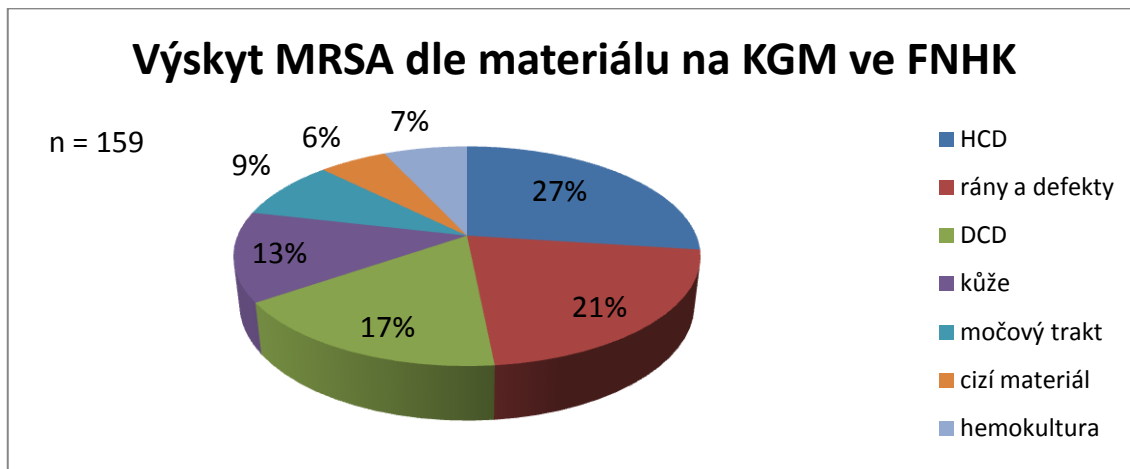
Graf 8 Absolutní počty izolátů na jednotlivých odděleních v NemČB



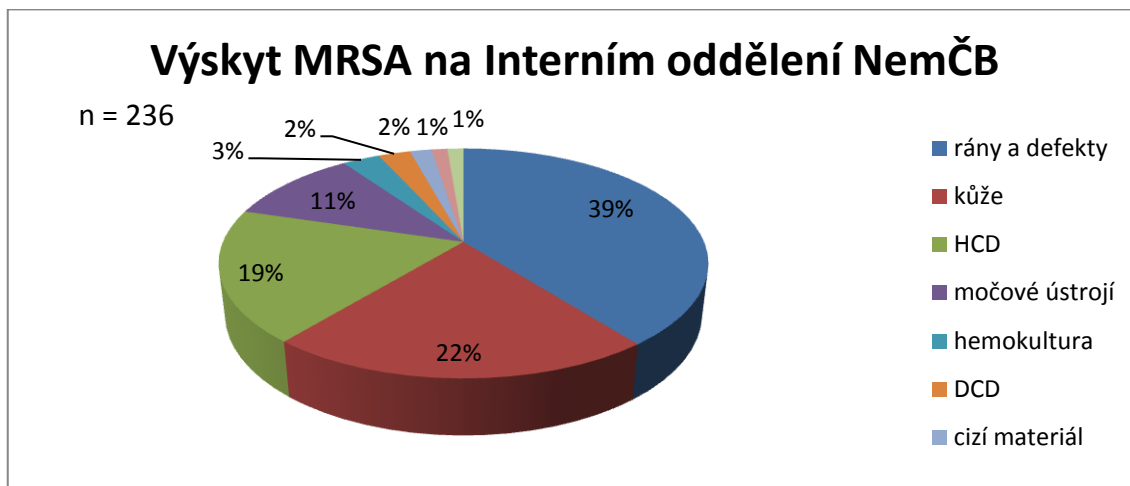
Graf 9 Izolace MRSA na jednotkách intenzivní péče v NemČB



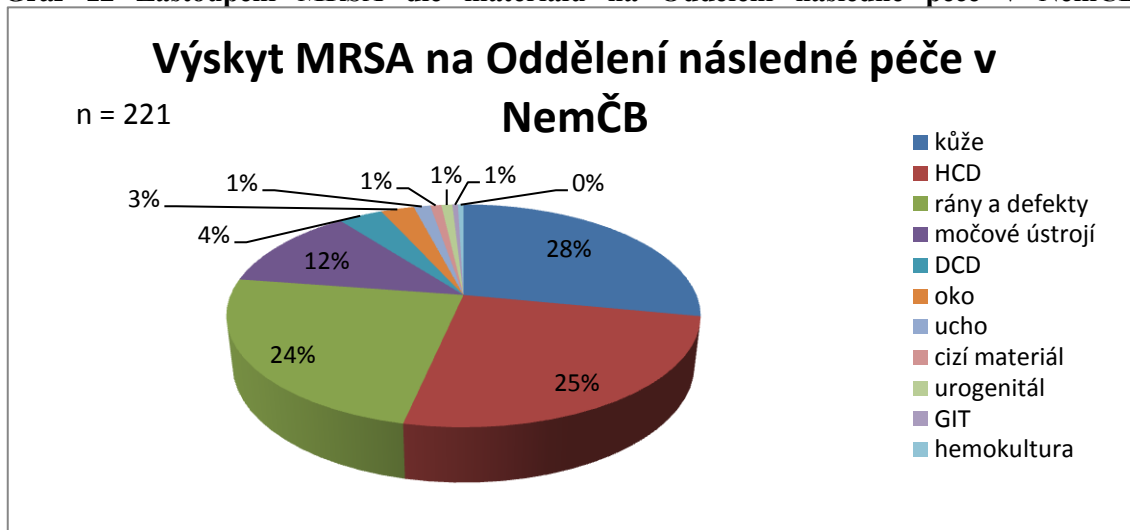
Graf 10 Zastoupení MRSA dle materiálu na Klinice gerontologické a metabolické ve FNHK



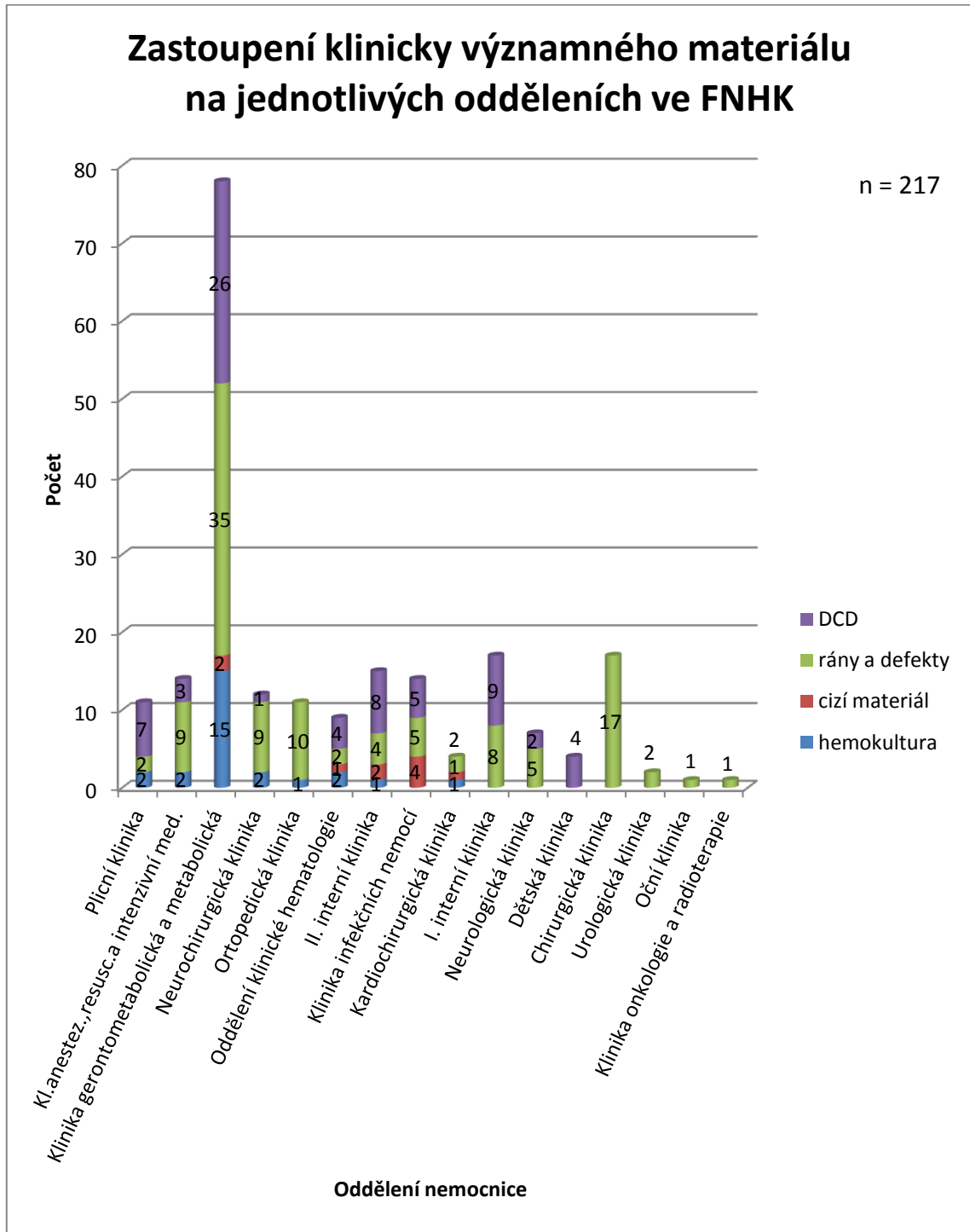
Graf 11 Zastoupení MRSA dle materiálu na Interním oddělení v NemČB



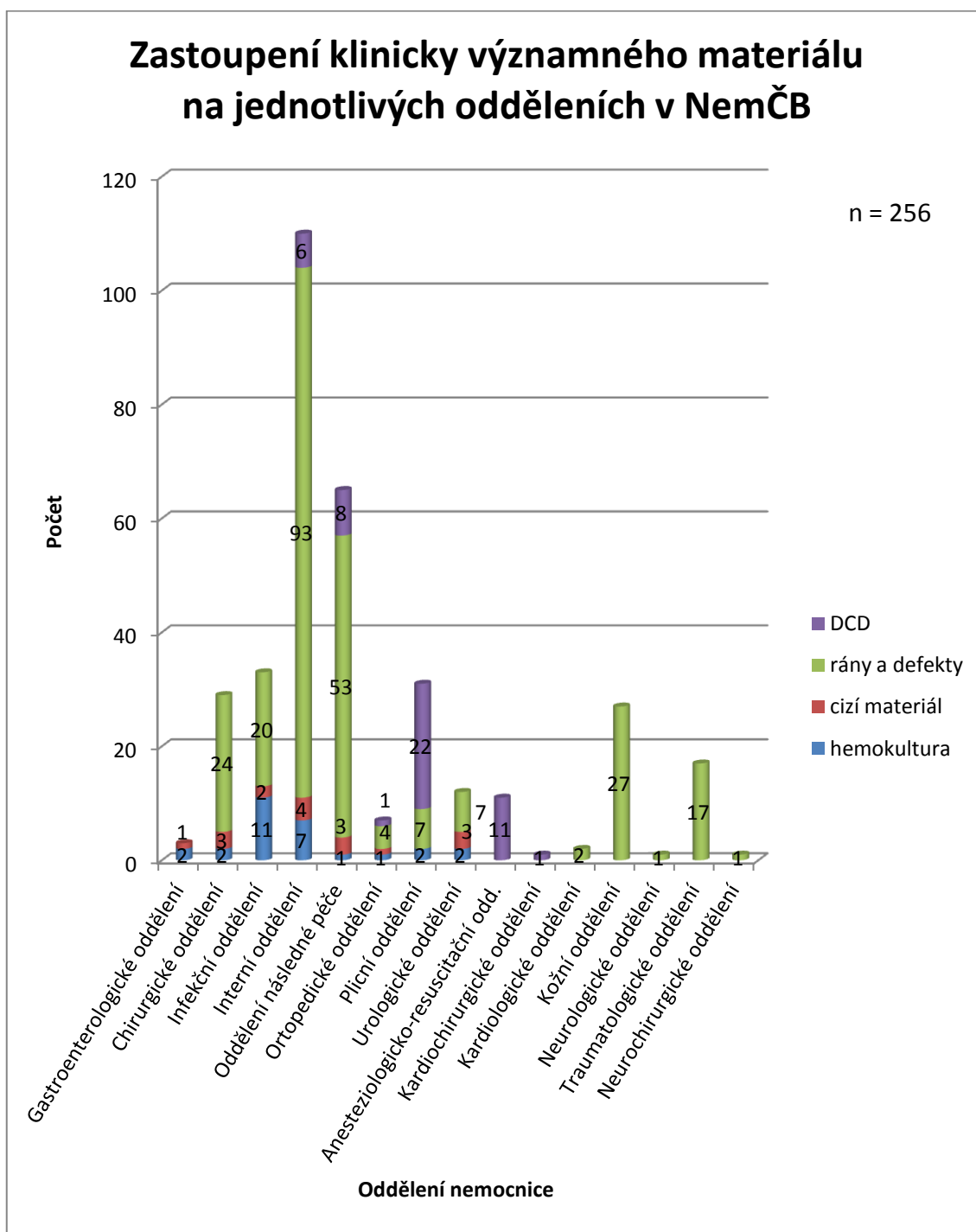
Graf 12 Zastoupení MRSA dle materiálu na Oddělení následné péče v NemČB



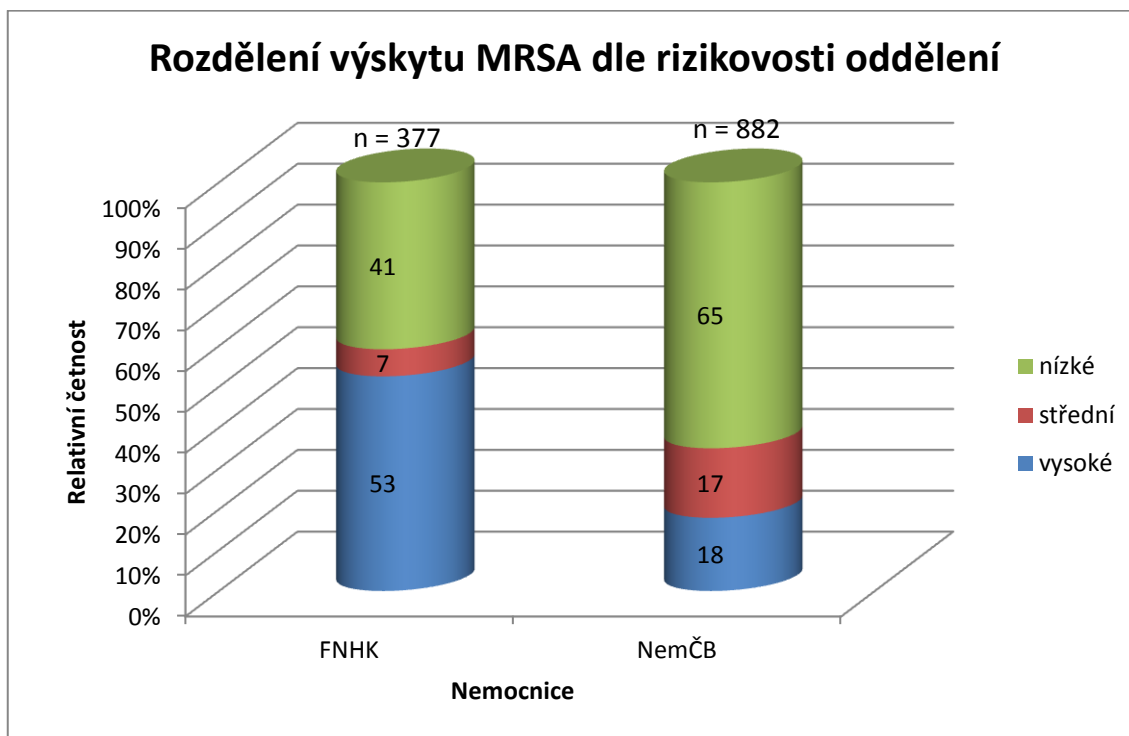
Graf 13 Zastoupení klinicky významného materiálu na klinikách FNHK



Graf 14 Zastoupení klinicky významného materiálu na odděleních NemČB



Graf 15 Rozdělení výskytu MRSA dle rizikovosti oddělení



5.3 Analýza MRSA pozitivních pacientů dle pohlaví a věku

Vzorky byly rozděleny do věkových skupin po desetiletých intervalech. Pozitivní nález MRSA byl ve vyšším procentu (73 %) zaznamenán od věku 60 a více ve FNHK, v NemČB byl větší záchyt již od 50 let a více (88 %), zobrazuje Tabulka 11 a 12 str. 64. Rozdělení izolátů dle pohlaví a věkové skupiny zobrazují Grafy 16, 17, 18 str. 64, 65.

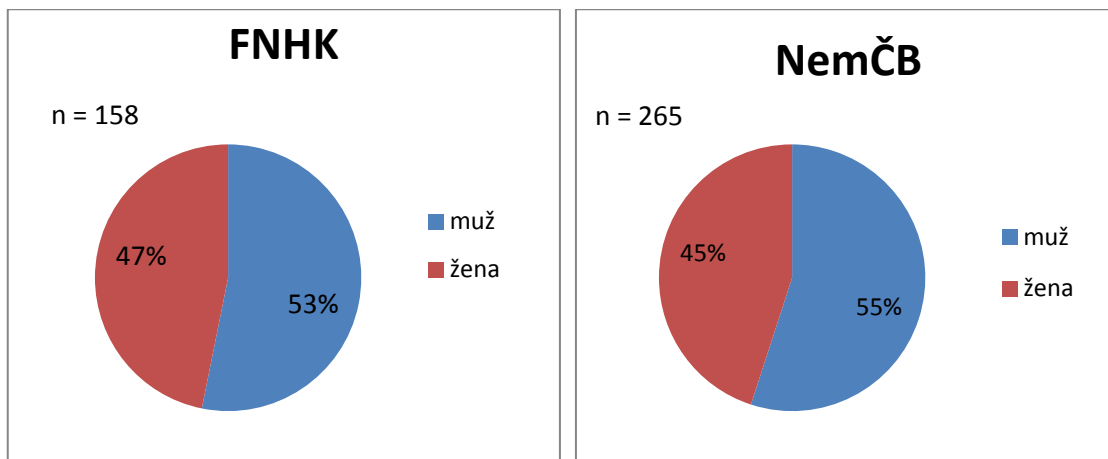
Tabulka 11 Výskyt MRSA dle věku ve FNHK

Věková kategorie	Muž		Žena		Celkem	
	absolutní	relativní [%]	absolutní	relativní [%]	absolutní	relativní [%]
0-10	2	2	3	4	5	3
11-20	3	4	1	1	4	3
21-30	2	2	5	7	7	4
31-40	3	4	3	4	6	4
41-50	4	5	4	5	8	5
51-60	9	11	5	7	14	9
61-70	21	25	13	18	34	22
71-80	19	23	19	26	38	24
81-90	13	15	15	20	28	18
91-100	8	10	6	8	14	9
celkem	84	100	74	100	158	100

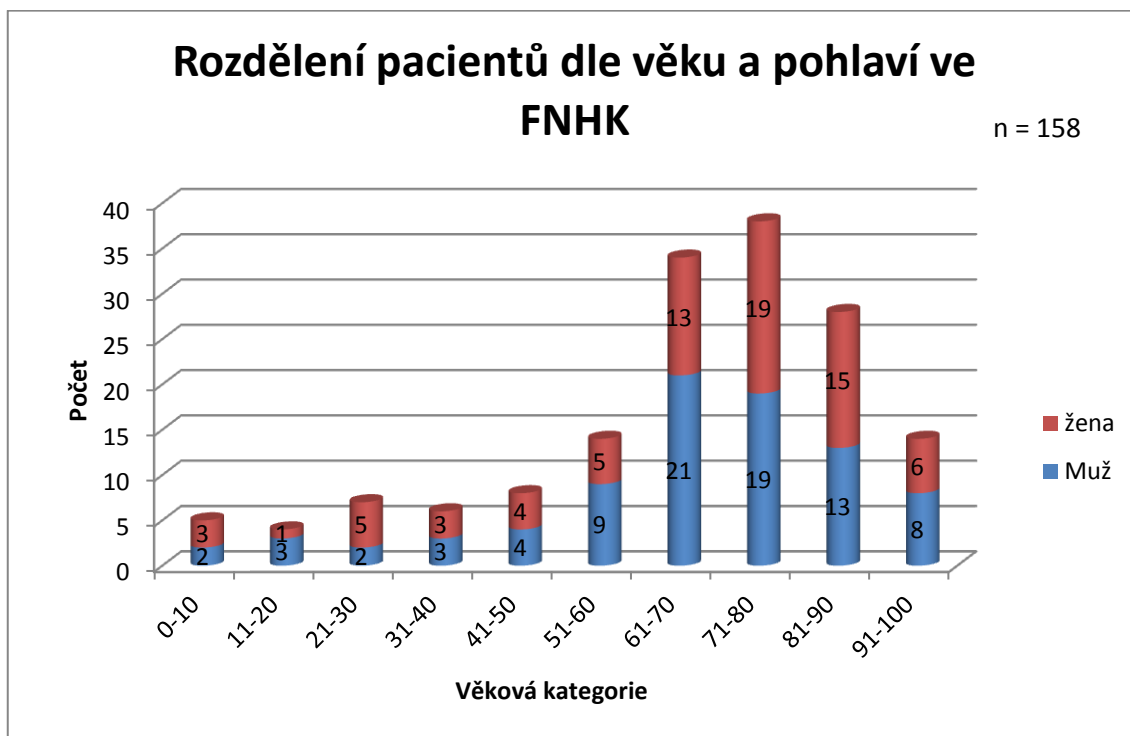
Tabulka 12 Výskyt MRSA dle věku v NemČB

Věková kategorie	Muž		Žena		Celkem	
	absolutní	relativní [%]	absolutní	relativní [%]	absolutní	relativní [%]
0-10	7	5	5	4	12	5
11-20	1	1	1	1	2	1
21-30	2	1	0	0	2	1
31-40	5	3	2	2	7	3
41-50	7	5	3	3	10	4
51-60	19	13	9	8	28	11
61-70	27	18	22	19	49	18
71-80	43	29	37	31	80	30
81-90	35	24	33	28	68	26
91-100	1	1	6	5	7	3
celkem	147	100	118	100	265	100

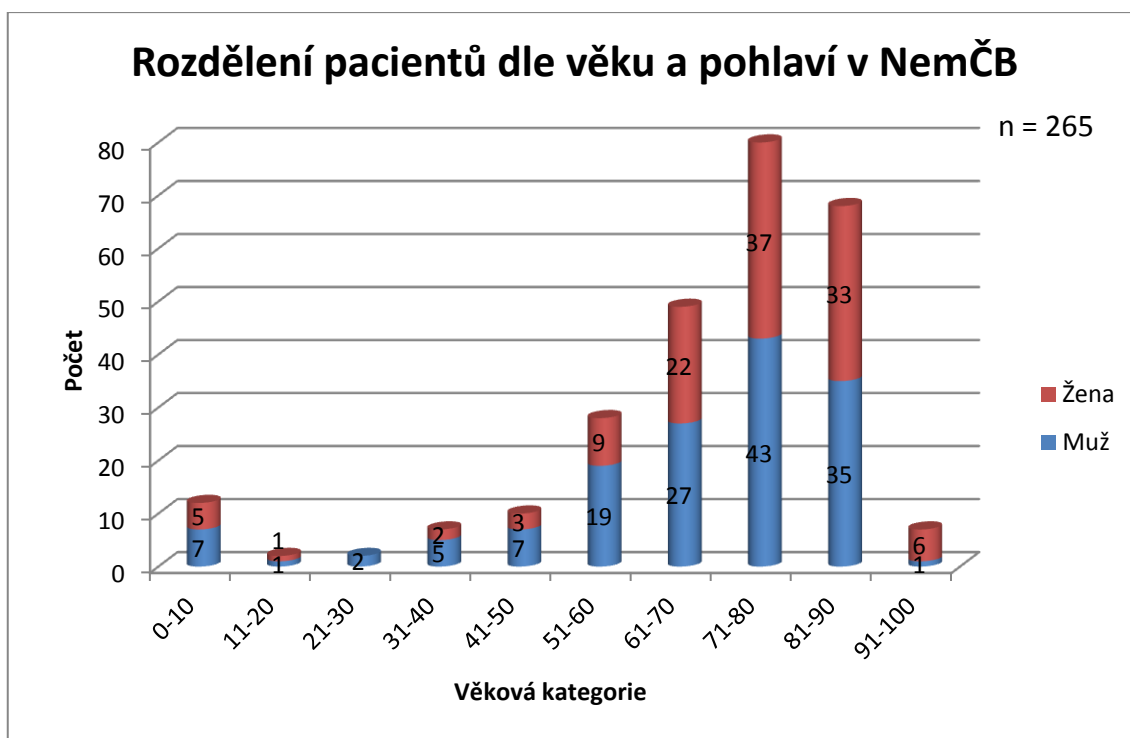
Graf 16 Rozdělení izolátů dle pohlaví



Graf 17 Rozdělení pacientů dle věku a pohlaví ve FNHK



Graf 18 Rozdělení pacientů dle věku a pohlaví v NemČB



5.4 Výskyt rezistence na antibiotika u MRSA kmenů

Analyzovaný soubor pro testování k ATB se skládal z prvního izolátu MRSA od každého pozitivního pacienta. Výsledky testování k ATB jsou zobrazeny v Tabulce 13 a 14 str. 67, které zobrazují citlivost eventuálně rezistenci. U většiny izolátů byla kromě rezistence k oxacilinu a cefoxitinu nalezena rezistence k dalším preparátům - ke klindamycinu (86 % FNHK a 91 % NemČB), ciprofloxacinu (91 % FNHK a 93 % NemČB), erytromycinu (93 % ve FNHK a 97 % v NemČB), gentamicinu (10 % ve FNHK a 18 % v NemČB), tetracyklinu (11 % ve FNHK a 3 % v NemČB), rifampicinu (0,7 % FNHK a 3 % v NemČB). V NemČB byla dále zaznamenána rezistence k trimetoprim-sulfonamidu (1 %) a jeden izolát vykazoval rezistenci k vankomycinu (0,4 %). Ve všech případech byl MRSA ve FNHK citlivý k vankomycinu, linezolidu, teikoplaninu a trimetoprim-sulfonamidu. V NemČB byla zachována citlivost ve všech případech k tigecyklinu, linezolidu.

K porovnání dat z FNHK posloužily výsledky diplomové práce Lenky Bašné za rok 2010 – 2012 (Graf 19 str. 68). Výsledky testování k ATB v NemČB byly porovnány s hodnotami za období 2012 – 2014 z ročních zpráv NemČB od MUDr. Magdaleny Horníkové (Graf 20 str. 68).

Zjišťování fenotypů antibiotické rezistence probíhalo pouze z izolátů, které byly testovány ke všem sledovaným antibiotikům. Každý fenotyp vykazoval rezistenci k oxacilinu, popřípadě k dalším antibiotikům. Ve FNHK bylo zjištěno celkem 15 fenotypů, nejčastěji byl zastoupen fenotyp rezistence k ciprofloxacinu – erytromycinu-klindamycinu (73 %), zobrazuje Tabulka 15 str. 69. V NemČB bylo nalezeno 18 fenotypů, také převažoval fenotyp ciprofloxacin – erytromycin – klindamycin (67 %), zobrazuje Tabulka 16 str. 69.

Tabulka 13 Citlivost kmenů MRSA k vybraným antibiotikům ve FNHK

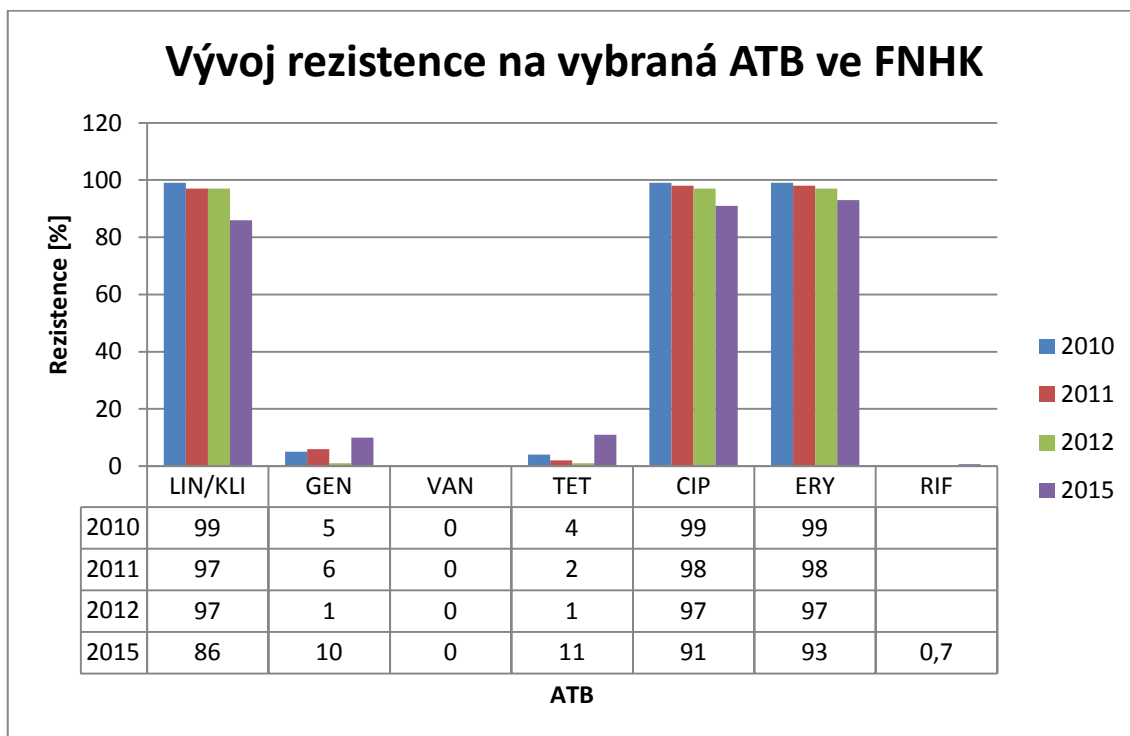
ATB	citlivé	rezistentní	celkem testováno	rezistence [%]
OXA	0	151	151	100
LIN/KLI	21	130	151	86
RIF	138	1	139	1
GEN	127	14	141	10
VAN	139	0	139	0
TET	127	15	142	11
CIP	13	126	139	91
LNZ	139	0	139	0
ERY	10	141	151	93
TEI	99	0	99	0
TRS	151	0	151	0

Tabulka 14 Citlivost kmenů MRSA k vybraným antibiotikům v NemČB

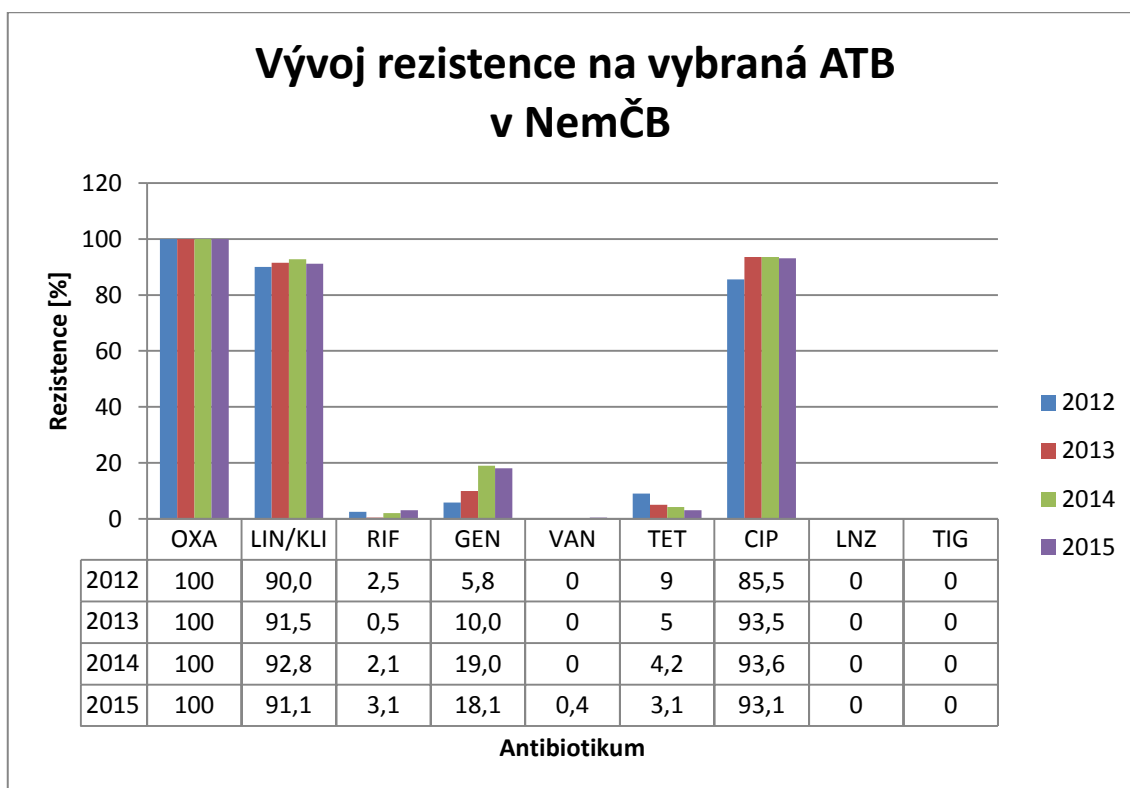
ATB	citlivé	rezistentní	celkem testováno	rezistence [%]
OXA	0	258	258	100
GEN	211	47	258	18
VAN	257	1	258	0,4
CIP	17	241	258	93
RIF	250	8	258	3
LIN/KLI	22	236	258	91
TET	250	8	258	3
ERY	9	249	258	97
LNZ	258	0	258	0
TIG	258	0	258	0
TRS	255	3	258	1

Legenda: **OXA**-oxacilin, **LIN/KLI**-linkomycin/klindamycin, **RIF**-rifampicin, **GEN**-gentamicin, **VAN**-vankomycin, **TET**-tetracyklin, **CIP**-ciprofloxacin, **LNZ**-linezolid, **ERY**-erytromycin, **TEI**-teikoplanin, **TRS**-trimetoprim+sulfonamid, **TIG**-tigecyklin

Graf 19 Vývoj rezistence MRSA ve FNHK (36)



Graf 20 Vývoj rezistence MRSA v NemČB



Tabulka 15 Fenotypy antibiotické rezistence ve FNHK 2015

Fenotyp	Počet	%
CIP ERY GEN KLI	5	4
CIP ERY GEN	2	2
CIP ERY KLI TET	4	3
CIP ERY KLI	96	73
CIP ERY GEN KLI RIF TET	1	1
ERY GEN KLI TET	1	1
OXA	3	2
CIP ERY	7	5
GEN TET	2	2
TET	1	1
CIP TET	2	2
ERY GEN TET	1	1
ERY KLI TET	3	2
CIP	1	1
ERY GEN KLI	2	2
celkem	131	100

Tabulka 16 Fenotypy antibiotické rezistence v NemČB 2015

Fenotyp	Počet	%
CIP	5	2
CIP ERY	7	3
CIP ERY GEN	2	1
CIP ERY GEN KLI	41	16
CIP ERY GEN KLI RIF	1	0
CIP ERY GEN KLI TET	1	0
CIP ERY GEN KLI TRS RIF		
TET	1	0
CIP ERY KLI	174	67
CIP ERY KLI RIF	3	1
CIP ERY KLI TET	3	1
CIP ERY KLI TRS RIF	2	1
CIP ERY KLI VAN	1	0
ERY	4	2
ERY GEN KLI	1	0
ERY KLI	7	3
ERY KLI RIF TET	1	0
OXA	2	1
TET	2	1
celkem	258	100

Tabulka 17 ukazuje porovnání doporučených postupů prevence MRSA ve sledovaných zdravotnických zařízeních. Postupy se liší tím, že v NemČB jsou preventivně screeningováni pacienti před některými chirurgickými výkony, odběry se provádí i z čela a suspektního ložiska a místo perinea se provádí stěr z třísel.

Tabulka 17 Porovnání doporučených postupů prevence MRSA

Postup	FNHK	NemČB
Vstupní screening MRSA všech pacientů	ne, pouze u rizikových pacientů (překlady z jiných nemocnic, dlouhodobé péče, MRSA pozitivita v minulosti)	ne, riziková pacientů (MRSA pozitivita v minulosti), pacienti přijímání k plánovanému chirurgickému výkonu (kardiochirurgie, neurochirurgie, ortopedie)
Předávání informací o MRSA pozitivitě pacienta ze spádových nemocnic	ano	ano
Doporučené odběry	nos, axila, perineum, chronické rány	čelo, krk, nos, axila, třísla, suspektní ložisko (stěr z dekubitu, okolo kanyly aj.)
Preventivní izolace MRSA pozitivních pacientů	ano	ano
Opakovaný screening MRSA pozitivních pacientů	do roku 2014: pacient pokud 1x MRSA pozitivita, navždy MRSA od roku 2015 snaha o opakované vyšetřování pacientů s MRSA pozitivitou s možností vyřazení z nutnosti izolace	vyšetřování do ukončení izolace, k ověření dekolonizace
Screening kontaktů	ano, izolace do vyloučení positivity	ano, izolace do vyloučení positivity
Kohortování MRSA pozitivních pacientů	ano	ano

6 Diskuze

6.1 Zhodnocení a porovnání výsledků v Nemocnici České Budějovice, a.s. a ve Fakultní nemocnici Hradec Králové za rok 2015

O rezistenci *Staphylococcus aureus* k methicillinu se hovoří již řadu let, i přesto zůstává poměrně závažným problémem. Některé země (Řecko, USA, Indie, Rumunsko, Portugalsko aj.) se svým neuváženým chováním v předepisování antibiotik dostávají do pomyslné doby před vynálezem antibiotik (20). Kromě MRSA je zde častý výskyt i jiných rezistentních bakterií a možnost volby účinného citlivého antibiotika je již velmi omezená. Česká republika se již po několik let řadí mezi země se středně vysokým výskytem rezistence (13 %). (21) V této práci je porovnán výskyt MRSA ve dvou českých nemocnicích za rok 2015.

V NemČB za rok 2015 bylo celkem zachyceno 3239 izolátů *Staphylococcus aureus*, z toho 301 pacientů byly MRSA pozitivní (9,2 %). Ve FNHK bylo izolováno 2159 kmenů STAU, z toho u 159 pacientů byl prokázán MRSA kmen (7,4 %). Výskyt MRSA spadá do celorepublikové prevalence, avšak liší se mezi sebou. Obě nemocnice v postupech surveillance postupují dle doporučených postupů vydávaných pro Českou republiku. Zásadně se neliší výběrem pacientů určených ke screeningu, zavádějí izolační opatření a obě mají antibiotické středisko monitorující vývoj rezistence. Dle výsledků výskytu typů fenotypů rezistence je zřejmé, že v NemČB je problém rezistence závažnější. Vyskytly se zde multirezistentní kmeny, rezistenci vykazují k antibiotikům, která ve FNHK zůstávají citlivá. Problém vzniku rezistence má zřejmě původ již v primární péči, kdy chybné předepisování antibiotik vedlo k selekci rezistentních kmenů. Z dat není zřejmé, jak jsou dodržovány základní hygienicko-epidemiologické postupy, ale postupovat dle těchto pokynů napomáhá k výraznému snížení šíření MRSA kmenů. Ve sledovaném období (1. 1. 2015 – 31. 12. 2015) došlo k záchytu 957 izolátů MRSA v NemČB, které pocházely od 301 pacientů, kdy pacient mohl mít 1-26 pozitivních nálezů. Ve FNHK bylo izolováno 515 izolátů MRSA od 159 pacientů s 1 – 20 pozitivními vzorky.

Ve FNHK byl největší záchyt MRSA izolátů v horních cestách dýchacích (34 %), i s dolními cestami celkem (48 %), v NemČB byl srovnatelný výskyt v dýchacích cestách (HCD+DCD 31 %) a v materiálu z ran a defektů (28 %). V obou nemocnicích byl největší záchyt z HCD ve výtěru z krku či nosu, což je logické, jelikož oba výtěry se provádějí při screeningu nových případů i při kontrolních výtěrech. Z dat nelze vyvodit, zda se jedná o kolonizaci, či probíhající infekci. V NemČB u infekcí ran převažoval materiál ze stěru z defektu. Coello a spol. (37) řadí rány, otevřené léze či dekubity mezi rizikové faktory, které vedou s vyšší pravděpodobností ke kolonizaci MRSA. Je třeba věnovat vyšší pozornost při ošetřování těchto pacientů a možnosti snížit kolonizaci rány, např. předoperační přípravou pacienta aplikací mupirocinu u nazálních nosičů. Záchyt v materiálu z ran a defektů odpovídá i tomu, že materiál byl nejvíce odebrán na Klinice gerontologické a metabolické ve FNHK a na Interním oddělení a Oddělení následné péče v NemČB. Na těchto odděleních jsou často hospitalizováni pacienti s bércovými vředy, diabetickými nohama či pacienti překládáni z chirurgických oddělení na zahojení chirurgických ran.

Ve FNHK byl největší záchyt MRSA na Klinice gerontologické a metabolické (32 %), dále na I. a II. interní klinice (17 %). V NemČB převažoval výskyt na Interním oddělení (27 %) a na Oddělení následné péče (25 %). Jedná se o oddělení, kde převažují pacienti s vyšší přítomností rizikových faktorů – vyšší věk, polymorbidita, předchozí hospitalizace, předchozí užívání ATB, oslabení organismu, provádění invazivních výkonů (katetrizace, intubace, operace) aj. Výskyt MRSA převažoval na odděleních s nižším rizikem, kam spadají i Klinika gerontologická a metabolická, Interní oddělení i Oddělení následné péče. Ve FNHK byl velký výskyt i na odděleních s vyšším rizikem, je to dáno především vyšším záchytem na jednotkách intenzivní péče (170 izolátů). Pobyt na JIP se považuje jako další rizikový faktor pro osídlení MRSA, jelikož zde dochází k prodloužené hospitalizaci a invazivním zákrokům.

Rizikovým faktorem pro vznik infekce MRSA je vyšší věk. Rozsáhlá studie prováděná v USA (38) uvádí nárůst HA-MRSA u pacientů středního věku, největší v kategorii 75 let a více. Ve FNHK byl zaznamenán největší vzestup ve věku 61 let a více (74 %), nejvíce v kategorii 71-80 let (24 %). V NemČB vzestup začal již od věku

51 let a více (88 %), s největším záchytem v kategorii 71-80 let (30 %). Od 80 let a více záchyt postupně ubývá, což je dáno střední délkou života, někteří pacienti mohou dříve zemřít na základní onemocnění, s kterým jsou hospitalizováni, než u nich infekce MRSA vznikne. Pacienti vyššího věku také často disponují ostatními rizikovými faktory (polymorbidita, častý pobyt v nemocnicích, předchozí časté užívání ATB). V nízkém a středním věku je záchyt nízký až ojedinělý. V NemČB byl překvapivý záchyt v kategorii 0-10 let (5 %), jednalo se o novorozence. V roce 2015 v NemČB probíhala stavba Neonatologického oddělení a rekonstrukce Gynekologického oddělení. Tato skutečnost pravděpodobně měla vliv na vznik infekce MRSA, jelikož v předchozích letech byl záchyt v této kategorii velmi sporadický. V obou lokalitách došlo k vyššímu záchytu infekce u mužů (FNHK 53 %, NemČB 55 %). Rozdíl není výrazný, ale i studie Moore a spol. (39) poukazuje na vyšší výskyt infekce mezi muži (54 %), a tím se zvyšující se riziko selhání léčby. Potvrzuje již dříve zmíněné rizikové faktory: vyšší věk, komorbidita, užívání ATB a komplikující stavy jako bakteriémie, osteomyelitida, pneumonie. Studie Adrie a spol. (40) dokonce popisuje vyšší riziko úmrtí pro muže po 50. roce života v případě sepsy.

V poslední fázi byla hodnocena citlivost mikrobů k vybraným antibiotikům. V obou nemocnicích je vysoká rezistence k erytromycinu (NemČB 97 %, FNHK 93 %), ciprofloxacinu (NemČB 93 %, FNHK 91 %), a klindamycinu (NemČB 91 %, FNHK 86 %). V NemČB se vyskytuje vyšší rezistence ke gentamicinu (18 %), nižší k rifampicinu (3 %), tetracyklinu (3 %). Ve třech případech byla zaznamenána rezistence k trimetoprim+sulfonamidu (1 %) a v jednom případě k vankomycinu (0,4 %). Ve FNHK je nižší rezistence ke gentamicinu (10 %), tetracyklinu (11 %). V NemČB byla zachována citlivost k tigecyklinu, linezolidu, vankomycinu. Ve FNHK byly kmeny citlivé k rifampicinu, vankomycinu, linezolidu, teikoplaninu, a trimetoprim+sulfonamidu. Ve FNHK lze od roku 2010 pozorovat rezistenci u většiny izolátů k ciprofloxacinu, erytromycinu (93-99 %), v NemČB rezistence k ciprofloxacinu za poslední čtyři roky narůstá (85-93 %), porovnání rezistence k erytromycinu nebylo k dispozici. Rezistenci ke klindamycinu se ve FNHK od roku 2010 podařilo snížit z 99 % na 86 %, v NemČB se pohybuje stále okolo 90-93 %. Studie Farooq a spol. (41)

popisuje rezistenci k ciprofloxacinu (97 %), erytromycinu (78 %) a klindamycinu (62 %). Limbago a spol. (42) popisují rezistenci ke klindamycinu (63 %), erytromycinu (94 %). V NemČB byl zaznamenán větší vzestup rezistence ke gentamicinu za poslední čtyři roky (6-19 %), rezistenci k tetracyklinu se daří snižovat z 9 % na 3 %, objevuje se i rezistence k rifampicinu (0,5-3 %). Ve FNHK je vidět též vzestupný trend rezistence ke gentamicinu (1-10 %), tetracyklinu (1-11 %), objevil se i jeden izolát rezistentní k rifampicinu. Limbago zaznamenal rezistenci ke gentamicinu (4 %), k tetracyklinu (6 %), k rifampicinu (2 %). Indická studie Farooq a spol. dále poukazuje na izolát, vykazující intermediární rezistenci k vankomycinu (VISA) a výskyt izolátů, které jsou citlivé pouze k vankomycinu a linezolidu. Indie se řadí mezi země s vysokou prevalencí MRSA, proto vznik rezistentních kmenů VISA či VRSA musí být sledován. Z hlediska cestování je poté snadný přenos těchto kmenů do dalších zemí. Ve FNHK byl nejčastěji nalezen fenotyp rezistence k ciprofloxacinu, erytromycinu a klindamycinu (73 %), v deseti případech byla zaznamenána multirezistence ke 4 druhům antibiotik, 1 izolát vykazoval rezistenci k 6 antibiotikům. V NemČB byl také nejčastější fenotyp rezistence CIP ERY KLI (67 %), častý byl i typ rezistence CIP ERY GEN KLI (16 %), což potvrzuje zvyšující rezistence ke gentamicinu v této nemocnici. Ke čtyřem a více antibiotikům byla zaznamenána rezistence u 54 izolátů (21 %). S měnící se citlivostí a vzestupnou rezistencí u některých antibiotik je nutné situaci stále sledovat.

Podporované vzdělávání lékařů, informování laické veřejnosti o správné preskripci ATB a včasný záchyt infekce rezistentními kmeny umožní zachovat podíl rezistentních kmenů na nízkém procentu. Pravidelné hodnocení situace v ČR i ve světě umožní případnou změnu postupů. Je třeba apelovat i na jiné země, především těch s vysokým procentem výskytu rezistentních kmenů, jelikož v rámci cestování a migrace dochází k transportu i multirezistentních kmenů, které se zatím v dané zemi nemusely vyskytovat. S postupným nárůstem kmenů rezistentních na rezervní antibiotika zůstává poptávka po nových ATB s odlišným mechanismem účinku. I přes velkou hrozbu však tato oblast není dostatečně podporována. V poslední době se zaměřuje výzkum i na způsoby rychlejší detekce MRSA či jiných rezistentních druhů. Bez současného

zavedení hygienicko-epidemiologických postupů vedoucích ke snížení šíření infekce
však nedojde k požadovanému účinku.

7 Závěr

Již na počátku 60. let 20. století se objevila rezistence u některých bakteriálních kmenů. V některých zemích se po zavedení preventivních programů podařilo vznik a šíření rezistentních kmenů snížit. V jiných je však trend opačný, se zvyšující prevalencí. I v České republice došlo v posledních letech k vzestupu MRSA infekcí ze 4 % na 14 %. Tento nárůst si lze vysvětlit zvýšeným tlakem farmaceutického průmyslu na předepisování alternativních léčiv, která jsou dražší, širokospektrá a podněcují vznik rezistence u *Staphylococcus aureus*. Špatná informovanost lékařů a laické veřejnosti o této problematice tomu jen napomáhá. Je nutné apelovat na dodržování cílů národního antibiotického programu. Využívat antibiotická střediska, která rezistenci monitorují a umožňují lékařům konzultovat danou situaci, vyhnout se tak neuváženému předepsání rezervních antibiotik. Současně je nutné při zjištění výskytu MRSA v daném zařízení nezahálet, zajistit izolaci pacientů a dbát hygienicko-epidemiologických postupů.

Situace v obou českých nemocnicích nepřekračuje celorepublikový výskyt. Liší se však prevalencí mezi sebou. Nemocnice České Budějovice, a.s. má vyšší počet pacientů s infekcí STAU a vyšší výskyt MRSA. Je proto nutné, aby dbala doporučených postupů před šířením infekce MRSA v nemocničních zařízeních. Prvním krokem je včasný záchyt nového pacienta s MRSA. Často není možné pacienta izolovat na samostatný pokoj, vedení nemocnice by se mělo zaměřit na tento nedostatek lůžkových kapacit, které mohou omezit šíření mezi pacienty MRSA negativními. Dalším důležitým momentem je dodržování hygienických postupů, především dostatečná hygiena rukou zdravotnického personálu a zdravotnických pomůcek.

U obou nemocnic převažoval výskyt na odděleních nechirurgických oborů. Převažoval nález v materiálu z horních cest dýchacích, z ran a defektů či kůže.

Infekce MRSA v obou nemocnicích zasahovala především starší věkové skupiny. Tito lidé s velkou pravděpodobností již byli hospitalizováni, užívali ATB, mohou trpět onemocněním, které je oslabuje, a podněcuje tak kolonizaci MRSA kmeny. V obou nemocnicích převažoval vyšší výskyt u mužů. Není jednoznačně vysvětleno, z jakého důvodu více podléhají muži. Pravděpodobně je zde i hormonální vliv.

Účinnost antibiotik selhala především u alternativních, rezervních antibiotik, jako je ciprofloxacin (fluorochinolony), linkomycin/klindamycin (linkosamidy), dále gentamicin (aminoglykosidy). Citlivost si zachová vankomycin, rifampicin, linezolid, trimetoprim+sulfonamid či tigecyklin. Cílem by mělo být zachovat stávající citlivost mikrobů k těmto antibiotikům, podporovat správnou preskripci již v primární péči, informovat lékaře o této skutečnosti a nepodceňovat význam hygienicko-epidemiologických opatření.

8 Použité zkratky

ATB	antibiotika
CA-MRSA	community – associated MRSA
CBD	Columbia agar s příměsí 5 % ovčí krve
ČLS JEP	Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FNHK	Fakultní nemocnice Hradec Králové
HA-MRSA	hospital - associated MRSA
CHOC	čokoládový agar
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MRSA	methicillin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
NAP	Národní antibiotický program
NemČB	Nemocnice České Budějovice, a.s.
PBP	penicillin - binding protein
PVL	Pantonův-Valentinův leukocidin
SCCmec	staphylococcal cassette chromosome mec
STAU	<i>Staphylococcus aureus</i>
TOF	Time of Flight
VISA	vancomycin-intermediate resistant <i>S. aureus</i>
VRSA	vancomycin-resistant <i>S. aureus</i>

9 Citovaná literatura

1. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2., přepr. vyd. Brno: Neptun, 2005, 351 s. ISBN 80-868-5000-5.
2. BENEŠ, Jiří. Počátky antibiotické éry a některé důsledky pro dnešní dobu. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. Praha: Trios, 2012, č. 5, s. 142-149.
3. JINDRÁK, V., D. HEDLOVÁ a P. URBÁŠKOVÁ. *Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici*. 1. vyd. Praha: Mladá fronta, 2014. Aeskulap. ISBN 978-80-204-2815-8.
4. BEDNÁŘ, Marek. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.
5. HANULÍK, V. a M. HTOUTOU SEDLÁKOVÁ. Rezistence gram pozitivních bakterií k antimikrobiálním přípravkům. *Farmakoterapie: Aktuální pohled na problematiku bakteriální rezistence*. 2011, 7, 7-11. ISSN 1801-1209.
6. CONLY, JM, JOHNSTON, BL. VISA, hetero-VISA and VRSA: The end of the vancomycin era? *The Canadian Journal of Infectious Diseases*. 2002;13(5):282-284.
7. VOTAVA, Miroslav et al. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003, 495 s. ISBN 80-902-8966-5.
8. *Staphylococcus aureus*. In: *Microbiology in pictures* [online]. 2016 [cit. 2016-03-11]. Dostupné z: <http://www.microbiologyinpictures.com/staphylococcus%20aureus.html>
9. *Dermatology atlas* [online]. Atlas Dermatológico, 2016 [cit. 2016-04-26]. Dostupné z: <http://atlasdermatologico.com.br/index.jsf>
10. BENEŠ, Jiří. *Infekční lékařství*. 1. vyd. Praha: Galén, c2009. ISBN 978-80-7262-644-1.
11. KRATOCHVÍL, A., L. TREFLOVÁ, E. ŠILHOVÁ a K. PETROVÁ. Meticilin rezistentní *Staphylococcus aureus* - problém nejen podiatrické ambulance. *Bulletin HPB chirurgie* [online]. 2006, 4 [cit. 2016-02-25]. Dostupné z: <http://www.hpb.cz/index.php?pId=06-4-04>
12. MELTER, O. *Staphylococcus aureus* rezistentní k meticilinu (MRSA) - obávaný původce infekcí u lidí a zvířat. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. 2008, 14(5), 178-185.
13. AIRES DE SOUSA, M. a H. DE LENCASTRE. Bridges from hospitals to the laboratory: genetic portraits of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2004, 40(2), 101-111.
14. CRISÓSTOMO MI, WESTH H, TOMASZ A, CHUNG M, OLIVEIRA DC, DE LENCASTRE H. The evolution of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: Similarity of genetic backgrounds in historically early methicillin-susceptible and -resistant isolates and contemporary epidemic

- clones. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001;98(17), 9865-9870.
15. OLIVEIRA, DC., A. TOMASZ a H. DE LENCASTRE. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet Infect Dis*. 2002, 2(3), 180-190.
 16. ITO T, MA XX, TAKEUCHI F, OKUMA K, YUZAWA H, HIRAMATSU K. Novel Type V Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* Driven by a Novel Cassette Chromosome Recombinase, *ccrC*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2004;48(7):2637-2651. doi:10.1128/AAC.48.7.2637-2651.2004.
 17. ENRIGHT MC, ROBINSON DA, RANDLE G, FEIL EJ, GRUNDMANN H, SPRATT BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2002;99(11):7687-7692.
 18. MELTER O, SANTOS SANCHES I, SCHINDLER J, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal types in the Czech Republic. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999;37(9):2798-2803.
 19. MELTER O, DE SOUSA MA, URBÁŠKOVÁ P, JAKUBŮ V, ŽEMLIČKOVÁ H, DE LENCASTRE H. Update on the major clonal types of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the Czech Republic. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003;41(11):4998-5005.
 20. Resistance Map. *The Center for Disease Dynamics, Economics & Policy* [online]. Washington, 2013 [cit. 2016-03-30]. Dostupné z: <http://resistancemap.cddep.org/>
 21. The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). *European Centre for Disease Prevention and Control* [online]. 2016 [cit. 2016-02-28]. Dostupné z: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial_resistance/database/Pages/map_reports.aspx
 22. SKOV, R, K CHRISTIANSEN, SJ DANCER, RS DAUM, M DRYDEN, YCh HUANG a FD LOWY. Update on the prevention and control of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2012; 39(3): 193-200.
 23. MACHOVÁ, I, P PETRÁŠ, E BLAŽKOVÁ a L KŇAPOVÁ. Sledování genů kódujících Pantonův-Valentinův leukocidin u kmenů *Staphylococcus aureus*. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie*. 2007; 56(2): 88-93.
 24. PRUSÍK, F, I VARBANOVOVÁ a P PETRÁŠ. Kožní infekce vyvolaná methicilin-rezistentním kmenem *Staphylococcus aureus* s produkcí Pantonova-Valentinova leukocidinu. *Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie (SZÚ, Praha)*. 2014; 23(7): 246-248.

25. PETRÁŠ, P, M RUMLEROVÁ, I MACHOVÁ, P NEKVINDA a P BEROUŠKOVÁ. Letální abscedující pneumonie vyvolaná kmenem *Staphylococcus aureus* oxacilin rezistentním s produkcí Pantonova-Valentinova leukocidinu. *Praktický lékař*. 2007; 88(4): 236-239.
26. AMBROŽOVÁ, H, V MAREŠOVÁ, M FAJT, P PAVLÍČEK, H ROHÁČOVÁ, I MACHOVÁ a P PETRÁŠ. The first case of fatal pneumonia caused by Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in an infant in the Czech Republic. *Folia Microbiologica*. 2013; 58(3): 225-228.
27. PETRÁŠ, P, P JEŽEK, I MACHOVÁ, P BÍLINA a J FIALA. Další smrtelný případ pneumonie vyvolaný kmenem *Staphylococcus aureus* s produkcí Pantonova-Valentinova leukocidinu. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie (SZÚ, Praha)*. 2009; 18(1): 15-17.
28. GALDBART J-O, MORVAN A, EL SOLH N. Phenotypic and Molecular Typing of Nosocomial Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Susceptible to Gentamicin Isolated in France from 1995 to 1997. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000;38(1):185-190.
29. NYČ, O. Potřeba a perspektivy nových antibiotik. *Remedia*. 2007;17(5): 476-480.
30. BENEŠ, J a O DŽUPOVÁ. Tigecyklin: Zařazení mezi ostatními antibiotiky, vlastnosti, klinické využití. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. 2009; 15(1): 7-13.
31. *Opatření k prevenci přenosu infekčních agens ve Fakultní nemocnici Hradec Králové*. Fakultní nemocnice Hradec Králové, 2012.
32. BERGEROVÁ T, HEDLOVÁ D, JINDRÁK V, URBÁŠKOVÁ P, CHMELÍK V. Doporučený postup pro kontrolu výskytu kmenů *Staphylococcus aureus* rezistentních k oxacilinu (MRSA) a s jinou nebezpečnou antibiotickou rezistencí ve zdravotnických zařízeních. *Praktický lékař* 2006; 86(9):500-506. Dostupný také na: <http://www.cls.cz/dalsi-odborne-projekty>
33. PAZDERKOVÁ, J., J. KREJČÍ a P. DLOUHÝ. Padesát let s MRSA: Pokus o zhodnocení postupů používaných k omezení výskytu infekcí vyvolaných kmeny *Staphylococcus aureus* rezistentními k meticilinu (MRSA). *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. 2012; 18(5): 132-141.
34. *Bulletin Sdružení praktických lékařů České Republiky*. 2009, 19 (6). ISSN 1212-6152.
35. EUCAST European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST definitions of clinical breakpoints and epidemiological cut-off values (online). Dostupné na http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
36. BAŠNÁ, Lenka. *Výskyt meticilin-rezistentních kmenů Staphylococcus aureus ve FN v Hradci Králové v letech 2011-2012*. Hradec Králové, 2013. Diplomová

práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové.
Vedoucí práce Pavla Paterová.

37. COELLO, R., J.R. GLYNN, C. GASPAR, J.J. PICAZO a J. FERERES. Risk factors for developing clinical infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) amongst hospital patients initially only colonized with MRSA. *Journal of Hospital Infection*. 1997, 37(1): 39-46.
38. CASEY JA, COSGROVE SE, STEWART WF, POLLAK J, SCHWARTZ BS. A Population-Based Study of the Epidemiology and Clinical Features of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection in Pennsylvania, 2001–2010. *Epidemiology and infection*. 2013;141(6):1166-1179.
39. MOORE, Carol L., Ameet HINGWE, Susan M. DONABEDIAN, et al. Comparative evaluation of epidemiology and outcomes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) USA300 infections causing community- and healthcare-associated infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2009, 34(2), 148-155.
40. ADRIE, Christophe, Elie AZOULAY, Adrien FRANCAIS, et al. Influence of Gender on the Outcome of Severe Sepsis. *Chest* . 2007, 132(6), 1786-1793.
41. FAROOQ S, KAWOOSA AA, MUMTAZ MU. Current sensitivity pattern of MRSA (methicillin resistant Staph aureus) in a tertiary care orthopaedic hospital in Kashmir (J&K). *J. Evolution Med. Dent. Sci*. 2016;5(12):503-505
42. LIMBAGO, B., G. E. FOSHEIM, V. SCHOONOVER, et al. Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates Collected in 2005 and 2006 from Patients with Invasive Disease: a Population-Based Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009, 47(5): 1344-1351.

10 Přílohy

Příloha 1 Skupiny a podskupiny ATB, ATB a mechanismus jejich účinku převzato (3)

Skupina	Podskupina	Antibiotikum	Mechanismus účinku	
Beta-laktamy	Peniciliny	peniciliny	penicilin G, penicilin V	inhibice syntézy buněčné stěny
		aminopeniciliny	ampicilin, amoxicilin	
		isoxazolympeniciliny	oxacilin, kloxacilin, dikloxacilin	
		ureidopeniciliny	piperacilin	
	Cefalosporiny	1. generace	cefazolin, cefalexin, cefadroxil	
		2. generace	cefuroxim, cefprozil, cefoxitin*	
		3. generace	cefotaxim, ceftriaxon, ceftazidim, cefixim	
		4. generace	cefepim, ceftarolin	
Karbapenemy		doripenem, ertapenem, imipenem, meropenem		
Monobaktamy		aztreonam		
Glykopeptidy		vankomycin, teikoplanin, telavancin		
Aminoglykosidy		gentamicin, netilmicin, tobramycin, amikacin	inhibice syntézy proteinů a jiných procesů v cytoplasmě	
Tetracykliny		tetracyklin, doxycyklin, tigecyklin		
MLS (makrolidy, linkosamidy, streptograminy)	Makrolidy	erytromycin, spiramycin, klaritromycin, roxitromycin, telitromycin		
	Azalidy	azitromycin		
	Linkosamidy	klindamycin, linkomycin		
	Streptograminy	quinupristin/dalfopristin		
Rifamyciny		rifampicin		
Amfenikoly		chloramfenikol		
Oxazolidinony		linezolid		
Diaminopyrimidiny		trimetoprim		
Diaminopyrimidiny se sulfonamidy		trimetoprim-sulfametoxazol		
Fusidany		fusidová kyselina		
Mupirocin				
Fluoro-chinolony	1. generace	nalidixová kyselina*, norfloxacin		inhibice replikace DNA
	2. generace	ciprofloxacin, ofloxacin		
	3. generace	moxifloxacin, levofloxacin		
Nitrofurany		nitrofurantoin		
Polymyxiny		kolistin	dezorganizace cytoplazmatické membrány	
Inhibitory beta-laktamázy (jen v kombinaci s beta-laktamy)		klavulanová kyselina, sulbaktam, tazobaktam	inaktivace beta-laktamázy	

* tato antibiotika jsou k dispozici jen pro laboratorní účely