

**KARLOVA UNIVERZITA V PRAZE**

**Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**

**Katedra biologických a lékařských věd**

**Výskyt meticilin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* ve FN Hradec Králové v letech 2008-2010**

(Diplomová práce magisterského studijního programu Zdravotnická bioanalýtika, oboru Odborný pracovník v laboratorních metodách)

Vedoucí diplomové práce: MUDr. Pavla Paterová

Hradec Králové 2011

Bc. Hana Vaculíková

Prohlášení

„Prohlašuji, že jsem diplomovou práci Výskyt meticilin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* ve FN Hradec Králové v letech 2008-2010 vypracovala samostatně pod vedením MUDr. Pavly Paterové. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu“.

V Hradci Králové dne

Podpis autora:

## ABSTRAKT

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

Kandidát: Bc. Hana Vaculíková

Školitel: MUDr. Pavla Paterová

Název diplomové práce: Výskyt meticilin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* ve FN Hradec Králové v letech 2008-2010

Kmeny *Staphylococcus aureus* rezistentní k methicillinu (MRSA) jsou významnou příčinou nozokomiálních infekcí. Jeho epidemiologie se mění a stále ve větší míře jsou zaznamenávány infekce způsobené MRSA i v běžné populaci, přičemž tento trend je nejvíce patrný v USA. *S. aureus* běžně nalezneme na kůži nebo sliznicích zdravých lidí, jeho rezistentní kmeny však představují závažný globální problém, protože léčba těchto infekcí je komplikovaná a finančně náročná.

Praktická část diplomové práce je zaměřena na výskyt *S. aureus* rezistentního k methicillinu ve Fakultní nemocnici Hradec Králové v letech 2008 – 2010 a ověření správnosti teorie dlouhodobého až celoživotního nosičství MRSA u již jednou pozitivních pacientů. Analýza byla provedena se zaměřením na výskyt v jednotlivých typech materiálu, výskyt na jednotlivých klinikách a odděleních, věk pacientů a záchyt positivity MRSA v časové ose. Nejčastěji pozitivním materiálem byly v letech 2008-2009 vzorky z dýchacích cest (shodně 53 %), kdy převažovaly materiály z horních cest dýchacích: výtěr z nosu a krku. Klinikou s nejvyšší prevalencí MRSA byla Klinika gerontologická a metabolická a celkově byl vyšší výskyt této bakterie zjištěn na standardních odděleních. Rizikovým faktorem pacientů je vyšší věk a mužské pohlaví.

Pro prevenci přenosu a šíření MRSA je nezbytné přísné dodržování postupů správné ošetrovatelské praxe a zásad správné antibiotické terapie.

## **ABSTRACT**

Charles University in Prague  
Faculty of Pharmacy in Hradec Králové  
Department of Biological and medical Sciences

Candidate: Bc. Hana Vaculíková

Supervisor: MUDr. Pavla Paterová

Title of diploma thesis: Incidence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in University Hospital Hradec Králové 2008-2010

Strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) are a significant cause of nosocomial infections. Their epidemiology keeps changing and MRSA infections are increasingly more frequent also among common population, which trend has become most noticeable in the USA. *S. aureus* can be generally found on skin or mucosae of healthy people, however its drug-resistant strains constitute a serious global problem, as the treatment of such infections is complicated and expensive.

The practical part deals with the occurrence of MRSA at the University hospital in Hradec Králové in the years 2008 - 2010 and strives to verify the theory of a long-term or even life-long latent MRSA infections in patients that have already been diagnosed with MRSA. The analysis was focused on occurrence in various types of material, occurrence on particular hospital departments, age of the patients and diagnosis of MRSA in a time-scale. In the years 2008-2009 the most frequently positive material were samples from the respiratory tract (53% in both cases) in which materials from the upper respiratory tract prevailed: swab smears from nose and throat. The department with the highest prevalence of MRSA was the Department of Gerontology and Metabolism, and a higher occurrence of the bacterium was detected in standard departments. The risk factor of MRSA infection is a higher age and male sex.

It is essential to strictly adhere to correct healthcare procedures and principles of antibiotic therapy to prevent further transmission and spreading of MRSA.

## **OBSAH**

<b>OBSAH</b> .....	5
<b>I. ÚVOD A ZADÁNÍ PRÁCE</b> .....	10
<b>II. ROD <i>STAPHYLOCOCCUS</i></b> .....	10
<b>2.1. Charakteritka druhu <i>Staphylococcus aureus</i></b> .....	10
2.1.1. Vlastnosti.....	10
2.2.2. Patogenita.....	10
<b>III. GENOM <i>Staphylococcus aureus</i></b> .....	14
<b>3.1. Chromozomální genom</b> .....	15
<b>3.2. Přídavné variabilní elementy</b> .....	16
3.2.1. Plasmidy.....	17
3.2.2. Bakteriofágy.....	20
3.2.3. Ostrovy patogenity.....	21
3.2.4. Genomové ostrovy.....	21
3.2.5. Inzerční sekvence a transpozony.....	22
3.2.6. Stafylokokové chromozomové kazety.....	22
<b>IV. MRSA</b> .....	23
<b>4.1. Definice MRSA</b> .....	23
<b>4.2. Komunitní MRSA (CA-MRSA)</b> .....	24
<b>4.3. Nozokomiální MRSA (HA-MRSA)</b> .....	25
<b>4.4. Nosičství MRSA</b> .....	26
4.4.1. Faktory kolonizace MRSA.....	27
4.4.2. Sledování výskytu MRSA.....	28
4.4.3. Screening MRSA.....	29
<b>4.5. Péče o MRSA pozitivní pacienty</b> .....	31
4.5.1. Hlášení MRSA.....	31
4.5.2. Opatření.....	32
4.5.3. Hygiena rukou.....	33
4.5.4. Eradikace MRSA.....	34
<b>V. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA</b> .....	35
<b>5.1. Mikroskopie</b> .....	35
<b>5.2. Kultivace</b> .....	35
<b>5.3. Identifikace <i>S. aureus</i></b> .....	36

5.3.1. Produkce plazmakoagulázy.....	36
5.3.2. DNása a tepelně stabilní nukleázy.....	37
5.3.3. Komerční biochemické testy.....	37
5.3.4. Molekulární metody.....	37
<b>5.4. Identifikace MRSA.....</b>	<b>39</b>
5.4.1. Diluční metoda.....	39
5.4.2. E-test.....	40
5.4.3. Diskový difuzní test.....	40
5.4.4. Detekce PBP2a latexovou aglutinační metodou.....	41
5.4.5. Molekulární metody.....	41
<b>VI. ANTIMIKROBIÁLNÍ TERAPIE U INFEKČÍ MRSA.....</b>	<b>42</b>
<b>6.1. Klindamycin.....</b>	<b>43</b>
<b>6.2. Daptomycin.....</b>	<b>44</b>
<b>6.3. Linezolid.....</b>	<b>44</b>
<b>6.4. Tetracykliny.....</b>	<b>44</b>
<b>6.5. Telavancin.....</b>	<b>45</b>
<b>6.6. Rifampicin.....</b>	<b>45</b>
<b>6.7. TMP-SMX.....</b>	<b>46</b>
<b>6.8. Vankomycin.....</b>	<b>46</b>
<b>6.9. Fluorochinolony.....</b>	<b>47</b>
<b>6.10. Antibiotická politika a její cíle.....</b>	<b>47</b>
<b>VII. EPIDEMIOLOGICKÁ SITUACE MRSA.....</b>	<b>49</b>
<b>7.1. EARS-Net.....</b>	<b>49</b>
<b>7.2. Evropa.....</b>	<b>50</b>
<b>7.3. Ostatní regiony.....</b>	<b>51</b>
<b>VIII. PRAKTICKÁ ČÁST.....</b>	<b>53</b>
<b>8.1. Výběr dat.....</b>	<b>53</b>
<b>8.2. Kultivace <i>S. aureus</i>.....</b>	<b>53</b>
<b>8.3. Materiály.....</b>	<b>53</b>
<b>8.4. Výsledky.....</b>	<b>56</b>
8.4.1. Celkový výskyt MRSA v klinických materiálech.....	56
8.4.2. Výskyt MRSA ve vzorcích podle prvního pozitivního záchytu.....	61
8.4.3. Výskyt MRSA na jednotlivých klinikách FN Hradec Králové.....	64
8.4.4. Výskyt MRSA v intenzivní péči.....	67

8.4.5. Výskyt MRSA v chirurgických a nechirurgických oborech.....	69
8.4.6. Věk a pohlaví MRSA pozitivních pacientů.....	70
8.4.7. Záchyt MRSA v časové ose roku.....	73
8.4.8. MRSA pacienti poprvé pozitivní v letech 2008 a 2009.....	75
8.4.9. Citlivost MRSA k antibiotikům.....	82
<b>IX. DISKUZE.....</b>	<b>83</b>
<b>X. ZÁVĚR.....</b>	<b>86</b>
<b>XI. SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ.....</b>	<b>87</b>
<b>XII. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>89</b>

## SEZNAM ZKRATEK

**bp** - páry bází

**BSAC** - British Society for Antimicrobial Chemotherapy

**BORSA** - borderline oxacilline resistant *S. aureus*

**CA-MRSA** - community-acquired methicillin-resistant *S. aureus* (*S. aureus* rezistentní na meticillin a získaný v komunitě)

**CDC** - Centers for Disease Control

**CFU** - colony forming unit (jednotky tvořící kolonie)

**CLSI** - Clinical and Laboratory Standards Institute

**CPK** - kreatinin fosfokináza

**DIN** - Deutsches Institut für Normung

**DNA** - deoxyribonukleová kyselina

**EARS-Net** - European Antimicrobial Resistance Surveillance Network

**EARSS** - European Antimicrobial Resistance Surveillance System

**EASAC** - European Academies Science Advisory Council

**ECDC** - European Centre for Disease Prevention and Control

**EMRSA** - epidemic methicillin-resistant *S. aureus* (epidemické kmeny meticilin rezistentního *S. aureus*)

**ET** - exfoliativní toxin

**FDA** - Food and Drug Administration

**G+C** - guanin + cytosin

**GIT** - gastrointestinální trakt

**GRE** - glycopeptide-resistant enterococci (enterokoky rezistentní ke glykopeptidům)

**HA-MRSA** - hospital-acquired methicillin-resistant *S. aureus* (*S. aureus* rezistentní na meticillin a získaný v nemocničním zařízení)

**HDR** - hygienická dezinfekce rukou

**HGT** - horizontální přenos genů (horizontal gene transfer)

**HICPAC** - Hospital Infection Control Practices Advisory Committee

**hVISA** - heterorezistentní vankomycin- intermediate *S. aureus*

**IS** - inzerční sekvence

**JIP** - jednotka intenzivní péče

**KA** - krevní agar

**MGE** - mobilní genetický element

**MIC** - minimální inhibiční koncentrace

**MLS** - makrolidy, linkosamidy, streptogramin

**MLST** - multilocus sequence typing (sekvenční analýza skupiny lokusů)

**MLVA** - Multiple Loci VNTR Analysis

**MMR** - mechanické mytí rukou

**MSSA** - methicillin-susceptible *S. aureus* (*S. aureus* citlivý k methicillinu)

**MODSA** - modifikovaný *S. aureus*



**MRSA** - methicillin-resistant *S. aureus* (*S. aureus* rezistentní na meticillin)  
**NAP** - Národní antibiotická politika  
**NEQAS** - National External Quality Assessment Service  
**NNIS** - National Nosocomial Infections Surveillance System  
**NRL** - Národní referenční laboratoř  
**PBP** - penicilin vázající protein  
**PCR** - Polymerase chain reaction (Polymerázová řetězová reakce)  
**PFGE** - pulsed-field gel electrophoresis (pulzní gelová elektroforéza)  
**PVL** - Pantonův-Valentinův leukocidin  
**RIVM** - Dutch National Institute for Public Health and the Environment  
**RNA** - ribonukleová kyselina  
**RMS** - restrikčně-modifikační systém  
**SaPI** - stafylokokové ostrovy patogenity  
**SCC** - staphylococcal cassette chromosome (stafylokoková chromozomová kazeta)  
**SCCmec** - staphylococcal cassette chromosome *mec* (stafylokoková chromozomová kazeta *mec*)  
**SCCS** - Source Code Control System  
**SNPS** - Single nucleotide polymorfismus  
**Spa** - *S. aureus* protein A  
**SPNN** - Společnost prevence a nález nozokomiálních infekcí  
**SRGA** - Swedish Reference Group for Antibiotics  
**SSSS** - staphylococcal scalded skin syndrom (stafylokokový syndrom opažené kůže)  
**SSTI** - Skin and Soft Tissue infections  
**ST** - sequence type (sekvenční typ)  
**SZÚ** - Státní zdravotní ústav  
**TESS** - The European Surveillance System  
**TSS** - Syndrom toxického šoku  
**TSST-1** - toxic shock syndrome toxin 1 (toxin syndromu toxického šoku 1)  
**Tn** - transpozon  
**TKI** - tým pro kontrolu infekcí  
**VISA** - vankomycin-intermediate *S. aureus*  
**VNTR** - Variable number tandem repeats (variabilní počet tandemových repetice)  
**VRE** - vankomycin-rezistentní enterokok  
**WHO** - World Health Organization (Světová zdravotnická organizace)

## **I. ÚVOD A ZADÁNÍ PRÁCE**

Cílem práce bylo stanovit základní charakteristiky výskytu MRSA v populaci pacientů FN Hradec Králové v letech 2008-2010 a zjistit správnost teorie dlouhodobého až celoživotního nosičství MRSA u již jednou pozitivních pacientů.

## **II. ROD *STAPHYLOCOCCUS***

Tento rod, patřící do čeledi Staphylococcaceae, je podle List of Bacterial Names k roku 2005 tvořen celkem 40 druhy a 24 poddruhy, které dělíme dle jejich schopnosti koagulovat plasmu na koaguláso pozitivní a koaguláso negativní. Stafylokoky jsou až na výjimky fakultativně anaerobní, většinou neopouzdržené gram-pozitivní koky, které byly poprvé pozorovány v roce 1880 Louisem Pasteurem a Alexandrem Ogstonem. Jsou nepohyblivé o průměrné velikosti asi 1  $\mu\text{m}$  a tvoří typické shluky tvaru hroznů, podle kterých získaly i své jméno (řecky staphylé, hrozen). Mnoho druhů stafylokoků bývá součástí fyziologické flóry lidí i zvířat.

### **2.1. Charakteristika druhu *Staphylococcus aureus***

#### **2.1.1. Vlastnosti**

Tento druh se vyznačuje produkcí enzymu koagulázy a řadíme ho tedy mezi koaguláso pozitivní stafylokoky. Kolonie této bakterie mají typické žluté zbarvení, což je způsobeno produkcí triterpenoidních karotenoidů buněčnou membránou. Rozlišujeme dvě subspecies, subsp. aureus a anaerobius, přičemž pouze *Staphylococcus aureus* subsp. aureus je humánním patogenem. Jednou z důležitých charakteristik toho druhu je osmotická rezistence (nebo tolerance). *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) může růst na médiích obsahujících až 3,5 mol/L chloridu sodného - tato charakteristika je dlouho používána pro efektivní izolaci z klinických vzorků. S touto vlastností, kdy *S. aureus* může narozdíl od jiných patogenních bakterií přežít v potravinách s vysokou osmolaritou (konzervace) (Kuroda et al., 2001), jsou spojeny i otravy z potravin.

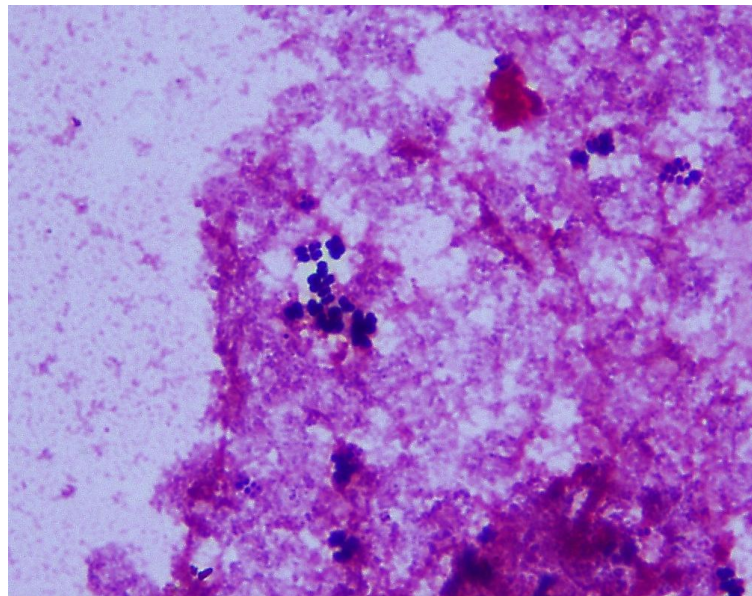
#### **2.1.2. Patogenita**

Tato bakterie je klinicky jedním z nejvýznamnějších patogenů. Má výraznou afinitu ke zdravé kůži nebo sliznici a preferuje oblast nosní dutiny dospělých lidí. Nosní

**nosičství** se liší mezi jednotlivci a je signifikantním rizikovým faktorem pro infekci způsobenou touto bakterií. Ve zdravé populaci je přibližně 20% trvalých nosičů, zatímco 60% je nosiči intermitentními a asi 20% nepřenáší bakterii vůbec (Shittu et al., 2007). Pokud ovšem dojde k porušení kožních nebo slizničních bariér, či je poškozena imunita jedince, projeví se její patogenita. *S. aureus* může být dělený do přibližně deseti dominantních linií, z nichž každá je opatřena unikátním povrchovým proteinem a každá je schopna způsobit onemocnění (Waldron et al., 2006).

*S. aureus* může způsobovat tři základní typy **onemocnění**:

- (i) povrchové léze jako jsou kožní abscesy a infekce ran;
- (ii) hluboce uložené a systémové infekce jako je osteomyelitida, endokarditida, pneumonie a bakteriémie;
- (iii) toxemické syndromy jako například syndrom toxického šoku (TSS), stafylokokový syndrom opařené kůže (SSSS) nebo stafylokokové enterotoxikózy (Jarraud et al., 2002).



Obrázek 1: *S. aureus* v mikroskopu (foto: MUDr. Pavla Paterová)

### ***Faktory patogenity***

Za symptomy a závažnost infekce jsou zodpovědné faktory virulence, které můžeme pro zjednodušení rozdělit na povrchové a extracelulární.

### a) *Povrchové faktory*

Mezi povrchové faktory řadíme peptidoglykan, protein A, polysacharid A a pouzdro. **Peptidoglykan** (murein), podobně jako endotoxin, stimuluje produkci cytokinů aktivací makrofágů, aktivuje komplement a shlukuje trombocyty. **Protein A** je společným skupinovým antigenem většiny kmenů *S. aureus*, je schopný vázat Fc-fragment imunoglobulinů a tím chrání bakterii před opsonizací, fagocytózou a účinky komplementu. **Teichoová kyselina** polyribitolfosfátového typu, označovaná jako polysacharid A, je skupinově specifickou antigenní determinantou uplatňující se jako adhesin. U některých, zejména mukoidních kmenů, lze prokázat i **kapsulární antigeny**. Brání fagocytóze, existují v 11 antigenních typech a většina klinicky významných izolátů náleží typu 5 nebo 8 (Votava a kol., 2003). Dále povrch buněk obsahuje **vázanou koagulázu** tzv. clumping factor, která aglutinuje suspenzi stafylokoků pomocí vazby fibrinogenu a jeho přeměny na fibrin. Právě role clumping factoru A a dalších povrchových proteinů nebo Src kinázy se zdá být důležitá pro intracelulární přežití této bakterie (Garzoni et al, 2006). Vrstva fibrinu poskytuje ochranu před fagocytózou a je příčinou tvorby abscesů u stafylokokových infekcí. Enzym **hyaluronidáza** hydrolyzuje hyaluronovou kyselinu v mezibuněčném tmelu a tím umožňuje šíření stafylokoků do tkání. **Stafylokináza** (fibrolysin) se váže k  $\alpha$ -defensinům a dochází ke ztrátě jejich baktericidních vlastností, čímž se tento enzym stává životně důležitou zbraní proti imunitě hostitele. Komplex stafylokináza – plazminogen katalyzuje přeměnu plazminogenu na aktivní plazmin, který usnadňuje průnik bakterií do okolních tkání (Bokarewa et al., 2005). **Penicilináza** (beta-laktamáza) rozkládá a tím inaktivuje beta-laktamová antibiotika.

### b) *Extracelulární faktory*

Stafylokokové toxiny mohou být rozděleny do dvou skupin podle jejich schopnosti lyzovat buňky: hemolyziny či cytotoxiny, které jsou schopny přímo poškodit vnější membránu cílové buňky, a takzvané superantigenní toxiny, které nezpůsobí lýzu přímo, ale mohou ji vyvolat zvýšenou produkcí cytotoxinů z aktivovaných T-lymfocytů a monocytů/makrofágů (Cunha, Calsolari, 2008).

#### **Hemolyziny**

*S. aureus* produkuje čtyři hemolyziny (alfa-, beta-, gama- a delta-hemolyzin), z nichž **hemolyzin-alfa** je považován za hlavní faktor virulence. Je dermonekrotický, neurotoxický. Je produkován jako monomer, který se váže na buněčnou membránu a

způsobuje její perforaci. Na krevním agaru s ovčími erytrocyty se projevuje téměř úplnou beta-hemolýzou. Hemolytickou aktivitu **beta-hemolyzinu** lze zesílit inkubací kultury při teplotě nižší než 10°C, proto je tento toxin označován jako tzv. 'hot-cold' hemolyzin. Tento enzym se významně uplatňuje při infekcích plic a rohovky a má schopnost inhibovat aktivitu nosních epiteliálních buněk (Burnside et al., 2010). Účinky **gama-hemolyzinu** jsou na krevním agaru inhibovány a jeho průkaz tedy není možný. **Delta-hemolyzin** je charakterizován svou termostabilitou, inhibicí lipoproteiny krevního séra a synergismem s beta-hemolyzinem, při kterém vzniká úplná beta-hemolýza.

### **Cytotoxiny**

Většina kmenů CA-MRSA nese s vysokou incidencí gen pro **Pantonův-Valentinův leukocidin**. PVL byl poprvé ohlášen roku 1932. Toxin se skládá ze dvou komponent: LukF-PV o molekulové hmotnosti 34 kDa a LukS-PV o molekulové hmotnosti 32 kDa. Proteiny LukF-PV a LukS-PV působí synergisticky a způsobují poškození buněčné membrány tvorbou pórů, která je příčinou lýzy polymorfonukleárních leukocytů a makrofágů (Ma et al., 2008).

Některé toxiny souvisejí s konkrétním typem kožní infekce. Geny pro PVL jsou obvykle izolovány z furunklů a kožních abscesů, zatímco **exfoliativní toxiny** (ETs) jsou spojovány s bulózním impetigem a syndromem opařené kůže (Durupt et al., 2007).

### **Superantigeny**

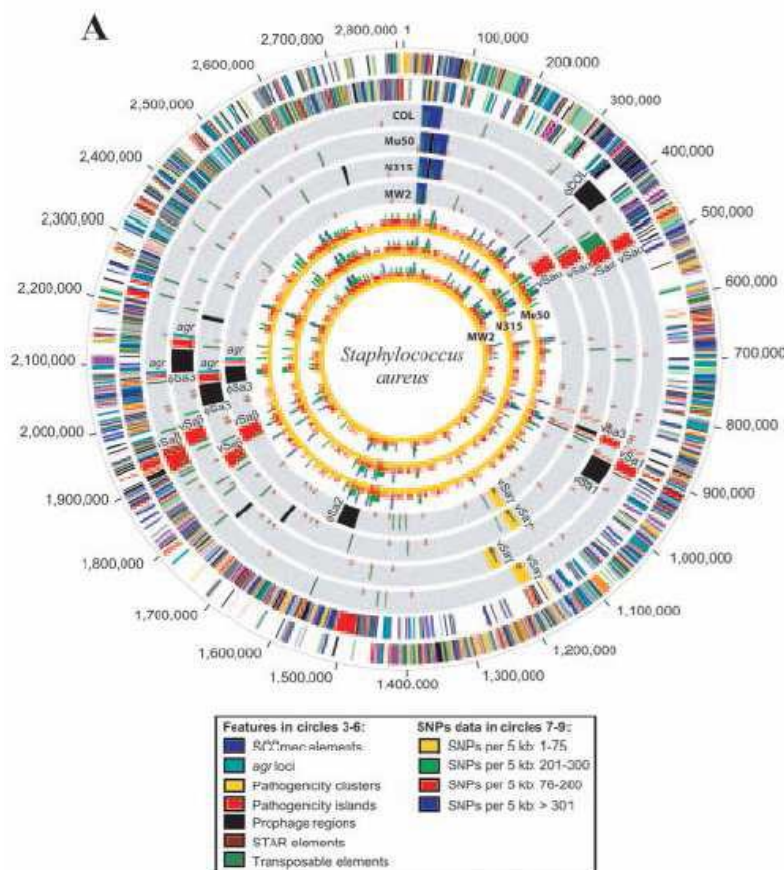
Toxiny stafylokoků označované jako superantigeny popsal poprvé v roce 1959 Bergdoll a spolupracovníci. V současnosti je známo 18 serologicky odlišných enterotoxinů označovaných písmeny SEA-G, SEH-R, SEU a toxin-1 syndromu toxického šoku označovaný jako TSST-1 (Cunha, Calsolari, 2008). **Stafylokokové enterotoxiny** jsou relativně rezistentní vůči teple a účinkům proteolytických enzymů, vyvolávají zvracení a průjem.

**Exfoliativní** (známé též jako „epidermolytické“ toxiny) jsou obzvláště zajímavé virulentní faktory tohoto stafylokokoka. Jedna a/nebo obě serologické varianty (A nebo B) exfoliativních toxinů (ETs) jsou produkovány malým, ale významným procentem izolátů *S. aureus*. Oba ETs jsou produkovány predominantně stafylokokovým fágem skupiny II a navozují intraepidermální odlupování kůže, charakterizované separací epidermis od desmosomů, což vede k pozitivnímu znamení Nikolského. Tato biologická aktivita je spojená s etiologií onemocnění označovaného jako stafylokokový syndrom opařené kůže, které se objevuje predominantně u velmi mladých jedinců před

vytvořením protektivních protilátek (Monday et al., 1999). Poslední zprávy ukázaly, že 3-4 % MSSA nesou *eta* nebo *atb* gen, zatímco asi 10 % MRSA je *eta* pozitivní (Bukowski et al., 2010). **Toxin syndromu toxického šoku 1 (TSST-1)** je pyrogenní a způsobuje syndrom kapilárního úniku zodpovědného za klinické příznaky toxického šoku.

### III. GENOM *Staphylococcus aureus*

Genom druhu *S. aureus* má velikost přibližně 2,8 Mbp s relativně nízkým obsahem G+C (přibližně 33 %). Komparativní analýza odhalila, že převážná část genomu je velmi konzervativní, zatímco několik rozsáhlých sekvenčních bloků vykazuje vysokou variabilitu (Baba et al., 2008).



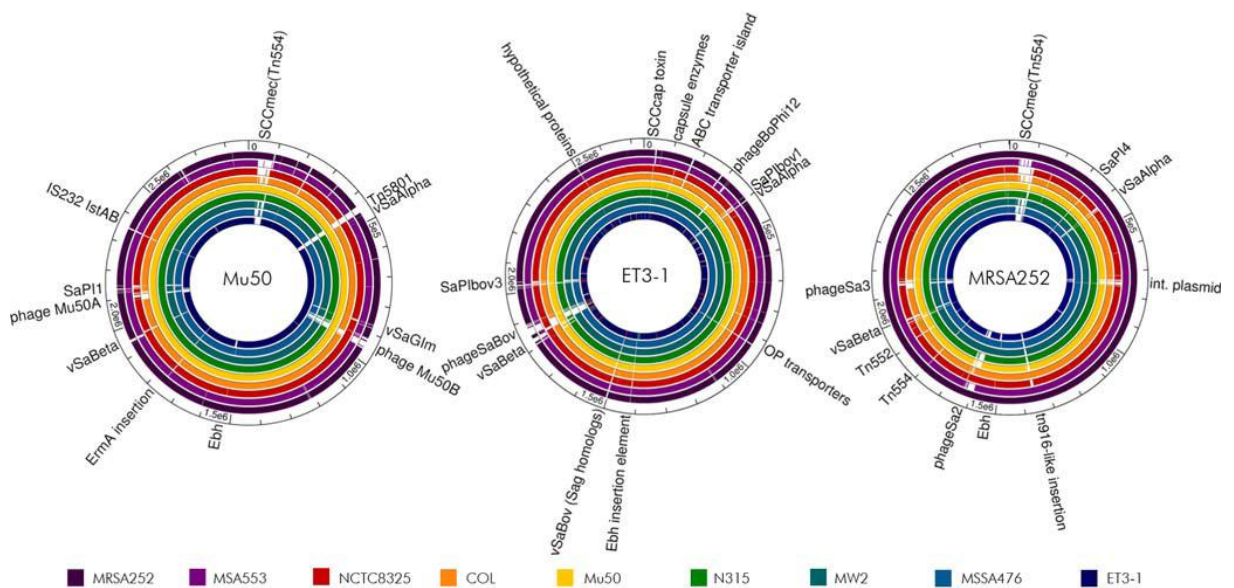
**Obrázek 2: Sekvenovaný genom *S. aureus*** (Gill et al., 2004)

Každý kruh znázorňuje genomická data, která jsou vyčíslena od vnějšího kruhu směrem ke středu. Vnější kruh znázorňuje uspořádání párů bazí v genomu. Druhý, třetí a čtvrtý kruh reprezentuje *S. aureus* COL. Následující kruhy znázorňují ostatní kmeny *S. aureus*: pátý kruh (kmen Mu50), šestý (kmen N315) a sedmý (kmen MW2). Osmý (kmen Mu50), devátý (kmen N315) a desátý (kmen MW2) kruh znázorňují množství SNPs ve srovnání s kmenem COL.

Součástí genomu je jeden kružnicový chromozom a množství přidatných variabilních elementů. Hlavní genom obsahuje všechny geny zásadní pro přežití buňky, jako jsou geny kódující molekuly zapojené do buněčného metabolismu, syntézy DNA a RNA a replikace.

Přidatné geny představují rozmanitost v rámci bakteriálních species, kódují proteiny nezbytné pro adaptaci bakterie v prostředí (rezistence, faktory virulence, atd.). Přidatné geny mají typicky jiný obsah C+G než je obsažen v hlavním genomu, často proto, že bakterie tyto geny získala od jiných druhů bakterií. Bakterie získává genetickou informaci od jiných buněk nebo okolního prostředí třemi cestami: (1) absorpcí volné DNA z prostředí - transformace, (2) transdukcí bakteriofága, a (3) přímým kontaktem mezi buňkami - konjugace (Malachowa, DeLeo, 2010).

### 3.1. Chromozomální genom



**Obrázek 3: Srovnání genomů *S. aureus* (Herron-Olson, 2007)**

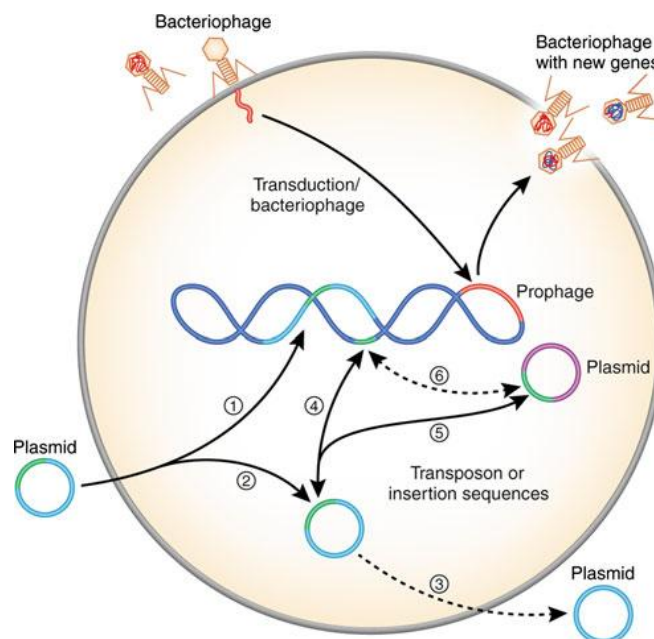
Obrázky srovnávají plně sekvenované genomy; mezery v barevném histogramu představují chybějící sekvence. ( $e\text{-value} > 10^{-5}$ ). Uspořádání názorně ukazuje konzervativnost jaderného genomu a významnost mobilních genetických elementů pro variabilitu genomu. Podobné genetické elementy jsou integrovány do různých míst; např. fágSaBovu kmene ET3-1 a bakteriofág Mu50 $\beta$  u kmene Mu50 mají homologní obsah, ale liší se místem integrace. Mezi sekvenovanými kmeny není evidentní přímá cesta získání mobilních elementů, což zdůrazňuje roli vedlejšího transferu v evoluci *S. aureus*.

Procentuální porovnání podobnosti DNA jaderného genomu ukázalo, že kmeny N315, Mu50, MW2 a MSSA476 jsou úzce příbuzné. Nemocniční kmeny N315, Mu50 a CA-MW2 spolu s MSS476 náleží podle sekvenční analýzy skupiny lokusů (MLST) do identických, ale samostatných sekvenčních typů ST5 a ST1, zatímco COL a

NCTC8325 řadíme do úzce příbuzných STs (ST250 a ST8). Ze sekvenovaných druhů byl nejvíce odlišný MRSA 252 (ST36), což je zástupce epidemické klonální skupiny EMRSA-16 (Shittu et al., 2007).

### 3.2. Přídavné variabilní genové elementy

Jak bylo uvedeno výše, přídavný genom kóduje neesenciální funkce, včetně determinant virulence a rezistence, genů zodpovědných za adaptaci buňky nebo za tvorbu toxinů. Tyto geny jsou často lokalizovány na MGEs (tvoří asi 15 % genomu). *S. aureus* obsahuje mnoho typů MGEs, k nimž řadíme plasmidy, transpozony (Tn), inzerční sekvence (IS), bakteriofágy, ostrovy patogenity a stafylokokové chromozomové kazety. Jednotlivé kmeny se liší přítomností a obsahem těchto elementů, což vysvětluje různorodost infekcí způsobených touto bakterií.



**Obrázek 4: Schéma přenosu MGEs do genomu *S. aureus*** (Malachowa, DeLeo, 2006)

1 Včlenění plasmidu nebo plasmidových elementů do genomové DNA. 2 Plasmidy mohou být udržovány jako volná cirkulární DNA. 3 Sebevražda plasmidu 4 Přenos transpozonu nebo inzerční sekvence mezi plasmidem a genomovou DNA. 5 Přenos transpozonu nebo inzerční sekvence mezi plasmidy uvnitř buňky. 6 Přenos transpozonu nebo inzerční sekvence z genomové DNA na jiný plasmid

Mobilní genetické elementy (MGEs) byly poprvé popsány v genomu kukuřice koncem roku 1940. Jsou důležitým prostředkem pro přenos genetické informace a vykazují intracelulární i intercelulární mobilitu. Přenos MGE mezi buňkami je označován jako horizontální přenos genů (HGT). Může jít o vzájemný přenos genů



mezi prokaryoty, přenos DNA z prokaryot do eukaryot, nebo přenos mezi eukaryoty navzájem. Příkladem může být přenos elementu rezistence k vankomycinu bakterie *Enterococcus faecalis* Tn1546 pomocí plasmidu integrovaného do *S. aureus*. (Gill et al., 2005). Propagace probíhá nejčastěji pomocí vertikálního přenosu genů, což je přenos genetické informace z rodičovské buňky na dceřinnou.

Předpokládá se, že MGE přítomné u jednoho kmene budou horizontálně přenášeny do kmene *S. aureus* stejné linie s vyšší frekvencí než do *S. aureus* patřícího k jiné linii. To by mohlo vysvětlovat, proč byla rezistence k methicillinu (*mecA*), kódovaná stafylokokovou chromozomovou kazetou (*SSCmec*), přenesena pravděpodobně pouze do šesti dominantních linií (CC1, CC5, CC8, CC22, CC30 a CC45) (Waldron et al., 2006).

### 3.2.1. Plasmidy

Plasmidy jsou autonomně se replikující molekuly DNA běžně nacházené v cytoplasmě prokaryot. Jsou široce používány jako klonovací vektory, ale také slouží jako modelové systémy pro kontrolu replikace (Paulsson, 2002). Stafylokoky typicky přenášejí jeden nebo více plasmidů v buňce, které většinou nesou geny kódující rezistenci k antibiotikům, těžkým kovům nebo antiseptikům. Příkladem může být plasmid pN315 (24 653 bp), obsahující determinanty rezistence ke kadmiu *cadDX*, arsenu *arsRBG* a Tn552-podobný transpozon, nesoucí gen *blaZ* rezistence k penicilinu (Kuroda et al., 2001). Funkcí plasmidu pT181 identifikovaného v COL, je kódování rezistence k tetracyklinům.

Některé geny kódující virulenci jako je exfoliativní toxin B a některé superantigeny, jsou také neseny plasmidy (Shittu et al., 2007).

Plasmidy mohou být klasifikovány do tří následujících skupin: (1) malé plasmidy vyskytující se v buňce v mnoha kopiích, které jsou kryptické nebo nesou jednu determinantu rezistence; (2) větší plasmidy (15-30 kb) v menším počtu kopií (4 až 6 kopií na buňku), které obvykle nesou několik determinant rezistence; a (3) konjugativní multirezistentní plasmidy (Malachowa, DeLeo, 2010).

Plasmidy se liší i svým replikačním mechanismem. Zatímco větší plasmidy podléhají tzv. theta replikaci (název je odvozen od mechanismu replikace DNA podobné tomuto řeckému písmenu), menší plasmidy jsou replikovány mechanismem tzv. rolling-circle. Nejčastěji jsou přenášeny transdukcí nebo konjugací. Při vstupu do buňky hostitele

zůstane stafylokokální plasmid buď jako volná cirkulární DNA, nebo dojde k linearizaci a integraci do chromosomu.

Mezi důležité vlastnosti kódované geny na plasmidech je rezistence na antibiotika.

**Rezistence k beta-laktamům.** První masově používané antibiotikum užitá k léčbě byl penicilin. Už v roce 1945 (čtyři roky po zahájení jeho používání) se objevili první necitlivé kmeny stafylokoka a dnes je rezistentních téměř 90 % nemocničních kmenů.

Účinek beta-laktamových antibiotik nebo penicilinů je založen na inhibici membránově vázaných enzymů katalyzujících biosyntézu buněčné stěny. Tato inhibice je přímým důsledkem kovalentní vazby antibiotika k jednomu nebo více penicilin-senzitivních enzymů, označovaných jako penicillin-binding proteins (PBPs).

Rezistence je důsledkem hydrolýzy beta-laktamového kruhu penicilinu enzymem beta-laktamásoú a/nebo produkcí penicilin vázajícího proteinu PBP'2, který se k beta-laktamovým antibiotikům váže s mnohem nižší afinitou než původní protein (Ito et al., 2000).

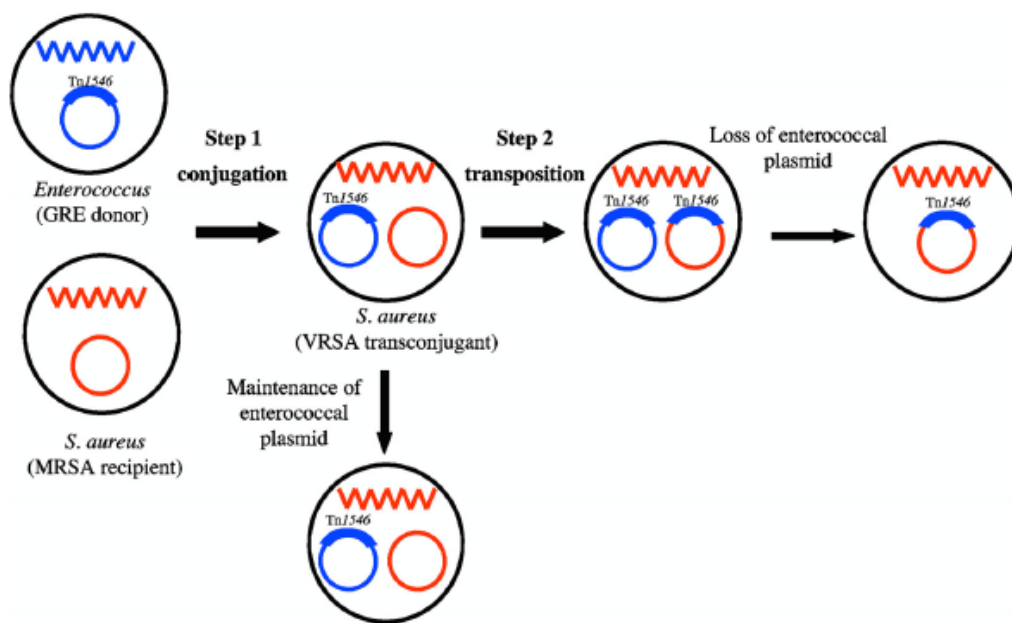
U *S. aureus* je beta-laktamása kódována genem *blaZ* a dále regulatorovými geny *blaI* a *blaR*.

Beta-laktamásové plasmidy trvale vykazují resistenci k jedné nebo více antimikrobiálním látkám, především iontům těžkých kovů jako jsou antimon, arsen, bismut, kadmium, olovo, rtuť a zinek, organortuťové sloučeniny jako octan fenylrtuti a/nebo různé biocidy a barviva jako jsou akriřavin, ethidium bromid a kvarterní amoniové sloučeniny (zprostředkovány *qacA* nebo *qacB*). Kromě toho některé plasmidy nesou determinanty rezistence k makrolidům/linkosamidům/streptograminu typu B (MLS), kódované genem *ermB* přítomném na Tn551, kyselině fusidové zprostředkované genem *fusB* nebo aminoglykosidům gentamicinu a kanamycinu pomocí genu *aacA-aphD* nacházejícím se na Tn4001 (Jensen, Lyon, 2009).

Existují čtyři evolučně odlišné rodiny beta-laktamásových plasmidů, označované písmeny  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  a  $\delta$ . Prototypem první z nich je pI524, což je plasmid o velikosti 32 kb kódující kromě produkce beta-laktamásy resistenci k anorganickým iontům. Prototypem rodiny  $\gamma$  je pI258, což je plasmid o velikosti 28 kb který vykazuje značnou homologii s plasmidem pI524 (rodina  $\alpha$ ), ale také nese transpozon Tn551 rezistence k erytromycinu. Plasmid pSK23 je  $\alpha/\beta$  rekombinantní plasmid, který nese *qacA* a Tn4001 (Jensen, Lyon, 2009).

**Rezistence k vankomycinu.** Glykopeptidy inhibují syntézu buněčné stěny gram-pozitivních bakterií vazbou k C-terminální D-Ala-D-Ala sekvenci pentapeptidového prekursoru peptidoglykanu a takto blokují transglykosylační a transpeptidační reakce (Périchon et al, 2009).

Citlivost *S. aureus* k vankomycinu je definována jako minimální inhibiční koncentrace MIC  $\leq 4$  mg/L. Ještě docela nedávno byly kmeny s MIC blízko hraniční hodnotě neznámé. Nicméně koncem 1980 byl poprvé popsán vankomycin rezistentní enterokok (VRE) a následná demonstrace in vitro, která potvrdila, že tato rezistence způsobená genem *VanA* je přenosná na *S. aureus*, vzbudila značné obavy a spekulace mezi klinickými mikrobiology pro možný výskyt klinických izolátů *S. aureus* s redukovanou citlivostí ke glykopeptidovým antibiotikům. Tyto obavy se naplnily, když byl v Japonsku roku 1997 ohlášen první případ klinické infekce, způsobené *S. aureus* se sníženou citlivostí k vankomycinu (Coia et al., 2006).



**Obrázek 5: Schematické znázornění přenosu Tn1546 z *Enterococcus* spp. do *S. aureus*** (Périchon et al., 2009)

Modré a červené vlnovky znázorňují chromozomální DNA enteroka a *S. aureus*. Modrá kružnice představuje transferovaný plasmid Tn1546, červená kružnice znázorňuje rezistentní plasmid stafylokoka. Získání Tn1546 v jednom kroku bylo pozorováno u VRSA-3, -5, -6 a ve dvou krocích u VRSA-1, -7, -8, -9 a -10.

Kmeny se střední rezistencí a sníženou citlivostí k antibiotiku jsou označovány jako VISA (vancomycin-intermediate *S. aureus*) a hVISA (heterorezistentní vancomycin-intermediate *S. aureus*). Mechanismus vzniku rezistence u těchto dvou kmenů není zcela znám. Předpokládá se, že molekula antibiotika nemůže proniknout do buňky, což

je dáno zesílením buněčné stěny způsobené nejspíše pozměněnou syntézou peptidoglykanu.

VanA-typ rezistence je nejběžnější a je pro něj typická i vysoká rezistence ke glykopeptidům a teicoplaninu. Vznikla pravděpodobně získáním transpozonu Tn1546 během koinfekce od vankomycin-rezistentního enterokoka. (VRE, obr. 3). Tento 11-kb mobilní genetický element, který patří do rodiny Tn3 transpozonů, kóduje devět polypeptidů, odpovědných za transpozici (produkty ORF1 a ORF2), regulaci exprese rezistence (VanR a VanS), syntézu modifikovaných peptidoglykanových prekurzorů vyúsťující v D-lac (VanH a VanA), hydrolýzu normálních prekurzorů (VanX a VanY) a neznámé funkce (VanZ) (Périchon et al., 2009). Mechanismus rezistence spočívá v tom, že vankomycin má k D-Ala-D-laktátu nízkou afinitu.

### 3.2.2. Bakteriofágy

Bakteriofágy (fágy) mají významný vliv na diverzitu stafylokoků i na jejich evoluci. Fágy dělíme do tří následujících skupin: lytické, mírné a chronické fágy. Lytické fágy patří do čeledi Myoviridae. Protože bakterie během uvolnění nových fágů kompletně lyzuje, byly používány ve fágové terapii. Bakterie infikovaná chronickým fágem naopak uvolňuje potomstvo do extracelulárního prostředí bez poškození hostitele, což bakterii umožní další růst a dělení. Mírné fágy, které řadíme do čeledi Siphoviridae, tvoří nejpočetnější skupinu. Mírné fágy jsou schopny lyzovat bakterii po proběhnutí infekce, ale typicky vytváří dlouhodobý vztah s hostitelkou buňkou, pomocí něhož se DNA fágu integruje do genomu stafylokoka jako profág (Malachova, DeLeo., 2010).

Fágy způsobují tzv. lyzogenní konverzi, která může být buď pozitivní, nebo negativní. Pozitivní lyzogenní konverze znamená, že bakterie exprimuje virulentní determinanty kódované bakteriofágem. Negativní lyzogenní konverze spočívá v tom, že integrace fága do DNA bakteriálního chromozomu má za následek inzerční inaktivaci určitého genu.

Fágy mohou přenášet geny pro resistenci k antibiotikům nebo kódují virulentní determinanty. Příkladem může být profág  $\phi$ Sa2mw nalezený na chromozomu kmene MW2, nesoucí geny *lukF-PV* a *lukS-PV*, kódující komponenty Pantanova-Valentinova leukocidinu, který má silný toxický účinek na lidské bílé krvinky (Baba et al., 2002). Rodina fágů  $\phi$ Sa3 byla identifikována ve všech sekvenovaných genomech *S. aureus* a ve všech případech je integrována do *hly* genu pro beta-hemolysin. Tyto profágy

typicky nesou dobře charakterizované virulentní faktory, jako je stafylokináza a proteiny superantigenních pyrogenních toxinů (Holden et al., 2004).

### 3.2.3. Ostrovy patogenity

Stafylokokové ostrovy patogenity (SaPIs) tvoří rozsáhlou a souvislou rodinu fágům příbuzných mobilních elementů, které jsou primárně nalézány u *S. aureus* a také u ostatních gram-pozitivních bakterií, zahrnujících non-*S. aureus* stafylokoky a laktokoky. Většina z nich nese geny pro jeden nebo více superantigenů a jsou primární příčinou jimi indukovaných onemocnění, obzvláště syndromu toxického šoku (Tormo et al., 2008). Mají velikost přibližně 14-17 kb a jsou integrovány do specifických míst na chromozomu. Nesou přibližně polovinu toxinů a virulentních faktorů *S. aureus*, což je významné pro patogenitu této bakterie. Příkladem může být kmen Mu50, pro který je charakteristická přítomnost genu *fhuD*, kódující protein pro příjem hydroxamátu železitého. MW2 nese dvě jedinečné alelické formy enterotoxinu *sel2* a *sel4*, které přispívají ke zvýšení virulence (Shittu et al., 2007).

### 3.2.4. Genomové ostrovy

U kmenů *S. aureus*, jejichž genom byl sekvenován, byly nalezeny tři typy genomových ostrovů, označované jako  $vSA\alpha$ ,  $vSA\beta$  a  $vSA\gamma$ . Na ostrovech  $vSA\alpha$  a  $vSA\beta$  se nachází geny RM typu I, kódující pouze podjednotky *hsdS* a *hsdM*, dostačující pro methylační aktivitu, ale nikoliv podjednotku *HsdR*, nutnou pro endonukleázovou aktivitu (Kuroda et al., 2001).

Na základě složení genomových ostrovů se předpokládá, že původně šlo o mobilní elementy získané horizontálním genetickým přenosem (HGT). Typ I restriktivně-modifikačního systému (RM systém) je kódován genem *sauIhsdR* na chromozomu a dvěma kopiemi *sauIhsdM* a *sauIhsdS* na genomových ostrovech  $GI\alpha$  a  $GI\beta$ . RM systém slouží jako ochrana bakteriální buňky před lýzou fágem a stejně tak přísně kontroluje všechny hlavní mechanismy podílející se na příjmu cizí DNA, jmenovitě transdukcii, konjugaci a transformaci (Waldron a Lindsay, 2006).

Na  $vSA\alpha$  jsou lokalizovány geny pro lipoprotein (*lpl*) a stafylokokální superantigenům-podobné geny (*ssl*). Ostrov  $vSA\beta$  (známý také jako SaPI<sub>n3/m3</sub>) kóduje bakteriocidin, enterotoxiny, hyaluronovou lyázu a seskupení genů serinových proteás. Třetí stafylokokální genomový ostrov,  $vSA\gamma$ , obsahuje geny kódující beta-typ phenol-

soluble moduliny a seskupení *ssl* genů podobných těm, které jsou přítomny uvnitř vSA $\alpha$  (Malachowa, DeLeo, 2010).

### 3.2.5. Inzerční sekvence a transpozony

Tyto mobilní elementy jsou v genomu *S. aureus* široce distribuovány a předpokládá se, že zvyšují jeho adaptibilitu. Transpozony obsahují převážně geny kódující resistenci k antibiotikům. Příkladem může být Tn554, který kóduje resistenci k MLS (makrolidy, linkosamidy, streptogramin B) antibiotikům. Tento transpozon byl nalezen v genomu kmenů N315, Mu50 a MRSA252. V genomu Mu50 byl dále nalezen transpozon Tn5801 s genem *tetM*, kódujícím resistenci k tetracyklinovým a aminocyklinovým antibiotikům.

Bylo by rozumné předpokládat, že nemocniční prostředí je nepříznivé pro přežití mikroorganismů, protože jsou neustále vystaveny působení rozličných antiseptik a antibiotik. Četné inserce transpozonů a inzerčních sekvencí nalezené v genomech HA-MRSA by mohly být dokladem evoluční zkoušky, kterou prošly (Baba et al., 2002).

### 3.2.6. Stafylokokové chromozomové kazety (SSC)

Stafylokokové chromozomové kazety (SCCs) jsou mobilní genetické elementy umístěné blízko replikačního počátku *S. aureus* a nesou různé geny, včetně genů kódujících rezistenci nebo virulenci.

V roce 1960 bylo poprvé klinicky použito semisyntetické antibiotikum methicillin a již rok poté se objevily první kmeny *S. aureus* vykazující rezistenci. Bylo prokázáno, že kmeny *S. aureus* citlivé k methicillinu (MSSA) se stávají rezistentními (MRSA) získáním stafylokokové chromozomové kazety *mec* (SCC*mec*), což je element nesoucí gen *mecA*, zodpovědný za rezistenci k methicillinu (Chongtrakool et al., 2006).

SCC*mec* element obsahuje komplex genů *mec* (*mecA* gen a jeho regulátory) a komplex genů *ccr*, které kódují rekombinázy zodpovědné za mobilitu SCC*mec* (Ito et al., 2004). U *S. aureus* byly popsány tři hlavní třídy *mec* komplexů: třída A obsahuje kompletní *mec* komplex (*mecI-mecR1-mecA*) a třídy B a C mají *mecA* regulátorové geny přerušeny inzerčními sekvencemi ( $\psi$ IS1272- $\Delta$ mecR1-*mecA* a IS431- $\Delta$ mecR1-*mecA*), (Oliviera et al., 2006).

Části jiné než komplexy genů *mec* a *ccr* jsou označovány jako J (junkyard) regiony. J regiony obsahují různé geny nebo pseudogeny, jejichž přítomnost se nezdá být pro bakteriální buňku esenciální nebo užitečná; důležitou výjimkou jsou geny rezistence pro

non-beta-laktamová antibiotika nebo těžké kovy, z nichž některé jsou odvozeny z plasmidů nebo transpozonů (Shittu et al., 2007).

Tři třídy komplexů *mec* a čtyři odlišné *ccr* alotypy definují v současné době osm SCC*mec* typů (I-VIII). Zajímavé je, že kmeny CA-MRSA typicky nesou elementy SCC*mec*IV, V nebo VII, zatímco kmeny HA-MRSA typicky obsahují větší elementy SCC*mec*I, II, III, VI nebo VIII, které mohou navíc k *mecA* také kódovat determinanty rezistence (Malachowa, DeLeo, 2010).

Rezistence k beta-laktamům u kmenů MRSA je způsobena produkcí pozměněného penicilin vázajícího proteinu PBP 2' (nebo PBP 2a), který na rozdíl od standardní sady PBPs (PBP 1-4) u *S. aureus* má nápadně sníženou afinitu k beta-laktamovým antibiotikům (Katayama et al., 2000). PBP 2' je transpeptidáza kódovaná genem *mecA*, která nahrazuje při stavbě buněčné stěny původní PBP. Za normální situace dochází k tomu, že beta-laktamová antibiotika se navážou na PBP a výsledkem je inhibice procesu tvorby příčných vazeb mezi peptidoglykany bakteriální buněčné stěny. PBP 2' vykazuje vůči beta-laktamovým antibiotikům nižší afinitu a nedochází tedy k jeho inhibici.

Komplex genů *mecA* je velmi rozšířen jak mezi druhy *S. aureus*, tak mezi jinými druhy stafylokoků kolektivně označovanými jako koaguláza-negativní stafylokoky. Proto se spekulovalo, že *mec* by mohl být volně přenosný mezi stafylokokovými druhy. Klasické genetické experimenty ukázaly, že *mec* není přenosný mezi kmeny *S. aureus* konjugací, ale je přenosný pomocí bakteriofágem zprostředkované generalizované transdukce (Ito et al., 1999).

## **IV. MRSA**

### **4.1. Definice MRSA**

Jako MRSA (meticillin resistantní *S. aureus*) označujeme kmeny *S. aureus*, které jsou rezistentní k izoxazoylovým penicilinům jako je methicillin, oxacillin a fluoxacillin. MRSA jsou zkrříženě rezistentní ke všem v současné době oficiálně povoleným beta-laktamovým antibiotikům (Nathwani et al., 2008). Methicillin, což je penicilináza-rezistentní semisyntetické antibiotikum, bylo zavedeno v roce 1961 a již za méně než rok byl ohlášen výskyt MRSA. MRSA je v současné době v USA příčinou

více než 50 % izolátů *S. aureus* na jednotkách intenzivní péče a v roce 1982 byl zaznamenán výskyt mimo nemocniční prostředí mezi uživateli drog v Detroitu.

Definice CA-MRSA (community acquired MRSA) a HA-MRSA (hospital acquired MRSA) jsou původně založeny na epidemiologických rysech, ale jsou důležité i mikrobiologické znaky. Tyto kmeny se od sebe navzájem liší a rozeznáváme je na základě epidemiologických, klinických a laboratorních kritérií. Pacient MRSA obvykle získá během pobytu v nemocničním zařízení (ve Velké Británii tvoří v současné době nákaza touto cestou většinu) a toto může být spojeno se vznikem množství závažných infekcí a ohrožení zdravotního stavu pacienta.

## 4.2. Komunitní MRSA (CA-MRSA)

Jako CA-MRSA označujeme kmeny, které byly izolovány od pacientů v ambulantní péči nebo komunitě, nebo izolovány od pacientů do 48 hodin od příjmu do nemocničního zařízení. Typické je, že u těchto pacientů postrádáme jakoukoliv předešlou infekci MRSA, pobyt v nemocnici, dialýzu nebo pobyt v zařízení pro dlouhodobou péči v průběhu předešlého roku (Tab. 2). Bylo prokázáno, že u kmenů CA-MRSA se vyskytují dva unikátní znaky: SSC*mec* typu IV a gen pro PVL. Ve Velké Británii je celková prevalence kmenů *S. aureus*, které nesou gen pro produkci PVL, asi < 2 % a jsou to převážně MSSA. Ačkoliv celková prevalence CA-MRSA je v současné době nízká (má se za to, že je to < 0,5 % MRSA), je zde zřejmý důkaz že narůstá, především v USA, Kanadě a Austrálii (Nathwani et al., 2008).

Kmeny nesoucí SSC*mec* typu I až III souvisí převážně s nemocničním prostředím. Naopak, u kmenů s typem IV v jeho jednoduché zkrácené podobě se předpokládá, že uděluje kmenu výhodu pro přežití v komunitním prostředí, kde je selektivní antimikrobiální tlak mnohem nižší než v nemocničním prostředí. Nedávno byl popsán SSC*mec* typu V u kmene *S. aureus*, který se choval podobně jako kmeny s typem IV a způsoboval typické CA-MRSA infekce (Lo, 2007). Infekce v komunitě způsobené methicillin-rezistentním *S. aureus* jsou tvořeny uniklými nozokomiálními izoláty (především mezi lidmi s tradičními rizikovými faktory pro MRSA) a novými izoláty z komunity, z nichž ty posledně jmenované jsou považovány za skutečné CA-MRSA. Bez ohledu na původ, narůstající rezervoár MRSA v komunitě představuje obavu vzbuzující pochybnosti o kontrole a léčbě infekcí způsobených MRSA (Kowalski et al.,



2005). MRSA se vyskytuje globálně, epidemická je v USA, kde je většina infekcí způsobena klonem USA300. CA-MRSA infekce v jiných zemích nedosahují srovnatelných hodnot, vyvolávají méně vážné projevy choroby a jsou obvykle způsobeny klony nepříbuznými s USA300. Vzhledem ke snadnému přenosu USA300 je možné, že se tento klon stane celosvětovým problémem (Li et al., 2009).

Při izolaci jakéhokoliv kmene MRSA s podezřením na CA-MRSA jsou pro potvrzení diagnózy požadována další laboratorní vyšetření, kam patří typování SCC*mec*. To je prováděno vyšetřením třídy genového komplexu *mec* a typu genového komplexu *ccr* pomocí PCR. Pro další bližší určení CA-MRSA kmenů lze použít různé metody, zahrnující pulzní gelovou elektroforézu (PFGE), MLST a určení proteinu A (*spa*). Tyto metody jsou používány, pokud je nutné určit vzájemný epidemiologický vztah mezi kmeny CA-MRSA izolovaných z různých zdrojů, jako třeba při propuknutí epidemie (Lo et al., 2007).

### **4.3. Nozokomiální MRSA (HA-MRSA)**

Jako HA-MRSA označujeme kmeny, které se přenášejí mezi jedinci, kteří byli v kontaktu s nemocničním zařízením. Odhaduje se, že 60 % zdravotních sester je nosičkami MRSA (nosní nebo kožní nosičství), a ty pak mohou být při nedostatečné hygieně zdrojem nákazy pro pacienty. Infekce si může projevit již za pacientova pobytu v nemocničním zařízení nebo až po jeho propuštění. Nicméně hranice mezi HA-MRSA a CA-MRSA se stává neostrou, což je způsobeno pohybem pacientů a infekcí mezi nemocničními zařízeními a komunitou, a také nozokomiálními epidemiemi CA-MRSA, které následují po přijetí kolonizovaného nebo infikovaného pacienta (Nathwani et al., 2008). V nemocnicích se nacházejí pacienti s otevřenými ranami nebo používající invazivní přístroje a s oslabeným imunitním systémem, kteří jsou proto ve zvýšeném riziku nákazy tímto stafylokokem. Důležité je proto také důsledné dodržování hygieny personálu a sanitačních procedur, v opačném případě může dojít k autoinfekci personálu nebo přenosu nákazy na pacienta.

**Tabulka 1: Charakteristiky CA-MRSA a HA-MRSA** (upraveno podle Nathwani et al., 2008 a Kowalski et al., 2005)

Parametr	HA-MRSA	CA-MRSA
<b>Typický pacient</b>	pokročilejší věk, oslabení nebo chronicky nemocní, pacienti podstupující hemodialýzu/peritoneální dialýzu	mladí, zdraví lidé: studenti, profesionální sportovci a osoby ve vojenské službě, nitrožilní uživatelé drog, vězni, homosexuálové
<b>Místo infekce</b>	často bakteriémie bez zřejmého ohniska infekce-chirurgické rány, otevřené vředy, močové katetry. Můžou způsobit pneumonii asociovanou s ventilátorem.	predominantně infekce kůže a měkkých tkání, dochází k celulitidě a abscesům. Může způsobit nekrotizující CA-pneumonii, septický šok nebo infekce kostní dřevě a kloubů.
<b>Typický pacient</b>	uvnitř nemocničních zařízení; malé šíření v Domácnosti	získaný v komunitě. Může se šířit v rodinách a sportovních týmech.
<b>Zařízení</b>	zařízení pro hospitalizované pacienty	ambulantní pacienti nebo komunita
<b>Anamnéza</b>	v minulosti kolonizace MRSA, infekce, nedávná operace; přijetí do nemocnice nebo pečovatelského ústavu, užívání antibiotik; dialýza, permanentní katetr	žádný signifikantní kontakt se zdravotnickým zařízením
<b>Virulence kmene</b>	šíření v komunitě je omezené, PVL geny obvykle chybí	snadné šíření v komunitě, PVL geny často přítomny, predispozice k nekróze měkkých tkání nebo infekcím plic
<b>Citlivost k antibiotikům</b>	často multirezistentní s výsledkem, že volba účinné látky je často velmi Omezena	obvykle citlivé k více antibiotikům než HA-MRSA
<b>Přidružené klinické Syndromy</b>	nozokomiální pneumonie, nozokomiální nebo s katetrem související močové infekce, infekce krevního oběhu	infekce kůže a měkkých tkání (furunkly, kožní abscesy), postinfluenzní nekrotizující pneumonie

**Tabulka 2: Citlivost k antimikrobiálním látkám (%) u kmenů CA-MRSA a HA-MRSA** (upraveno podle Kowalski et al., 2005) \*

Antibiotikum	CA-MRSA	HA-MRSA
Oxacilin	0	0
Ciprofloxacin	79	16
Klindamycin	83	21
Erythromycin	44	9
Gentamycin	94	80
Rifampin	96	94
Tetracyklin	92	92
Trimethoprim-sulfamethoxazol	95	90
Vankomycin	100	100

\* Údaje o rezistenci se liší podle geografické oblasti

#### 4.4. Nosičství MRSA

Jak již bylo řečeno v úvodu, *S. aureus* kolonizuje lidskou kůži (perineum, třísla, axily, hýždě) a sliznici, což je významné především u nosních dutin a tato skutečnost je signifikantním rizikovým faktorem pro vznik infekce způsobené touto bakterií. Protože

nosičství je asymptomatické a k přenosu může dojít od jakéhokoliv jednotlivce kolonizovaného MRSA, monitorování frekvence výskytu MRSA v populaci může být nápomocné předběžně odhadnout potenciální možnost šíření MRSA v komunitě (Leman et al., 2004). Nebezpečným zdrojem šíření je chronický nosič, který se kolonizoval nebo prodělal infekci při pobytu v nemocnici. Mimo výše uvedené anatomické lokality je nosičství spojeno s kolonizací chronických ran a defektů (ischemické defekty, dekubity apod.) nebo chronických kožních lézí. Nosičství MRSA může přetrvávat týdny, měsíce i roky, může být intermitentní, a tedy mikrobiologicky obtížně prokazatelné (Bergerová et al., 2006).

Nosní dutiny se ukázaly být hlavním rezervoárem této bakterie, a to jak u dospělých, tak u dětí. K přenosu může dojít mnoha různými cestami, nejčastěji však jako vektor slouží kontaminované ruce. Kolonizovaný jedinec je pak sám ohrožen infekcí nebo slouží jako zdroj pro další šíření bakterie především prostřednictvím kontaminovaných rukou nebo povrchů vyšetřovacích a jiných pomůcek (stetoskopy, bronchoskopy apod.). Ačkoliv kontaminace nemocničního vybavení může hrát za specifických okolností důležitou roli, pacienti kolonizovaní nebo infikovaní MRSA představují její hlavní rezervoár. Studie v průběhu epidemie ukázaly, že rutinní odběr vzorků pro identifikaci MRSA z obvyklých klinických míst může být vhodný pro záchyt nových případů. Nicméně v oblastech kde je MRSA endemická, je hlavním důvodem přispívajícím k jejímu šíření přenos z pacientů mezi odděleními nebo i nemocnicemi a opětovné přijetí pacienta, protože značné procento pacientů může být v době přijetí kolonizováno (Girou et al., 1998).

Jedinci kolonizovaní *S. aureus* (CA-MRSA a HA-MRSA) jsou náchylní ke komplikovanému klinickému průběhu choroby vzniklé z endogenního zdroje této bakterie. Zhoršený klinický průběh je následkem zvýšené rezistence izolátů *S. aureus* a také toho, že bakterie může způsobit hluboce uložené infekce a sepsi. Obtížnost léčby těchto infekcí a sepse vyžaduje urgentní zásah k prevenci dalšího šíření MRSA (Pathak et al., 2010).

#### **4.4.1. Faktory kolonizace MRSA**

Existují faktory, které zvyšují riziko kolonizace touto bakterií. Patří k nim především přítomná infekce MRSA v minulosti, pobyt na JIP, domácí ošetrovatelská péče, chirurgické výkony (kanyly), léčba širokospektrými antibiotiky více než 3x v posledním roce, kontakt s infikovaným či kolonizovaným jedincem, diabetes mellitus a jiné

imunokompromitující choroby (Kratochvíl et al.) spolu s chronickou renální insuficiencí.

Právě u pacientů podstupujících hemodialýzu a peritoneální dialýzu pro chronické renální selhání je infekce udávána jako hlavní příčina morbidity a mortality. *S. aureus* je u těchto pacientů hlavním patogenem a kolonizace jím je spojena se čtyřikrát vyšším rizikem infekce cévního řečiště (Lu et al., 2007). Proto je doporučována dekontaminace dutin. K tomuto účelu je pravděpodobně nejlepší látkou mupirocin, ačkoliv jeho rozsáhlé používání by mohlo vést ke vzniku mupirocin-rezistentních kmenů *S. aureus*. Ve Francii je k tomuto účelu také doporučovaná kyselina fusidová, přestože jejím užitím se také zvyšuje riziko vzniku rezistentních kmenů (Durupt et al., 2007).

#### 4.4.2. Sledování výskytu MRSA

Pro sledování výskytu MRSA je vyžadováno zavedení kontrolních postupů, především na rizikových odděleních, zahrnujících rychlou detekci pomocí screeningu každého pacienta s rizikovými faktory při přijetí do nemocnice, identifikaci nosičů, důkladné mytí rukou personálu, izolaci kolonizovaných pacientů a pacientů s infekcí, eradikaci MRSA pokud je to možné, s použitím antiseptických prostředků (Kac et al., 2000).

**Míra rizika výskytu MRSA** se liší mezi jednotlivými medicínskými obory a pro jednodušší orientaci ji můžeme rozdělit následujícím způsobem (podle SPNN, 2010):

- **Riziková skupina 1-** skupina s vysokým rizikem výskytu MRSA. Zahrnujeme do ní jednotky intenzivní péče, popáleninová a transplantační oddělení, kardiiovaskulární chirurgii a neurochirurgii, ortopedii, traumatologii a specializovaná centra se širokou spádovou oblastí.
- **Riziková skupina 2-** skupina představující střední riziko výskytu MRSA, do níž řadíme jednotky všeobecné chirurgie, urologie, neonatologie, gynekologie a porodnictví, dále dermatologii a ORL.
- **Riziková skupina 3-** do skupiny s nízkým rizikem výskytu MRSA patří oddělení standardní lůžkové péče interních oborů, neurologie a pediatrie.
- **Riziková skupina 4-** u těchto oddělení hrozí specifické riziko výskytu MRSA, zahrnujeme do ní jednotky psychiatrie a léčebny pro dlouhodobě nemocné a následnou péči. Na tato oddělení mohou být přijímáni chronicky kolonizovaní pacienti, kteří mohou být zdrojem multirezistentních kmenů směrem k zařízením poskytujícím akutní péči (překlady osídlených pacientů). U většiny pacientů uvedených oborů existuje

minimální riziko vzniku závažných, klinicky manifestních infekcí vyvolaných MRSA. Pravděpodobnost detekce MRSA je proto minimální, protože převážně nejsou mikrobiologicky vyšetřováni z klinické indikace.

#### **4.4.3. Screening MRSA**

Aktivní surveillance (nebo screening) pro nosiče MRSA spočívá v systematickém vyšetřování za účelem detekce mukokutánních nosičů bez klinických příznaků infekce mezi ostatními jedinci. Tyto postupy jsou nezbytnou součástí strategií zabývajících se kontrolou MRSA na jednotkách intenzivní péče a jsou také potenciálně užitečné v jiných zdravotnických zařízeních, ať už s endemickým nebo sporadickým výskytem MRSA (Struelens et al., 2009). Screening nám tedy slouží ke dvěma hlavním účelům - časná identifikace nosiče nám umožňuje pokusit se o jeho dekontaminaci a zároveň slouží jako prevence sekundární infekce nosiče. Z finančních, logistických a mnoha dalších důvodů nemohou být screeningu podrobeni všichni přijatí pacienti, ale pouze selektovaná skupina. Bohužel, tato cílová skupina nebyla zatím adekvátně definována a tak se nabízí dva hlavní přístupy.

Tím prvním je aplikace skóre, které bylo sestaveno na základě studií zabývajících se rizikovými faktory. Před odběrem vzorku je nutno sestavit pro každého pacienta individuálně rizikový profil podle jeho předchozí zdravotní anamnézy, což je samo o sobě velmi náročné a proto se tento přístup velmi neuplatňuje.

Druhou možností je zaměřit se přímo na oddělení pečující o pacienty, kteří jsou ve zvýšeném riziku pro přenos MRSA a/nebo pro vznik invazivní infekce.

Podle doporučeného postupu SZÚ ČR (Bergerová et al., 2006) se screening při příjmu provádí u pacientů:

- přeložených z oddělení zařazených do rizikové skupiny 1 a 2 (viz výše)
- přeložených ze zdravotnických zařízení s vysokým výskytem MRSA (pokud je to známo)
- přeložených ze zdravotnických zařízení nebo pocházejících z geografických oblastí s vysokým výskytem MRSA
- s anamnézou pobytu na rizikových odděleních, ve zdravotnických zařízeních nebo v geografických lokalitách s vysokým výskytem MRSA v posledním roce (pokud je to známo)
- s prokázaným nosičstvím nebo infekcí MRSA v anamnéze

- přijatých na JIP v rámci rutinního screeningu (jsou dále pravidelně monitorováni, obvykle 2-3krát týdně)
- přijatých k plánovanému chirurgickému výkonu (průkaz MRSA je součástí předoperačního vyšetření)

Dále pak screening provádíme u pacientů, u kterých:

- došlo k přímému kontaktu s MRSA, zejména jsou-li umístěni na jednom pokoji s pozitivním nemocným (při sporadickém výskytu se vyšetřují bezprostředně po zjištění a poté opakovaně s týdenním odstupem)
- došlo k přímému kontaktu s MRSA, zejména jsou-li umístěni na jednom pokoji s pozitivním nemocným (při epidemickém výskytu se vyšetřují dvakrát týdně do zvládnutí epidemie, pacienti v nepřímém kontaktu se vyšetřují jednou týdně do zvládnutí epidemie)
- je ze závažných zdravotních důvodů nutný přesun z oddělení zasaženého epidemickým výskytem na jiné oddělení (po přeložení následuje dvakrát po sobě vyšetření v odstupu tří dnů)
- je prokázán nález MRSA (screening je individuální a zaměřen na průkaz osídlení v epidemiologicky rizikových anatomických lokalitách)

Při příjmu pacienta se odebírají minimálně dva vzorky:

- výtěr z nosu, případně z krku
- stěr z perinea
- výtěry z potenciálně infekčních ložisek (rány, cévkovaná moč)

V zemích, kde jsou užívány agresivní strategie pro vyhledávání a eradikaci MRSA, jsou zdravotničtí pracovníci, jež byli v kontaktu s pacienty s MRSA, rutinně podrobováni screeningu. V jiných zemích je jejich screening prováděn až za situací, ve kterých není identifikován index case (první případ záchytu MRSA v epidemii MRSA) a u kterých přenos pokračuje navzdory izolaci a bariérovým opatřením (Grundmann, 2006). Odběr vzorků se provádí před započítáním směny standardním způsobem.

U nemocničního personálu se hovoří o třech typech nosičství MRSA: non-, persistentní a chronické nosičství a dále ještě tzv. přechodné nosičství. Personál, u kterého je zjištěna pozitivita MRSA, musí při epidemiologicky rizikových činnostech používat

obličejovou roušku, kterou nesmí opětovně nasazovat a musí se vyvarovat kontaktu nosu rukama.

**Tabulka 3: Rizikové faktory pro MRSA u zdravotních pracovníků** (zpracováno dle Albrich et al., 2008)

<b>Přidružená nemoc</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Kožní léze (dermatitis, ekzém, psoriasis, pemphigus)</li> <li>● Sinusitis, Rhinitis (chronická, alergická, infekční)</li> <li>● Chronická otitis externa</li> <li>● Nedávné infekce močových cest</li> <li>● Cystická fibróza</li> </ul>
<b>Jiné endogenní faktory</b> <b>Faktory spojené s prací</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Nedávné užití antibiotik</li> <li>● Předěšlá práce v cizině</li> <li>● Pracovní zkušenosti (studentský zdravotní pracovník, déletrvající služby)</li> <li>● Oblast (chirurgie, zařízení pro dlouhodobou péči)</li> <li>● Zaměstnání v oblasti s vysokým výskytem MRSA pozitivních pacientů</li> <li>● Úzký kontakt s pacienty (převlékání, převazování ran)</li> <li>● Malá pozornost věnovaná infekční kontrole (špatná hygiena rukou)</li> <li>● Vysoká pracovní zátěž</li> </ul>
<b>Perzistence MRSA navzdory eradikaci</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Přidružené nemoci: kožní léze</li> <li>● Kolonizované místo: hltan, rektum, perineum, kůže</li> <li>● Kontaminace domácnosti a okolí</li> <li>● Rezistence MRSA k Mupirocinu</li> </ul>
<b>Relaps po eradikaci</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Kolonizované místo: hltan, rektum, genitálie (vagina, předkožka), ušní lalůčky</li> <li>● Infekce: infekce horních dýchacích cest, chronická otitis externa</li> <li>● Rezistence MRSA k Mupirocinu</li> </ul>

## 4.5. Péče o MRSA pozitivní pacienty

### 4.5.1. Hlášení MRSA

Informace o pozitivitě pacienta může pocházet z mikrobiologické laboratoře nebo z předchozí zdravotnické dokumentace při příjmu do nemocnice. Vlastní činnost zajišťuje tým pro kontrolu infekcí (TKI), jehož členy jsou dle místních podmínek epidemiolog (hygienik), klinický mikrobiolog a epidemiologické sestry. Dalšími členy mohou být dle spektra poskytované péče konkrétního zdravotnického zařízení zástupci interních a chirurgických oborů, intenzivista a infektolog (SPNN, 2010). Ihned po nahlášení zjištěné positivity MRSA dochází k úpravě režimu na oddělení a pacient je izolován. K povinnostem TKI patří i uchovávání záznamů a vedení registru MRSA pozitivních pacientů.

#### 4.5.2. Opatření

S pacientem je nakládáno v souladu s typem zařízení, ve kterém je ošetřován, podle dostupných možností a rizika, které představuje pro ostatní. Nemocný je izolován na samostatný pokoj s WC a sprchou, pokoj je označen jako izolační. Ke vchodu do pokoje se položí rohož napuštěná 0,5 % Persterilem. Dle možností je k péči o pacienta vyčleněna jedna sestra (Šenkýřová, 2006). Pokud není možná z jakéhokoliv důvodu izolace na vlastním oddělení, je další možností využití lůžkové kapacity infekčního oddělení nebo lze izolaci zajistit vytvořením vyčleněných lůžek. Pro tyto pacienty je vyhrazen zvláštní personál a jsou ošetřováni pomocí bariérového ošetrovacího režimu. Tento režim upravuje jednak chování personálu, ale i péči o nástroje a pomůcky, zásady úklidu, dezinfekce a návštěv.

Izolační režim je možno podle Beneše a Unzeitigové (Beneš, Unzeitigová, 2006) zrušit tehdy, jestliže jsou kompletně negativní 3 sady po sobě následujících odběrů. Přitom mezi odběrem jednotlivých sad musí uplynout alespoň 24 hodin. Každá sada přitom zahrnuje výtěr z nosu; výtěr z krku; výtěry ze všech ran, respektive kožních a slizničních defektů; výtěry ze všech míst, kde jsou porušeny fyziologické bariéry (permanentní močový katétr, kolostomie, epicystostomie atd.); výtěry ze všech míst, odkud byl v minulosti rezistentní stafylokok izolován; u pacientů upoutaných na lůžko rovněž výtěr z perinea a kultivace moči. Pacient nesmí být léčen žádnými antibiotiky ani lokálními dezinfekčními prostředky účinnými vůči MRSA v období minimálně 48 hodin před každým z odběrů. I nadále však pacient zůstává pod dohledem a je u něj pravidelně prováděn screening.

**Bariérový režim** (upraveno dle Bergerové et al., 2006)

##### a) Zdravotnický personál:

- si musí být vědom toho, jak se bakterie přenáší a jak jejímu šíření předcházet
- musí důsledně provádět hygienickou dezinfekci rukou před a po kontaktu s pacientem
- zásady bariérového režimu musí důsledně dodržovat konsilionáři, fyzioterapeuti a další pracovníci zdravotnického zařízení, včetně technického personálu
- podávání léků, ošetření a převazy jsou zařazeny na oddělení na konec pořadí, stejně jako vizita izolačního pokoje
- jsou užívány standardní preventivní opatření, personál používá osobní ochranné



pomůcky - ochranný plášť, rukavice a ústenku při každém vstupu do pacientova pokoje

- chorobopis a další pacientovy záznamy musí být umístěny mimo izolační pokoj

#### **b) Pomůcky a nástroje**

- jsou vyčleněny zvláště pro každého nemocného
- po použití jsou přímo na pokoji uloženy do dekontaminační nádoby s dezinfekčním roztokem, poté důsledně dezinfikovány nebo sterilizovány

#### **c) Úklid a dezinfekce**

- úklid izolačního pokoje se provádí důkladně omytím ploch a povrchů dezinfekčním přípravkem s deklarovaným účinkem proti MRSA a zařazuje se až na konec úklidu oddělení
- použité lůžkoviny se odkládají do vyznačených nádob přímo na pokoji, stejně jako veškerý jiný použitý materiál a je s nimi nakládáno jako s infekčním odpadem v souladu s postupy daného zařízení
- po propuštění pacienta je pokoj dezinfikován v souladu s postupy daného zařízení, včetně dezinfekce lůžka a ostatního vybavení pokoje

#### **d) Návštěvy**

- musí být dodrženy pravidla bariérového režimu

### **4.5.3. Hygiena rukou**

Na povrchu kůže se vyskytuje rezidentní a tranzientní mikroflóra. Rezidentní flóra je trvalá a nelze ji odstranit mechanicky. Tvoří ji *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, papillomaviry, herpesviry apod. a za normálních okolností není patogenní. Tranzientní flóra odráží mikrobiální zatížení prostředí, přežívá omezenou dobu a lze ji odstranit dezinfekcí. Při zanedbání hygieny je častou příčinou nozokomiálních nákaz.

Ruce personálu bývají nejčastějším vektorem pro přenos MRSA. Proto je správně provedená hygiena klíčovým postupem pro prevenci a kontrolu výskytu této bakterie. Směrnice jednotně doporučují mytí rukou personálu pokud možno mýdlem s antimikrobiálním účinkem a poté vetření alkoholového přípravku do suchých rukou po každém kontaktu s pacientem. Jelikož ruce jsou kontaminovány i po nasazení rukavic, doporučuje se hygiena rukou i po jejich odložení (Grundmann, 2006).

Rozlišujeme **mechanické mytí rukou** (MMR), které slouží k mechanickému odstranění nečistoty pomocí tekutého mycího přípravku. Provádí se:

- před a po kontaktu s pacientem
- po odložení rukavic
- při jejich viditelném znečištění
- před manipulací s jídlem, léky apod.

**Hygienická dezinfekce rukou** (HDR) má za úkol odstranit zmiňovanou tranzientní mikroflóru. Provádí se pomocí alkoholového dezinfekčního prostředku, který se po dobu 30-60 sekund vtírá do suché pokožky. Provádí se:

- při bariérovém ošetrovacím režimu
- po kontaminaci rukou biologickým materiálem. Po opakované dezinfekci rukou se doporučuje použití zvláčňujícího krému, který chrání pokožku před nadměrným vysycháním.



**Obrázek 6: Nejčastější chyby při dezinfekci rukou** (červeně: části nejčastěji opomíjené při mytí rukou, modře: méně často opomíjená místa, růžově: místa, která při mytí rukou nejsou opomíjena) ([http://www.leics.gov.uk/index/social\\_services/adults/partners/handwashing.htm](http://www.leics.gov.uk/index/social_services/adults/partners/handwashing.htm))

#### 4.5.4. Eradikace MRSA

Většinou se provádí pouze krátkodobá eliminace nosičství, jejíž indikací je riziková procedura (např. operace) a hrozí vznik život ohrožujících komplikací v důsledku přítomnosti MRSA. Používá se mupirocin nebo jiné látky s deklarovaným účinkem proti MRSA (např. koupel ve 4 % chlorhexidinu nebo 2 % triclosanu pro krátkodobou dekolonizaci kůže). Koupele jsou prováděny pouze v přísně indikovaných případech. V žádném případě není vhodné k účelu eradikace používání vankomycinu, které nejen že se májí účinkem, ale pouze zvyšuje pravděpodobnost vzniku rezistentních kmenů.

Většinou stačí aplikovat malé množství mastičky do nosních dutin 2 – 3krát denně po dobu pěti dnů. Eradikace MRSA z dekubitu nebo chronických ran je obtížná a je zpochybňován význam terapie u těchto pacientů. Některé zdroje doporučují lokální aplikaci mupirocinu po dobu deseti dnů (Boyce, 1998).

Eradikace nosního nosičství se zdá být poměrně jednoduchá, ale závažnější klinický význam může mít MRSA přítomná v gastrointestinálním traktu. Střevo může být zdrojem rekolonizace a potenciálním zdrojem nozokomiálních infekcí (Leszczyński, 2006).

## **V. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA**

### **5.1. Mikroskopie**

Nejjednodušší a nejrychlejší orientační metodou je konvenční mikroskopie za použití imerzního objektivu, kdy se *S. aureus* jeví jako gram-pozitivní koky rostoucí ve shlucích.

### **5.2. Kultivace**

Stafylokoky je možno diagnostikovat kultivační metodou, charakteristický je jejich růst na krevním agaru (KA), kde po 18-24 hodinách inkubace ve 37 °C vytváří charakteristické smetanové až zlaté (aureus = zlatý) kolonie se zónou úplné hemolýzy. Některé MRSA kmeny mají atypickou morfologii kolonií připomínající svým bělavým zbarvením bez hemolýzy spíše koaguláza-negativní stafylokoky.

Ke zvýšení senzitivity vyšetření se využívá schopnosti *S. aureus* selektovat z heterorezistentní populace MRSA buňky při růstu v média se zvýšeným obsahem chloridu sodného. Proto se při screeningovém vyšetření na MRSA může využít pomnožení klinického materiálu s v bujónu se zvýšeným obsahem NaCl.

Ke screeningovému vyšetření MRSA se využívají chromogenní půdy s ATB, které využívají vlastnosti MRSA růstu za přítomnosti methicillinu v agaru a štěpení manitolu (charakteristické pro *S. aureus*). Kolonie MRSA zde vyrůstají po 24-48 hodinách v koloniích barevně odlišných od populace methicillin rezistentních koaguláza-

negativních stafylokoků (např. modré kolonie MRSA a bílé kolonie koaguláso-negativních stafylokoků na MRSA screen agaru od firmy BioRad).

### 5.3. Identifikace *S. aureus*

Volbu použitého testu ovlivňuje mnoho faktorů, mezi něž patří především cena, rychlost výsledku, dostupné vybavení laboratoře, sensitivita a specifita. Podle směrnic BSAC/HIS/ICNA je doporučováno, aby byl zkumavkový test nebo latex aglutinační test užíván pro rutinní identifikaci *S. aureus* nebo pro konfirmaci po DNása testu, nebo po negativním výsledku u sklíčkového koagulátového testu. Ačkoliv výsledky získané ze sklíčkového testu jsou známy mnohem dříve než z uvedeného zkumavkového testu (15 s vs. 4-24 hod), jeho nevýhodou je vyšší procento falešně negativních výsledků (~ 15 %), (Zurita et al., 2010).

#### 5.3.1. Produkce plasmakoagulázy

Koaguláza je produkována některými gram-pozitivními koky včetně *S. aureus*. Rozlišujeme vázaný nebo volný enzym. Tento test je zaměřen na stanovení volné koagulázy, která sráží plasmu přeměnou fibrinogenu na fibrin. Vyšetřovaná bakteriální suspenze je smíchána s ředěnou králičí plasmou a inkubována při 37° C. Zkumavky se vyšetřují po 4 a 24 hodinách inkubace. I některé jiné druhy stafylokoků, jako například *S. schleiferi* a *S. intermedius*, mohou v tomto testu vykazovat pozitivitu, ale tyto druhy nejsou běžně izolovány jako původci infekcí člověka. Navíc, vzácné kmeny *S. aureus* jsou v koagulátovém testu negativní (Brown et al., 2005).

**Sklíčkovým koagulátovým testem** detekujeme koagulázu vázanou na buněčnou stěnu. V její přítomnosti dochází již v průběhu 10-15 vteřin k vytvoření sraženiny. Přibližně 15 % kmenů *S. aureus* jsou v tomto testu negativní, proto je nutné následné ověření negativních výsledků aglutinačním testem. Navíc některé jiné druhy stafylokoků (*S. schleiferi*, *S. lugdunensis*) vykazují v tomto testu pozitivitu.

**Latexové aglutinační testy** jsou založeny na principu reakce antigen-protilátka, kdy jsou proteiny na povrchu bakterie (protein A, clumping faktor) rozpoznávány specifickými latexovými částicemi s navázanou protilátkou a pozitivní reakce se

projevuje aglutinací. Tyto testy jsou komerčně dostupné a hodí se jak pro detekci MRSA, tak i MSSA. Jejich výhodou je rychlost, cena a senzitivita, která je pro *S. aureus* udávána > 98 %. Nevýhodou tohoto testu je opět možná falešná pozitivita u druhů *S. schleiferi*, *S. lugdunensis*.

### 5.3.2. DNása a tepelně stabilní nukleázy

Metoda k detekci nukleázy je založena opět na principu reakce antigenu a protilátky, kdy jsou protilátky namířeny proti nukleásám běžným u všech kmenů *S. aureus*. Pozitivní vzorky by ale měly být ověřeny konfirmačním testem, neboť uvedený enzym je produkován i některými koaguláza-negativními stafylokoky.

K detekci tepelně stabilních nukleás se využívá metoda metachromatické agarové difuze, ale i tento test může poskytnout falešně pozitivní výsledky u některých koaguláza-negativních druhů.

### 5.3.3. Komerční biochemické testy

Výhodou těchto souprav je rychlost a jednoduchost provedení, nevýhodou může být vyšší cena, občasné slabé nebo opožděné reakce. K nejznámějším patří souprava STAPHYtest 16 od firmy Lachema, která umožňuje kromě druhů rodu *Staphylococcus* identifikovat i některé druhy rodu *Micrococcus*. Dalším příkladem soupravy je API staph, ID 32 staph nebo API ZYM, která slouží pro detailnější typizaci pomocí testů, které se v běžných soupravách nepoužívají (všechny tři uvedené soupravy jsou vyráběny firmou bioMérieux).

### 5.3.4. Molekulární metody

Mnoho těchto metod je založeno na PCR a jejích následných modifikacích. Bylo vyvinuto mnoho specifických primerů pro nukleázy (*nuc*), koagulázu (*coa*), protein A (*spa*), *femA* a *femB*, *Sa442*, 16S rRNA a pro povrchové fibrinogen vázící proteiny, které umožňují namnožit právě tyto druhově specifické části DNA.

Určení sekvence polymorfismů ve variabilní oblasti X genu *spa*, kódujícím stafylokokový povrchový protein A, se stalo nejvíce populárním typizačním systémem. Tuto skutečnost lze přičíst mnoha praktickým výhodám, zahrnujících vysokou výkonnost a přenosnost dat díky jejich absolutní reprodukovatelnosti, která umožňuje stanovení pomocí internetových databází a porovnání s globálními zdroji (Struelens et al., 2009). Stejně jako většina ostatních, i tato metoda má svá omezení a na základě

výsledků nelze zařadit danou bakterii do konkrétní ST linie, čehož se dá docílit použitím analýzy dalších markerů (geny toxinů nebo genů rezistence, lokalizovaných na MGEs).

Izoláty MRSA jsou obvykle dále určovány pomocí PFGE, což je výkonná technika schopná identifikovat a rozlišit, zda jsou dané kmeny izolované během epidemie v nemocnici příbuzné či nikoliv. Metoda ovšem není příliš vhodná pro potřeby dlouhodobého sledování globální epidemiologie, která vyžaduje metody s vysokou rozlišovací schopností, ale je schopná zaznamenávat i rozdíly, které se akumulují pomalu (Enright et al., 2002). Další nevýhodou je, že navzdory explosivnímu nárůstu jejího užití v posledních letech, publikování velkého množství protokolů v literatuře a několika pokusům je standardizovat a sjednotit, se zdá být docílení reprodukovatelnosti na celosvětové úrovni spíše vzdáleným cílem (Murchan et al., 2003).

**Tabulka 4: Srovnání hlavních, v současné době dostupných metod pro molekulární typizaci MRSA** (Struelens et al. 2009)

Metoda	Princip	Výhody	Nevýhody
<b>MLST</b>	Určení sekvence variant alel housekeepingových genů	Fylogenetická struktura jaderného genomu Přenositelnost dat Standardní nomenklatura	Omezená rozlišovací schopnost Nízký výkon Cena
<b>PFGE</b>	Určení restrikčních polymorfismů celého Chromosomu	Vysoká rozlišovací schopnost	Technicky náročné Zdlouhavé Omezená přenosnost dat Obtížná nomenklatura
<b>Typizace sekvence Spa</b>	Polymorfismus počtu a sekvencí opakujících se elementů hypervariabilního Genu	Rychlost Vysoký výkon Přenositelnost dat Standardní nomenklatura Kompetentní STs pomocí algoritmu BURP	Přiměřená rozlišovací schopnost Chyby klasifikace určitých STs způsobené rekombinací
<b>Rep-PCR</b>	Polymorfismus nekódujících repetitivních sekvencí genomu	Rychlost Vysoký výkon	Omezená rozlišovací schopnost Nevalidovaná interpretační Kritéria Nestandardní nomenklatura
<b>MLVA</b>	Polymorfismus počtu VNTR	Rychlost Vysoký výkon	Omezená rozlišovací schopnost Nevalidovaná interpretační Kritéria Nestandardní nomenklatura

MLST je technika s vysokou rozlišovací schopností, která charakterizuje bakterie pomocí přibližně 450 bp dlouhých vnitřních fragmentů housekeepingových genů, kterých je sedm. Ke každému genovému fragmentu je přiřazena odlišná alela

s rozdílnou sekvencí, a každý izolát je definován pomocí alel ze všech housekeepingových lokusů (hovoříme o alelickém profilu nebo sekvenčním typu ST). Jelikož na každém ze sedmi lokusů je mnoho alel, je velmi nepravděpodobná možnost, že budou mít bakterie identický alelický profil a izoláty se stejným profilem tudíž mohou být označeny jako příslušníci stejného klonu (Enright et al., 2000).

Typizace *spa* je založena na sekvenční analýze VNTR v genu kódujícím protein A (*spa*). Protože tato metoda zohledňuje bodové mutace ve VNTR a počet opakujících se variací, může být použita při vyšetřování lokálních nebo globálních epidemií MRSA (DeLeo, Chambers, 2009).

## 5.4. Identifikace MRSA

Existuje mnoho možností jak testovat citlivost k methicillinu (oxacillinu). Zlatým standardem byla diluční metoda a jí určená hodnota MIC. Ovšem tento test je ovlivněn mnoha faktory a je v současné době stále častěji nahrazován molekulárními metodami.

U těchto testů jsou velmi důležité podmínky práce: typ média, správné dodržení času inkubace a teploty inkubace. BSAC doporučuje Columbia nebo Mueller-Hinton agar obohacený NaCl (2 %) pro diluční a diskovou difuzní metodu a ukázalo se, že zvýšení koncentrace NaCl na 5 % zlepšilo detekci rezistence u většiny kmenů (Zurita et al., 2010). Inkubaci provádíme při teplotě 30-35° C a prohlížíme po 24 a 48 hodinách.

### 5.4.1. Diluční metoda

Při této metodě sledujeme růst bakterií v různých ředěních antimikrobiální látky a provádíme ji buď v agaru, nebo v bujonu. Při diluční metodě v agaru používáme MH-agar a inokulum  $10^4$  CFU/mL. Pokud provádíme metodu v bujonu, používáme MH-bujon a více rozšířenou mikrodiluční metodu s inokulem  $5 \cdot 10^4$  CFU/mL. MIC oxacillinu  $\geq 4$   $\mu\text{g/mL}$  je brána jako hranice pro rezistenci, MIC  $\leq 2$   $\mu\text{g/mL}$  jako hranice citlivosti.

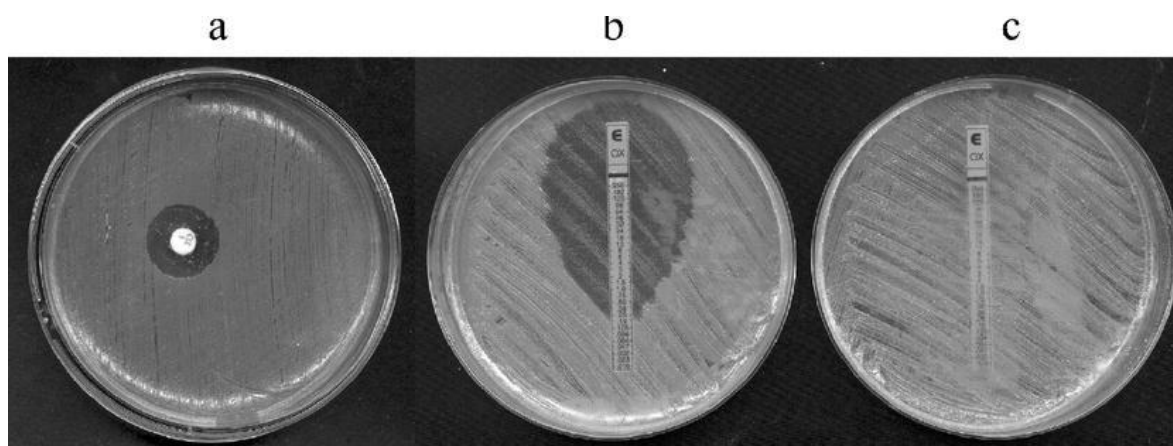
Metoda je poměrně levná, ale je náročnější na přípravu a proto je nahrazována E-testem a latex-aglutinačními metodami.

### 5.4.2. E-test

Etest® (AB BIODISK, Piscatway, NJ) je dalším systémem pro detekci MIC, který zahrnuje užití MH-agaru a proužku s rostoucí koncentrací oxacillinu. Oxacillin vytvoří na povrchu půdy gradient antibiotika: přítomnost růstu indikuje rezistenci, její nepřítomnost naopak citlivost bakterie k antibiotiku (Beavers-May, Jacobs, 2004).

Test provádíme na MH-agaru s inokulem o hustotě 0,5-1,0 podle McFarlandovy stupnice a inkubace probíhá 24 hod při 35° C. Kolem proužku se vytvoří inhibiční zóna ve tvaru kapky a sleduje se místo, kde její okraj protne okraj proužku.

Test je velmi snadno proveditelný, bohužel limitací je vyšší cena.



**Obrázek 7: Testování citlivosti k oxacilinu na agaru** a) oxacillinový difuzní diskový test, u kterého je možné pozorovat růst izolovaných kolonií uvnitř ustavené inhibiční zóny b) E-test provedený na klinickém izolátu, kde je možné pozorovat splyvavý růst kolonií uvnitř ustavené zóny inhibice c) E-test u vzorku, rostoucího uvnitř inhibiční zóny- rezistence (Schwaber et al., 2004)

### 5.4.3. Diskový difuzní test

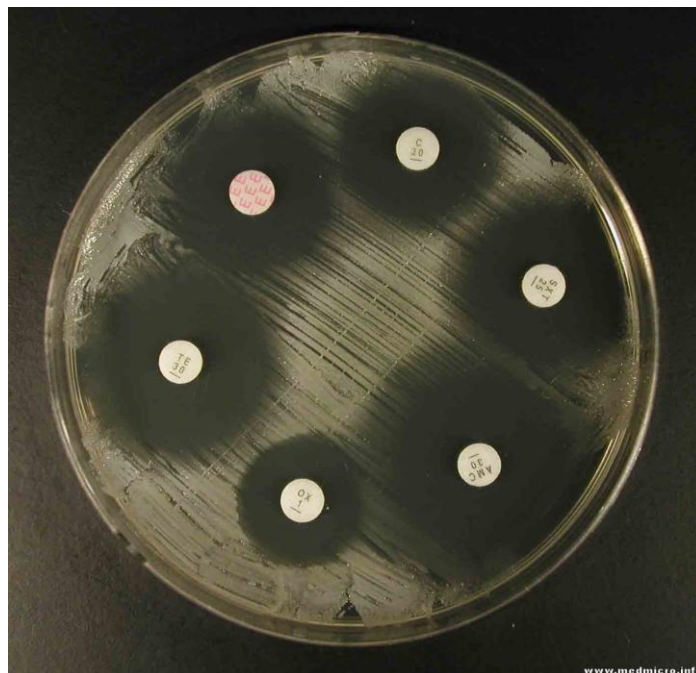
Oxacillinový difuzní diskový test byl tradiční metodou pro rutinní screening rezistence k methicillinu; nedávno bylo zjištěno, že ještě přesnější výsledky jsou získány za použití cefoxitinového disku a CLSI doporučila, aby byl pro detekci rezistence způsobenou *mecA* upřednostňován cefoxitin před methicillinem (Mimica et al., 2007). Izoláty MRSA, které jsou *mecA*-pozitivní, ale jsou vysoce heterogenní, co se týče exprese rezistence, mohou být velmi těžce odlišitelné od nízce rezistentních kmenů 'BORSA' a 'MODSA'. Při tomto testu vykazují bakterie s hyperprodukcí penicilinázy malé inhibiční zóny k methicillinu nebo oxacillinu, zatímco rezistentní bakterie jsou zcela bez inhibiční zóny (Brown et al., 2005).

Disk napuštěný antimikrobiální látkou je umístěn na agar, který byl předtím naočkován suspenzí zkoumaných bakterií. Odhalená rezistence by měla být ověřena pomocí PCR nebo latexovou metodou.



#### 5.4.4. Detekce PBP2a latexovou aglutinační metodou

Tento test je opět založen na principu reakce antigenu a protilátky. Antigenem jsou v tomto případě částice PBP2a extrahované ze suspenze zkoumaných bakterií a protilátka proti nim je navázána na povrchu latexových částic. Metoda je velmi jednoduchá, rychlá a dostupná v podobě sady od mnoha komerčních dodavatelů. Jedinou limitací testu je, že by neměly být použity kolonie bakterií rostoucích na médiu s obsahem NaCl a další nevýhodou je potom riziko falešně negativní reakce u izolátů s nízkou produkcí PBP2a.



**Obrázek 8: Diskový difuzní test na agaru Müller-Hinton (*S. aureus*)**  
(<http://atlas.medmicro.info/index.php?jazyk=cs&sekce=1&podsekce=8>)

#### 5.4.5. Molekulární metody

Molekulární metody ke stanovení rezistence k antimikrobiálním látkám jsou založeny na přítomnosti genu *mecA*, lokalizovaném na buněčném chromozomu. První sondy pro tyto účely byly značeny radioaktivně, postupem času se od nich upustilo a byly nahrazeny sondami s jiným způsobem značení (např. fluorescencí), což klade menší nároky na vybavení laboratoře i na její provoz. V současné době jsou metody založené na principu PCR užívány jako standardní metody a používají se k ověření výsledků metod uvedených výše.

Porovnání metody *mecA*-PCR s API ATB staph (bio-Mérieux, Balme-les-Grottes, Francie), oxacillinovým difuzním testem, agarovým dilučním MIC testem a produktem

BBL Crystal MRSA system (Becton Dickinson, Cockeysville, Md.), s užitím PCR jako metody "zlatého standardu", ukázalo shodu ve výsledcích s prvními dvěma metodami, ale u dalších dvou metod byly pozorovány diskrepance u jednoho izolátu (Fluit et al., 2001). Chybné výsledky se objevují u citlivých kmenů, které nesou nefunkční gen *mecA*, nebo u BORSA, kdy je rezistence vyvolána jiným mechanismem a výsledek je tudíž falešně negativní. K první skupině řadíme malé procento izolátů, které představují extrémně heterorezistentní bakterie a méně než 1 izolát z populace čítající  $10^8$  bakterií, je vysoce rezistentní k methicillinu (Sakoulas et al., 2001). BORSA jsou *mecA*-negativní kmeny, jejichž MIC je v rozmezí 2-8  $\mu\text{g/mL}$ . Bakterie rostou na agaru s oxacillinem a u každé metody určující MIC bude výsledkem falešná rezistence, pokud  $\text{MIC} > 6 \mu\text{g/mL}$ . Příčinou neschopnosti identifikovat tyto kmeny může být nadměrné užívání vankomycinu (Beavers-May, Jacobs, 2004).

Dá se říci, že metody pro detekci MRSA, používající jeden pár primerů jsou robustní a nenáročné na přípravu. Jsou ovšem citlivé na přítomnost inhibitorů, která vede k falešně negativním výsledkům, proto je prováděna kontrola v podobě druhého páru primerů amplifikujících gen, který je u stafylokoků vždy přítomen. K tomuto účelu jsou užívány primery namířené proti genům *nuc*, *coa* a *gyrA*. Jako vnitřní kontrola se používá amplifikace 16 S rRNA, která je specifická pro *S. aureus* (Brown et al., 2005).

## VI. ANTIMIKROBIÁLNÍ TERAPIE U INFEKČÍ MRSA

Za počátek moderní chemoterapie je možno považovat práce německého chemika Ehrlicha, zejména jeho objev p-rosanilinu jako účinného agens proti trypanozomiasé (1904) a arsfenamínu zvaného Salvarsan 606 jako účinného agens proti syfilis (Julák, 2006). Prvním doloženým objevitelem antibiotika byl Alexandr Fleming, který roku 1928 pozoroval inhibici růstu stafylokoků na misce kontaminované plísní rodu *Penicillium*, izolovat účinnou látku se však podařilo až o mnoho let později v roce 1939. Další objevy na sebe nenechaly dlouho čekat a vývoj nových antibiotik neustále pokračuje. Přestože jejich množství je nepřehledné, v klinické praxi je rutinně používáno pouze asi 200 druhů těchto látek.

K léčbě bakteriálních infekcí jsou používány antibiotika a chemoterapeutika, které jsou společně označovány pojmem antimikrobiální látky. Původně antibiotika zahrnovala pouze čistě přírodní produkty, chemoterapeutika značí název pro látky

připravené chemickou syntézou. V současné době jsou však již hranice mezi těmito dvěma druhy látek neostře a i spousta antibiotik je upravována chemickou modifikací, proto se stále častěji setkáváme s tím, že pod pojmem antibiotika jsou myšleny všechny látky používané k léčbě infekcí.

Antimikrobiální látky dělíme buď podle chemické povahy, nebo podle mechanismu účinku (viz Obr.)

Dle Quinna a Arnolda (2008) by se antimikrobiální terapie pro suspektní MRSA infekce měla řídit následujícími pravidly:

- pro mnoho pacientů s lehkými infekcemi je chirurgický zákrok spolu s drenáží abscesu a bez použití antimikrobiální léčby vhodnou a dostačující volbou
- antimikrobiální terapie by měla být rezervována pro infekce, u kterých je výše uvedený zákrok nedostačující, a také pro pacienty se systémovým onemocněním nebo vážnější infekcí. Navíc by měla být uvažována u pacientů podstupujících imunosupresivní léčbu, pacientů s diabetem mellitus a jinými chronickými nemocemi, u malých dětí (obzvláště těch mladších než 1 rok)
- orální antimikrobiální léčba není doporučována pro pacienty v kritickém stavu
- u všech pacientů by měla být monitorována odpověď na léčbu. Ambulantní pacienti jsou instruováni, aby při příznacích systémového onemocnění, zhoršení současných symptomů, nebo při žádném viditelném zlepšení v průběhu 48-72 hod vyhledali lékaře.
- režim terapie by měl být přizpůsoben výsledkům kultivace a testům citlivosti izolátů ze zasažených tkání
- MRSA je rezistentní ke všem penicilinům (včetně nafcillinu a dicloxacillinu), kombinacím inhibitorů beta-laktamázy (včetně amoxicilin/klavulanátu) a všem cefalosporinům

## **6.1. Klindamycin**

Klindamycin se řadí do skupiny linkosamidových antibiotik a mechanismem jeho účinku je inhibice funkce ribozomů. Toto antibiotikum je účinné proti streptokokům, většině pneumokoků a většině penicilin-rezistentních (kromě methicillin-rezistentních) stafylokoků. Hromadí se v tkáních dýchacích cest, hlenu, slinách a kostní tkáni. Je lékem volby pro léčbu osteomyelitidy (Fairbanks, 2007). Kromě toho se užívá k léčbě

některých anaerobních infekcí. Toto antibiotikum bylo schváleno organizací FDA (Food and Drug Administration) pro léčbu vážných infekcí způsobených *S. aureus* a bylo hojně používáno pro léčbu infekcí kůže a měkkých tkání, zapříčiněných právě touto bakterií. Kromě toho byly výborné výsledky léčby pozorovány i u některých infekcí způsobených CA-MRSA.

## 6.2. Daptomycin

Mechanismem účinku tohoto antibiotika je vazba na buněčnou stěnu a inhibice syntézy proteinů, nutných pro její funkci. Řadíme ho skupiny lipopeptidových antibiotik. Spodní hranice citlivosti pro *S. aureus* je  $\leq 1 \mu\text{g/mL}$ . Necitlivé izoláty se objevují během terapie s následným selháním léčby. Ačkoliv mechanismus rezistence není znám, jsou u těchto kmenů často přítomny jednobodové mutace *mprF*, genu pro lysylphosphatidylglycerol syntetázu (Liu et al., 2011). U některých pacientů bylo během léčby pozorováno zvýšení hodnot CPK, což může vést ke svalové slabosti. V ČR není lék registrován.

## 6.3. Linezolid

Linezolid je synteticky vyrobené oxazolidinové antibiotikum. Mechanismem jeho účinku je inhibice syntézy proteinů vazbou na ribozomovou jednotku 50S. Dá se říci, že je alternativou vankomycinu pro léčbu MRSA a VRSA. Jeho užívání je spojeno s rizikem reverzibilní myelosuprese, zejména trombocytopenie, v závislosti na dávce a délce trvání léčby. Proto je doporučeno monitorovat krevní obraz pacientů, užívajících toto antibiotikum po dobu více než dvou týdnů (Gorwitz et al., 2006).

K běžným nežádoucím účinkům patří bolest hlavy, diarrhoea, a nausea. U některých pacientů, podstupujících dlouhodobou terapii, byly pozorovány příznaky periferní a oční neuropatie a laktátová acidóza.

## 6.4. Tetracykliny

Mechanismus účinku těchto látek spočívá ve vazbě na 30S podjednotku ribozomu a narušení proteosyntézy v buňce. U *S. aureus* spp. jsou známy dva mechanismy

rezistence: (i) aktivní vypuzení, zapříčiněné získáním genů *tetK* a *tetL* lokalizovaných na plasmidech, (ii) a ribozomální ochrana zprostředkovaná transpozonovými nebo chromozomálními *tetM* nebo *tetO*. Kmeny *S. aureus* nesoucí pouze *tetK* byly popsány jako rezistentní k tetracyklinu, ale citlivé k minocyklinu (Trzcinski et al., 2000). Gen *tetK* totiž specificky udílí rezistenci pouze k tetracyklinu, zatímco *tetM* ke všem látkám ve třídě. Alternativou potom může být použití minocyklinu.

Nežádoucím účinkem u těchto látek je poškození zubní skloviny jejím ztenčením a barevnými změnami. Z tohoto důvodu nejsou vhodné pro děti mladší osmi let a těhotné ženy.

## 6.5. Telavancin

Telavancin je baktericidní lipoglykopeptidové antibiotikum s rychlým nástupem účinku, které působí několika mechanismy, zahrnujícími na koncentraci závislou inhibici syntézy bakteriální stěny a narušení funkční integrity buněčné membrány (Nanniny, Stryjewski, 2008). Tato látka je účinná proti MRSA, VISA i VRSA a z těla je odstraňována hlavně jako součást moči, proto je nutné u pacientů s poškozením ledvin upravit její dávkování. V ČR je tento lék v současné době připravován k registraci.

## 6.6. Rifampicin

Rifampicin je dalším synteticky vyrobeným antibiotikem, majícím afinitu k RNA-polymeráze, kterou inhibuje a znemožňuje tím transkripci a následnou syntézu proteinů. Pokud se nepoužívá v kombinaci s jinou látkou, velmi rychle se objevují rezistentní kmeny. Jelikož rifampicin se kumuluje ve vysokých koncentracích na slizničních površích, teoreticky by mohl být využíván pro léčbu infekcí způsobených MRSA a zároveň podporovat eradikaci jeho nosičství (Gorwitz et al., 2006).

Tato látka zesiluje metabolickou aktivitu cytochromu P-450 a dochází ke snížení hodnot (a účinnosti) mnoha látek v séru, jako například kortikoidů, beta-blokátorů, antikoagulačních látek, kontraceptiv, methadonu, cyklosporinu a dalších (Fairbanks, 2007).

## 6.7. TMP-SMX

TMP-SMX neboli Trimethoprim/sulfamethoxazol je kombinací sulfonamidového antibiotika s trimetoprimem, které v kombinaci vykazují synergistický efekt. Tato látka není dle FDA doporučována k léčbě stafylokokových infekcí. Nicméně 90-95 % kmenů CA-MRSA vykazuje in vitro citlivost a tato látka se stala důležitou z hlediska možnosti léčby SSTI (Skin and Soft Tissue Infections) u ambulantních pacientů (Liu et al., 2011).

## 6.8. Vankomycin

Vankomycin je glykopeptidové antibiotikum, které bylo vynalezeno jako alternativa pro léčbu kmenů *S. aureus*, produkujících beta-laktamásu. Proto by mělo být používáno jen v indikovaných případech jako prevence, aby bylo zabráněno možnosti vzniku a šíření rezistentních kmenů. Po výsledcích kultivace a informací o citlivosti by měla být léčba náležitě upravena. Tato látka má dlouhý poločas rozpadu, je generická a užívána jako lék volby pro nejzávažnější infekce vyvolané MRSA. Do vaskulárně chudších částí těla proniká hůře a nedosahuje v nich hodnoty vyšší než 80 % hladiny v krvi (Amin, Batts, 2006).

Získaná rezistence k vankomycinu a teikoplaninu byla poprvé ohlášena v roce 1989 a ačkoliv VRE a MRSA sdílejí obdobnou ekologickou niku a přenos rezistence mezi těmito druhy byl demonstrován in vitro, první případ VRSA nebyl hlášen až do roku 2002 (Brown et al., 2005). Již v roce 1997 byl však v Japonsku ohlášen první VISA.

Situace, za kterých je podle Hospital Infection Control Practices Advisory Committee

HICPAC (1995) užití vankomycinu přijatelné nebo akceptovatelné:

- pro léčbu závažných infekcí, způsobených gram-pozitivními bakteriemi rezistentními k beta-laktamům. Vankomycin může působit baktericidně pomaleji než beta-laktamová antibiotika pro citlivé kmeny.
- pro léčbu infekcí, způsobených gram-pozitivními bakteriemi u pacientů s alergií k beta-laktamovým antibiotikům
- podle American Heart Association jako profylaxe endokarditidy po určitých zákrocích u pacientů, kteří jsou jí s vysokým rizikem ohroženi

- profylaxe u větších chirurgických zákroků zahrnujících implantaci umělých materiálů (např. kardiologie, náhrada kyčelního kloubu) v zařízeních s prokázanou vyšší frekvencí výskytu infekcí způsobených MRSA nebo methicillin-rezistentním *S. epidermidis*. Jedna dávka vankomycinu podaná neprodleně před operací je dostatečná, ovšem pokud zákrok trvá déle než 6 hodin, je nutno podání vankomycinu zopakovat. Profylaxe by měla být ukončena maximálně po dvou dávkách léčiva.

## 6.9. Fluorochinolony

Jedná se o syntetická antibiotika, k jejichž zástupcům patří např. kyselina nalidixová, oxolinová, nebo ciprofloxacin. Mechanismem jejich účinku je inhibice syntézy nukleových kyselin, která je v tomto případě zapříčiněna inhibicí DNA-gyrázy a topoisomerázy.

Rychlý vzestup množství kmenů *S. aureus* rezistentních k fluorochinolonům patří k nejlepším příkladům současné biologické evoluce. Izoláty této bakterie rezistentní k ciprofloxacinu byly popsány krátce po zavedení léčiva do klinické praxe, a v současné době je v některých oblastech světa rezistentních až 89 % izolátů (Campion et al., 2004). Rezistence je způsobena buď bodovými mutacemi genů *grlA/grlB* and *gyrA/gyrB*, kódujících podjednotky topoisomerasy IV a DNA-gyrázy, nebo je příčinou vypuzení látky za pomoci membránové pumpy.

Výhodou těchto širokospektrých antibiotik je nepřibuznost k ostatním látkám a tudíž možnost použití u pacientů s alergií. Je důležité si uvědomit, že patří k látkám prodlužujícím elektrokardiografický Q-T interval, spolu s erythromycinem, clarithromycinem, ketokonazolem, flukonazolem a dalšími. Je nutné vyhýbat se kombinaci užívání fluorochinolonů s ostatními anti-arytmickými látkami, nebo předepsání pacientům s bradykardií, hypokalémií nebo akutní srdeční ischemií (Fairbanks, 2007).

## 6.10. Antibiotická politika a její cíle

Je zaměřena na vytvoření směrnic a zásad pro správné užívání a indikaci antimikrobiálních látek, s cílem snížit výskyt rezistentních kmenů a zvýšit tak účinnost

léčby. Zbytečné podávání antibiotik je jednou z hlavních příčin vzniku rezistentních bakterií. Ukázkovým příkladem chybného postupu může být podávání antimikrobiálních látek u virových infekcí, kdy léčba nemá žádný účinek, nebo u banálních bakteriálních infekcí.

WHO ve svém reportu 'Priority Medicines for Europe and the World' z roku 2004 vybízí ke koordinované mezinárodní akci (EASAC, 2007):

- redukce nevhodného užívání antibiotik a zlepšení postupů pro předepisování a vydávání těchto látek
- dodržovat program surveillance a dohlížet na spotřebu antimikrobiálních látek v nemocničních zařízeních i komunitě
- investovat a využívat výzkumu a inovací ohledně antibiotik, s cílem zabránit úpadku vývoje nových látek

Dále je nutné:

- vzdělávání zdravotnického personálu i veřejnosti ohledně zásad správného užívání antibiotik
- prosazovat zákaz prodeje antibiotik bez lékařského předpisu
- užívání antibiotika jen po dobu určenou lékařem

V České republice počátkem 90. let prudce vzrostla celková spotřeba antibiotik v důsledku nerespektování principů antibiotické politiky a trvale zůstává na úrovni o téměř 1/4 vyšší ve srovnání s předcházejícím obdobím. Zvýšení spotřeby se nejvýrazněji projevilo ve skupině nových makrolidů, ko-aminopenicilinů a fluorovaných chinolonů (Hoza et al.). Výsledkem byl zvýšený výskyt rezistentních bakterií.

V České republice byl v roce 2009 ustanoven Národní antibiotický program (NAP), který má následující principy a cíle (Věstník MZ ČR, 2009):

1. Cílem NAP je zajištění dlouhodobě dostupné, účinné, bezpečné a nákladově efektivní antibiotické léčby pacientů s infekčními onemocněními. Toho lze dosáhnout zejména podporou správné praxe v používání antibiotik omezující jejich nadužívání, účinnou prevencí a kontrolou infekcí zabraňující šíření rezistentních mikrobů ve zdravotnických zařízeních i v běžné populaci, vzděláváním a zvyšováním povědomí odborné i laické veřejnosti o této problematice



2. Základním principem NAP je tzv. mezisektorový koordinační mechanismus, jehož smyslem je zejména zajištění efektivní koordinace činnosti mezi humánním a veterinárním zdravotnictvím a všemi zainteresovanými subjekty, které mohou mít vliv na určování priorit a uskutečňování cílů NAP. Tyto subjekty mohou mít různé role (řídící, koordinační a výkonné, konzultační nebo poradní, mediální, apod.).

## VII. EPIDEMIOLOGICKÁ SITUACE MRSA

### 7.1. EARS-Net

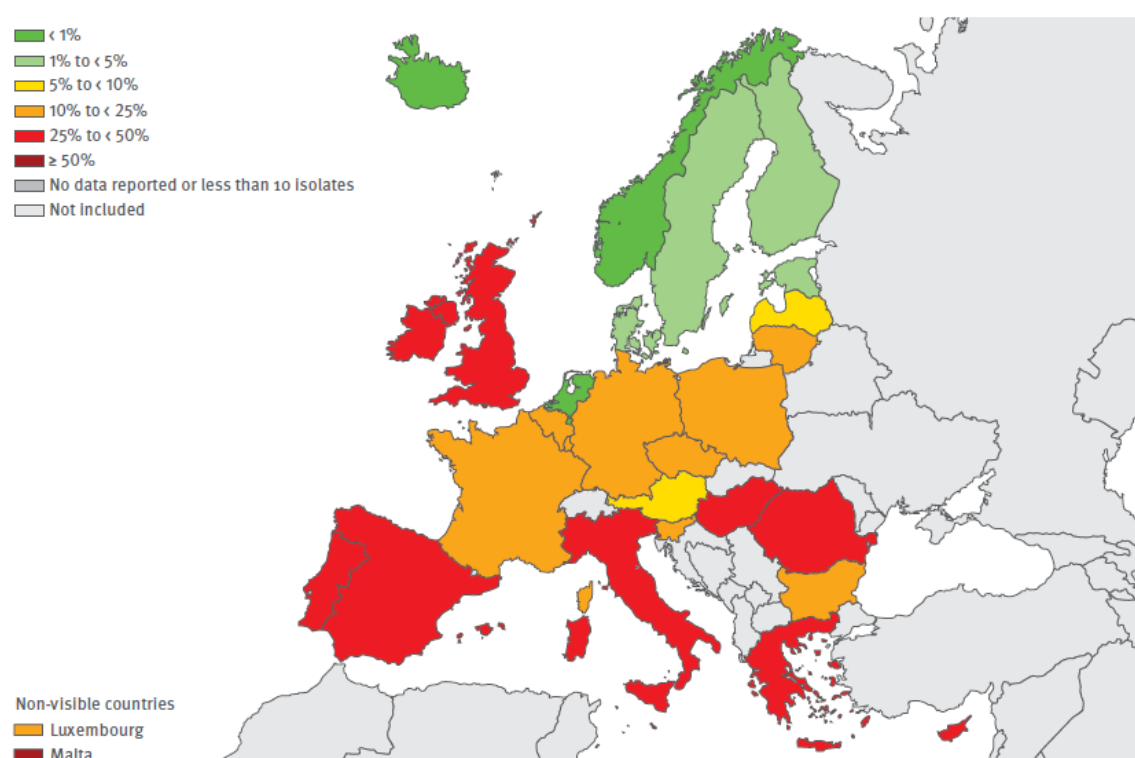
EARS-Net neboli European Antimicrobial Resistance Surveillance Network sjednocuje národní systémy surveillance, zaměřené na rezistenci bakterií významných pro humánní medicínu v Evropě. Tento projekt funguje od roku 1999 a až do roku 2009 byl označován jako EARSS (European Surveillance Resistance System). V tomto období měl zpracování dat na starosti holandský RIVM (National Institute of Public Health and Environment). Následujícího roku byl projekt převeden do TESSy (The European Surveillance System), který je pod správou ECDC (Evropské centrum pro prevenci a kontrolu infekčních onemocnění) a došlo ke změně názvu na EARS-Net. Cílem projektu je sběr a zpracování dat, které nám dávají přehled o současném stavu a výskytu k antibiotikům rezistentních bakterií. V letech 1999-2000 byly do sledování zařazeny druhy *Streptococcus pneumoniae* a *S. aureus*, v roce 2001 bylo zahájeno sledování u *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* a *E. faecium*, a od roku 2005 u *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa* (SZÚ). K roku 2011 bylo do programu zapojeno celkem 28 zemí.

Naše země se do EARSS zapojila v roce 2000. Od ledna roku 2000 sledují laboratoře v České republice původce invazivních infekcí způsobených *Streptococcus pneumoniae*, v červenci téhož roku bylo zahájeno sledování *S. aureus*; od roku 2001 se sleduje antibiotická rezistence u invazivních izolátů *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* a od roku 2005 se sleduje *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa* (SZÚ). Jako vzorky se pro stanovení *S. aureus* a enterokoků používá krev, pro *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae* a *P. aeruginosa* je možno použít krev i mozkomíšní mok. Kontrolu kvality participujících laboratoří zajišťuje

NEQAS (Velká Británie). CZ-EARS-Net je pod správou NRL pro antibiotika, která vkládá zjištěná data do systému TESSy.

EARS-Net přijímá data o citlivosti podle klinických rozmezí (S, I, R) v souladu s mezinárodními guidellines. Rezistence k methicillinu je obvykle definována pro MIC  $\geq 4$  mg/L, pouze Švédsko a Německo, které užívají SRGA a DIN, mají jako minimum definováno MIC  $\geq 2$  mg/L (Tiemersma et al., 2004).

## 7.2. Evropa



**Obrázek 9: *S. aureus*: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v roce 2009 v Evropě**  
Zastoupení MRSA bylo < 1% ve dvou zemích, 1-5% v pěti zemích, 5-10% ve dvou zemích, 10-25% v devíti zemích, 25-50% v devíti zemích, a více než 50% v jedné zemi. (EARS-Net, 2009)

Podle výsledků EARS-Net sbíraných v letech 2002-2009 z celkem 198 laboratoří bylo zjištěno, že procentuální zastoupení MRSA se významně snížilo. Zásahu na této skutečnosti mají pravděpodobně největší měrou efektivní kontrolní postupy pro jeho záchyt, které jsou v některých zemích na vysoké úrovni. Naproti tomu byl zjištěn nárůst infekcí cévního řečiště způsobených *S. aureus* o 34 %.

V letech 2006-2009 bylo opět prováděno srovnávání a u osmi zemí z celkových 28 bylo zjištěno signifikantní snížení procentuálního zastoupení MRSA. Uvedená data se týkají Rakouska, Lotyšska, Bulharska, Francie, Řecka, Irska, Rumunska a Velká

Británie, z nichž u Rakouska, Francie, Irsko, Lotyšsko a Británie je změna nejvíce evidentní. V Anglii byl zlomový rok 1990, kdy došlo k signifikantnímu nárůstu zastoupení MRSA. Ještě dramatičtěji vzrostla incidence infekcí způsobených touto bakterií do roku 2000 z hodnoty 1-2 % na téměř 40 %. Toto zvýšení šlo ruku v ruce se vznikem dvou konkrétních epidemických kmenů, jimiž jsou EMRSA-15 a EMRSA-16 (Johnson et al., 2001). Česká republika byla jedinou zemí se signifikantním nárůstem MRSA o 15 % (EARS-Net, 2009).

Vůbec nejnižší proporcionalní zastoupení MRSA uvádí Nizozemsko (1 %) a Kanada (2,3 %). Tato skutečnost je nejspíš způsobena strategiemi search-and-destroy a restriktivní antibiotickou strategií. Ta první spočívá v izolaci MRSA pozitivních pacientů a pacientů z jiných zemí ihned po přijetí do nemocnice, do doby než je potvrzena screeningem jejich negativita. Druhá strategie se zaměřuje na léčiva a vymezuje denní dávku pro 1000 lidí na jeden den v primární zdravotní péči přibližně na 8.9 (Amin, Batts, 2006).

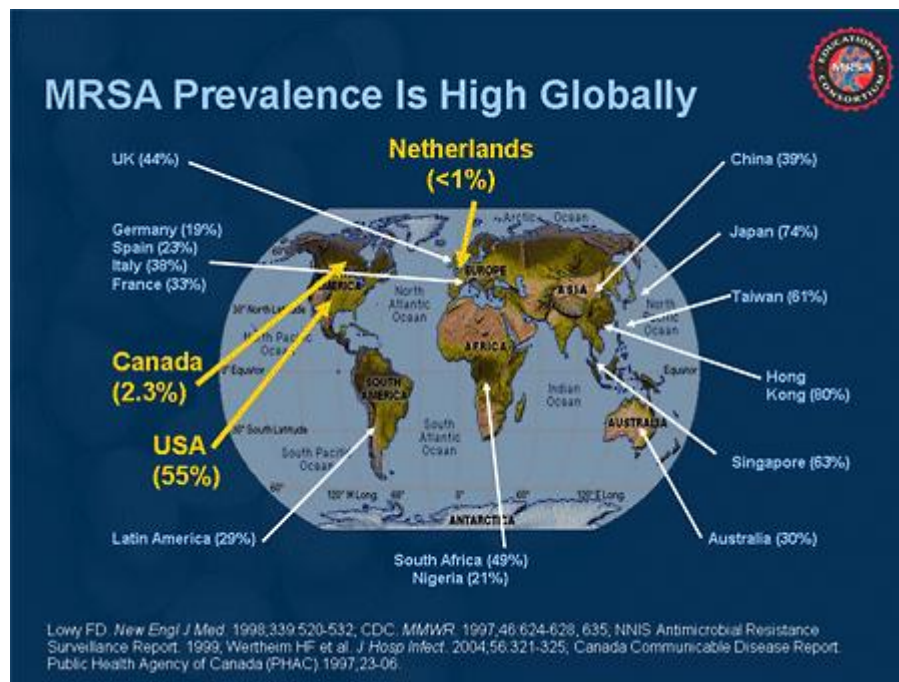
Podíl methicillin rezistentních stafylokoků na celkovém počtu infekcí vyvolaných *S. aureus* v České republice neustále roste. V roce 2005 bylo z celkového počtu hlášených infekcí *S. aureus* 12,8 % způsobeno MRSA, přičemž v roce 2003 tato hodnota činila 6 % a v roce 2000 pouze 4 %. Tak jak roste zastoupení polyrezistentních kmenů, roste i celkový počet hlášených infekcí (Kratochvíl et al.)

Na základě těchto výsledků lze tedy říci, že Evropa má MRSA pod kontrolou a jeho výskyt se i nadále snižuje. Přesto je nutné mít se na pozoru a nepolevovat, neboť i přes tyto příznivé výsledky zůstává téměř ve třetině zemí proporcionalní zastoupení MRSA více než 25 % (viz obr. 13).

### **7.3. Ostatní regiony**

National nosocomial surveillance system (NNIS) je neustále probíhající projekt sponzorovaný společností Center for disease control (CDC), jehož cílem je získávat data o nozokomiálních infekcích na národní úrovni. CDC pracuje s daty, která mu dobrovolně poskytují nemocnice zapojené do projektu, za účelem odhadnout rozsah nozokomiálních infekcí v USA a monitorovat jejich vývoj a rizikové faktory (Emori et al., 1991). Ve Spojených státech se začala zvyšovat incidence MRSA přibližně od roku 1980 a neustále narůstá.

V kontrastu s domněnkou, která v roce 1960 předpovídala malou nebo žádnou významnost in vivo methicillin-rezistentnímu fenotypu, je MRSA v současné době nejběžněji identifikovaným patogenem rezistentním k antibiotikům v mnoha částech světa, zahrnujících Evropu, Ameriku, severní Afriku, Střední východ a východní Asii (Grundmann et al., 2006).



Obrázek 10: Prevalence MRSA ve světě (Amin, Batts, 2006)

## VIII. PRAKTICKÁ ČÁST

### 8.1. Výběr dat

Výsledky práce vycházejí z retrospektivní analýzy dat z elektronické databáze laboratorního informačního systému Ústavu klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice Hradec Králové (ÚKM FN HK). Jsou zpracována data všech pacientů hospitalizovaných ve FN HK nebo přicházejících k ambulantnímu ošetření do FN HK, u kterých byl izolován methicillin-rezistentní *S. aureus* z klinického materiálu v období od 1. 1. 2008 do 31. 12. 2010. Pro ověření teorie, zda u jednou MRSA pozitivního pacienta je možné bakterii opětovně prokázat, byly použity údaje pacientů poprvé pozitivních v roce 2008 a 2009.

### 8.2. Kultivace *S. aureus*

Materiál od pacientů FN HK byl zpracován na ÚKM FN HK standardním způsobem, pro detekci a kultivaci *S. aureus* byl použit krevní agar (Trios). Při cíleném požadavku klinických lékařů pro screening MRSA bylo využíváno selektivní kultivace na chromogenním agaru MRSA (BioRad). Dourčení charakteristických kolonií bylo provedeno průkazem volné koagulázy (Itest) a biochemickými mikrotesty (automatický systém VITEK 2 BioMerieux).

Stanovení citlivosti *S. aureus* na ATB bylo provedeno metodou diskovou difuzní. MRSA byl definován jako kmen *S. aureus* rezistentní k oxacillinu za použití screeningového testu rezistence k cefoxitinu. MRSA byla potvrzena latexovou aglutinací (MRSA-Screen Denka-Seiken).

### 8.3. Materiály

Rozdělení materiálů do jednotlivých tělních systémů je uvedeno v tab. 5. Přehled klinik FN HK a rozdělení na chirurgické nebo nechirurgické obory znázorněno v tab. 6 a 7. Přehled jednotek intenzivní péče je uveden v tab. 8.

Jako první záchyt je definována časově první kultivace MRSA z jakéhokoliv materiálu, jako záchyt opakovaný je definována každá další kultivace z téhož nebo jiného materiálu.

Roční období jsou definována jako jaro (březen, duben, květen), léto (červen, červenec, srpen), podzim (září, říjen, listopad) a zima (prosinec, leden, únor).

**Tabulka 5: Přehled zařazených materiálů podle systémů**

<b>Krevní oběh</b>	Aerobní a anaerobní hemokultivace	
	Kultivace cévního katetru	
<b>Močový trakt</b>	Moč z permanentní cévky	
	Moč, cévkovaná moč	
	Kultivace močového katetru	
<b>Dýchací cesty</b>	Kultivace výtěru z krku, nosu	
	Kultivace savky (DC)	
	Kultivace výtěru z nasopharyngu	
	Kultivace tracheálního aspirátu, výtěru	
	Kultivace výtěru z laryngu, tonzil	
	Kultivace výtěru z dutiny ústní	
	Kultivace stěru z jazyka	
	Kultivace sputa	
	Kultivace bronchoalveolární laváže	
	Kultivace stěru po tracheostomii	
	Kultivace aspirátu z DDC	
<b>Hnis</b>	Kultivace z rány	
	Kultivace tělní tekutiny	Kultivace punktátu
		Kultivace z abscesu
		Kultivace ascitu
		Kultivace tekutiny z drénu
	Kultivace stěru z dekubitu, nekrózy, vředu	
	Kultivace hnisu	
	Kultivace stěru z pištěle	
<b>Kožní systém</b>	Kultivace stěru z kůže	
	Kultivace stěru z perinea (hráz)	
	Kultivace stěru z axily	
	Kultivace stěru z třísla	
	Kultivace stěru z gluteální rýhy	
	Kultivace stěru z okolí pegu	
<b>GIT</b>	Kultivace výtěru z rekta	
<b>Oko</b>	Kultivace stěru z oka	
	Kultivace výtěru ze spojivkového vaku	
<b>Ucho</b>	Kultivace výtěru ze zvukovodu	
<b>Cizí materiál</b>	Kultivace stěru z protézy	
	Kultivace stěru z drénu	

**Tabulka 6: Přehled klinik ve FN Hradec Králové**

Kliniky ve FN Hradec Králové	
I. interní klinika	Kardiochirurgická klinika
II. interní klinika	Chirurgická klinika
Kl. anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny	Oddělení dětské chirurgie a traumatologie
Plicní klinika	Neurochirurgická klinika
Neurologická klinika	Ortopedická klinika
Psychiatrická klinika	Urologická klinika
Dětská klinika	Klinika ušní, nosní a krční
Klinika infekčních nemocí	Oční klinika
Kl. nemocí kožních a pohlavních	Porodnická a gynekologická klinika
Kl. onkologie a radioterapie	II. IK - odd. Klinické hematologie
Kl. gerontologická a metabolická	Rehabilitační klinika

**Tabulka 7: Rozdělení oborů ve FN na chirurgické a nechirurgické**

Obor	Kliniky FN Hradec Králové
Nechirurgické	I. interní klinika
	II. interní klinika
	Klinika infekčních nemocí
	Plicní klinika
	Neurologická klinika
	Psychiatrická klinika
	Dětská klinika
	Kl. anestez., resuscitace a intenz. medicíny
	Kl. nemocí kožních a pohlavních
	Kl. onkologie a radioterapie
	Kl. gerontologická a metabolická
	II. IK - odd. Klinické hematologie
	Rehabilitační klinika
Chirurgické	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 8: Přehled jednotek intenzivní péče ve FN HK**

1111	Akutní kardiologie	<b>I. interní klinika</b>
1112	Koronární a arytmiolog. jed.	
1311	JIP	<b>Klinika infekčních nemocí</b>
1411	JIP	<b>Plicní klinika</b>
1811	JIP VD	<b>Dětská klinika</b>
1812	JIP novorozenci	
1813	Laminární box	
1814	Odd. Intermediální péče	
1911	Odd. Lůžkové	<b>Kl. anestez., resuscitace a intenz. medicíny</b>
2311	JIP geriatrická	<b>Kl. gerontologická a metabolická</b>
2312	JIP interní A	
2313	JIP interní B	
4111	JIP	<b>Kardiochirurgická klinika</b>
4112	JIP KCH 2	
4212	JIP 1	<b>Chirurgická klinika</b>
4213	JIP 2	
4311	JIP	<b>Oddělení dětské chirurgie a traumatologie</b>
4411	JIP	<b>Neurochirurgická klinika</b>
4511	JIP	<b>Ortopedická klinika</b>
4613	JIP	<b>Urologická klinika</b>
5011	JIP	<b>Porodnická a gynekologická klinika</b>
6111	JIP - transplantační	<b>II. IK - odd. Klinické hematologie</b>
6112	OHIP	
6113	JIP	

## 8.4. Výsledky

### 8.4.1 Celkový výskyt MRSA v klinických materiálech

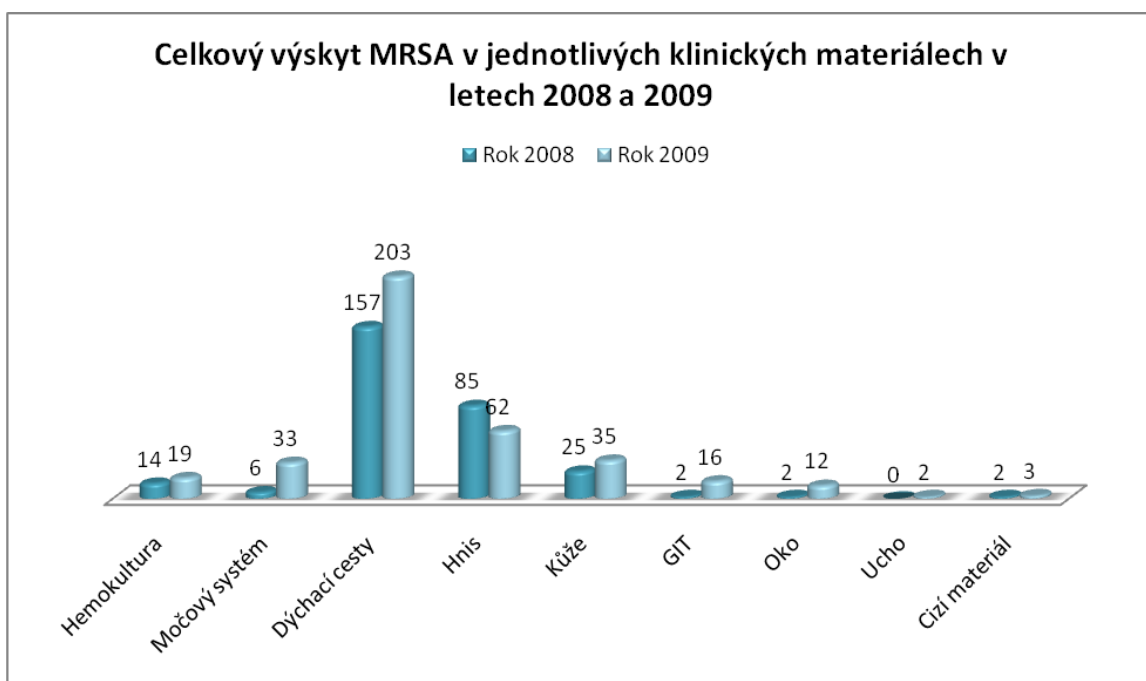
V roce 2008 byl celkový počet MRSA pozitivních vzorků 293, v roce 2009 to bylo 385 pozitivních vzorků, což je znázorněno v tab. 9. Srovnání celkového výskytu v letech 2008 a 2009 udává graf 1. Nejčastěji pozitivním materiálem v obou letech jsou vzorky z dýchacích cest (shodně 53 %) a hnisu (16-29 %). Podrobnější přehled znázorněn v grafech 2, 3, 4 a 5.

V dýchacích cestách převažují materiály z horních cest dýchacích: výtěr z nosu a krku, mezi hnisem byla MRSA nejčastěji izolována z výtěrů ran.

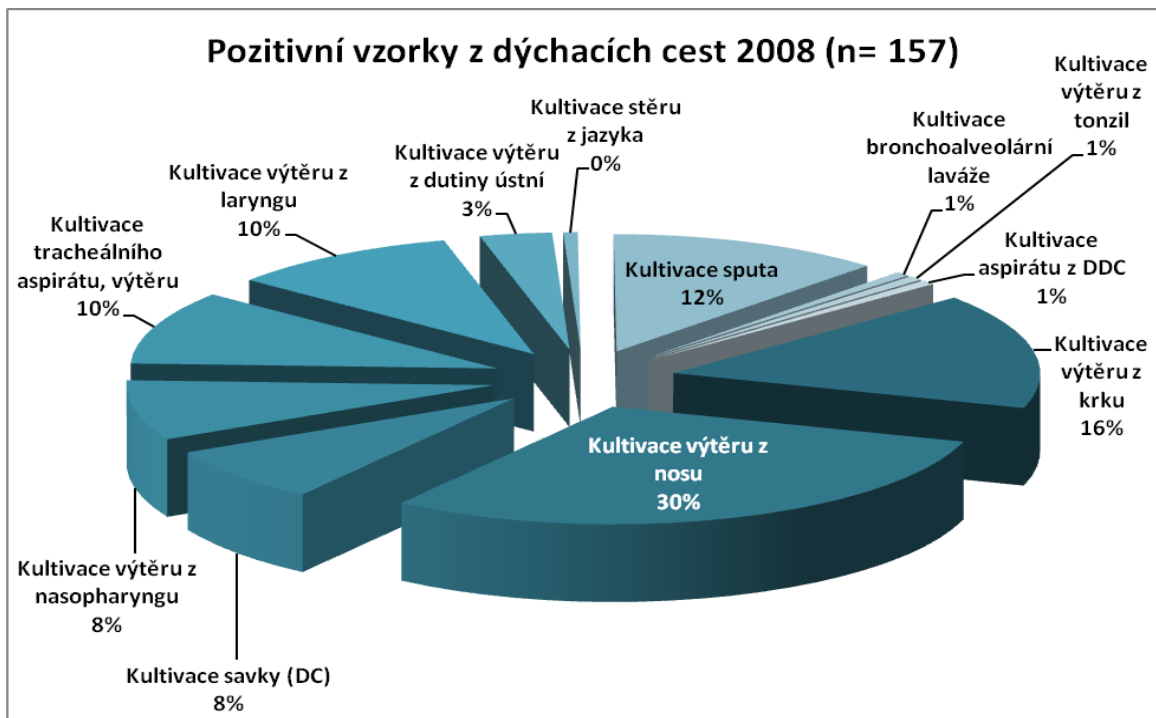


Tabulka 9: Celkový přehled pozitivního materiálu v letech 2008 a 2009

Materiál	Celkem 2008	Celkem 2009
Hemokultura	14	19
Močový systém	6	33
Dýchací cesty	157	203
Hnis	85	62
Kůže	25	35
GIT	2	16
Oko	2	12
Ucho	0	2
Cizí materiál	2	3
<b>Celkem</b>	<b>293</b>	<b>385</b>

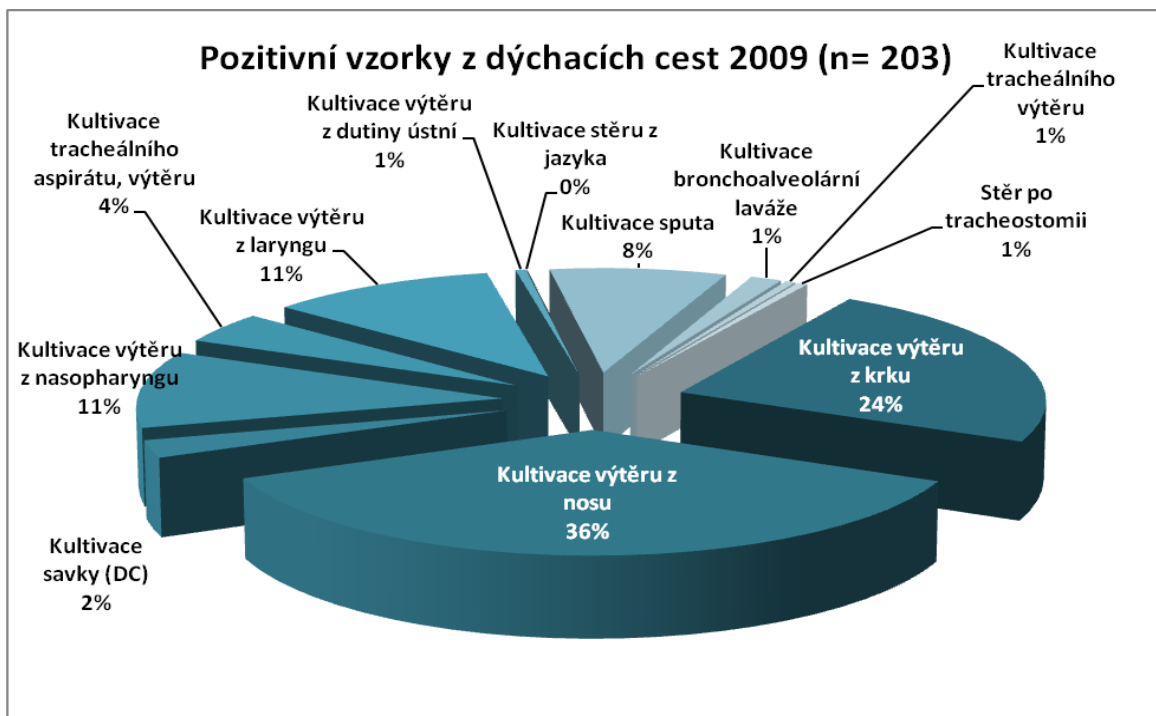


Graf 1: Srovnání celkového výskytu MRSA v klinických materiálech v letech 2008 a 2009



Graf 2: Procentuální zastoupení MRSA pozitivních vzorků z dýchacích cest v roce 2008 (n= 157)

Z celkového počtu 157 MRSA pozitivních vzorků dýchacích cest tvoří 30 % vzorky výtěru z nosu a 16 % vzorky výtěru z krku.



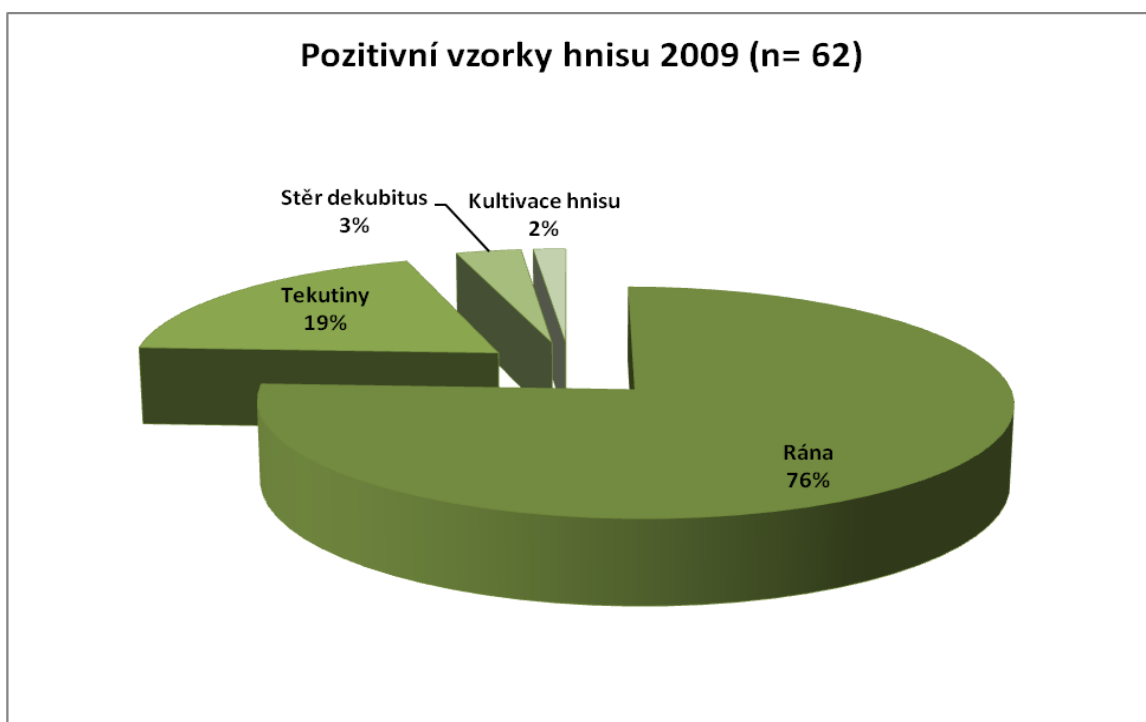
Graf 3: Procentuální zastoupení MRSA pozitivních vzorků z dýchacích cest v roce 2009 (n= 203)

Z celkového počtu 203 MRSA pozitivních vzorků dýchacích cest tvoří vzorky výtěrů z nosu 36 % a vzorky výtěrů z krku 24 %.



**Graf 4 : Procentuální zastoupení MRSA pozitivních vzorků hnisu v roce 2008 (n= 85)**

Z celkového počtu 85 MRSA pozitivních vzorků tvoří 74 % vzorky z ran.



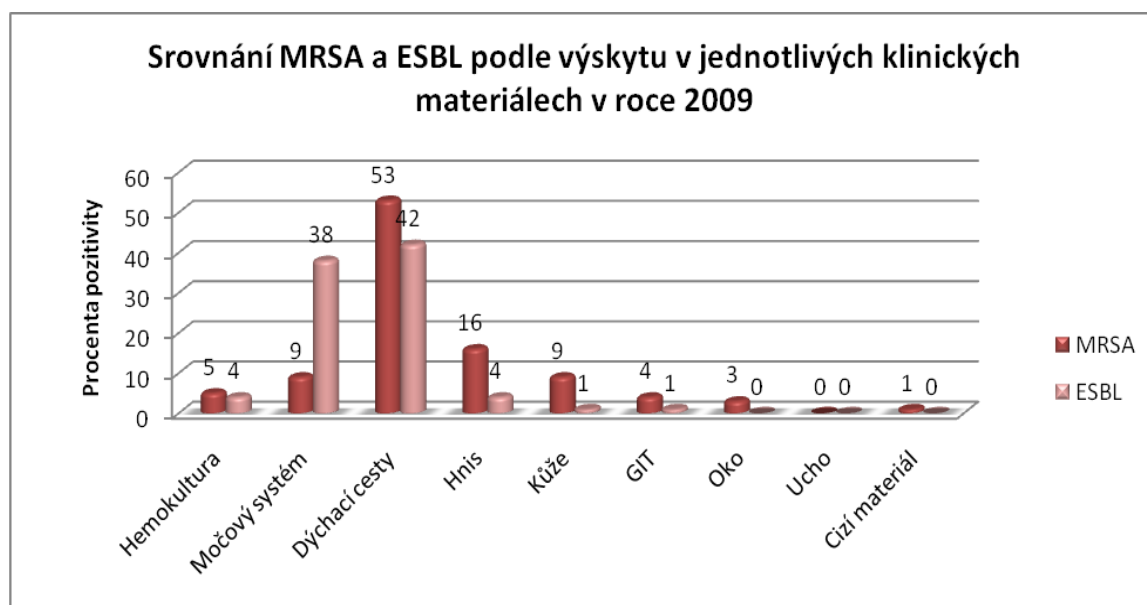
**Graf 5: Procentuální zastoupení MRSA pozitivních vzorků hnisu v roce 2009 (n= 62)**

Z celkového počtu 62 MRSA pozitivních vzorků hnisu tvoří vzorky z ran 76 %.

V tabulce 10 a grafu 7 je uvedeno srovnání záchytu v klinických materiálech dvou vybraných nozokomiálních patogenů: *S. aureus* MRSA a *Klebsiella pneumoniae* produkující širokospektrou betalaktamázu ESBL (extended spectrum betalactamase) v FN HK za rok 2009. Nejčastěji pozitivním materiálem byly v roce 2009 pro obě bakterie vzorky z dýchacích cest (53 % pro MRSA, 42 % pro ESBL).

**Tabulka 10: Procentuální srovnání výskytu MRSA a ESBL v jednotlivých klinických materiálech v roce 2009**

Materiál	MRSA (%)	ESBL (%)
Hemokultura	5	4
Močový systém	9	38
Dýchací cesty	53	42
Hnis	16	4
Kůže	9	1
GIT	4	1
Oko	3	0
Ucho	0	0
Cizí materiál	1	0



**Graf 6: Procentuální srovnání výskytu MRSA a ESBL v jednotlivých klinických materiálech v roce 2009** (zpracováno podle Schrammové, 2011)

#### 8.4.2. Výskyt MRSA ve vzorcích podle prvního pozitivního záchytu

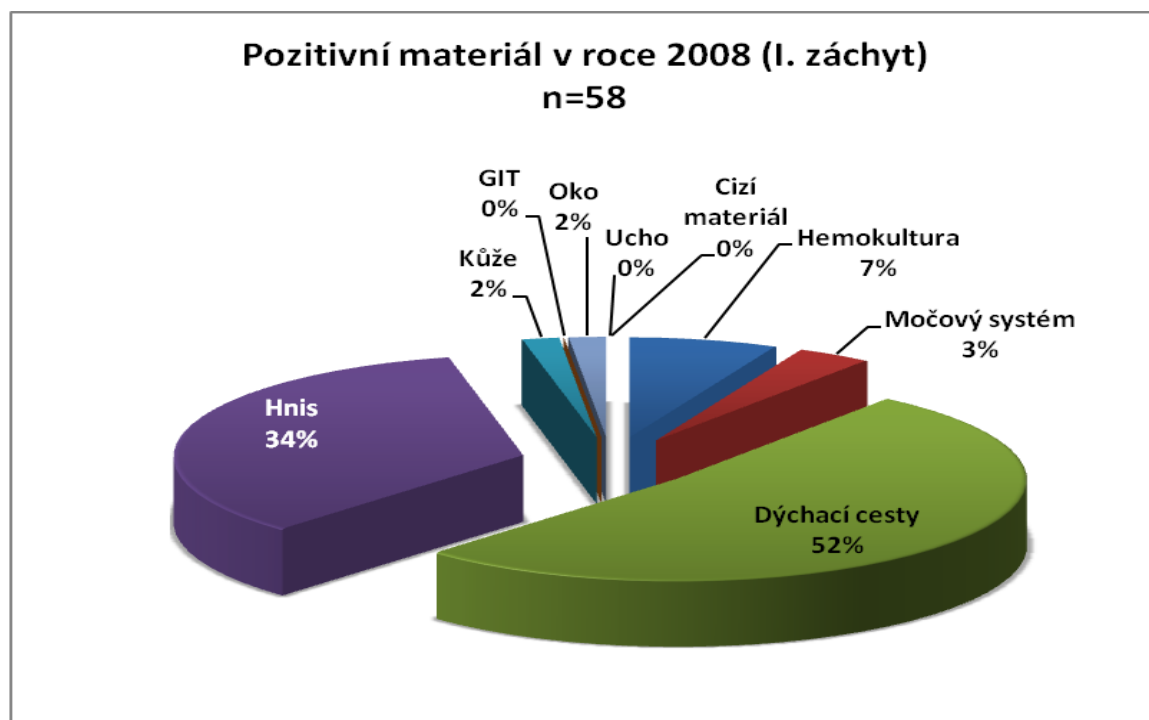
V roce 2008 byl počet prvních pozitivních záchytů 58, v roce 2009 to bylo celkem 70 záchytů. Nejčastěji pozitivním materiálem byly i v tomto případě vzorky z dýchacích cest (49-52 %) a vzorky hnisu (33-34 %).

Výskyt MRSA v klinických materiálech podle prvního záchytu je znázorněn v tab. 11 a grafu 7 a 8.

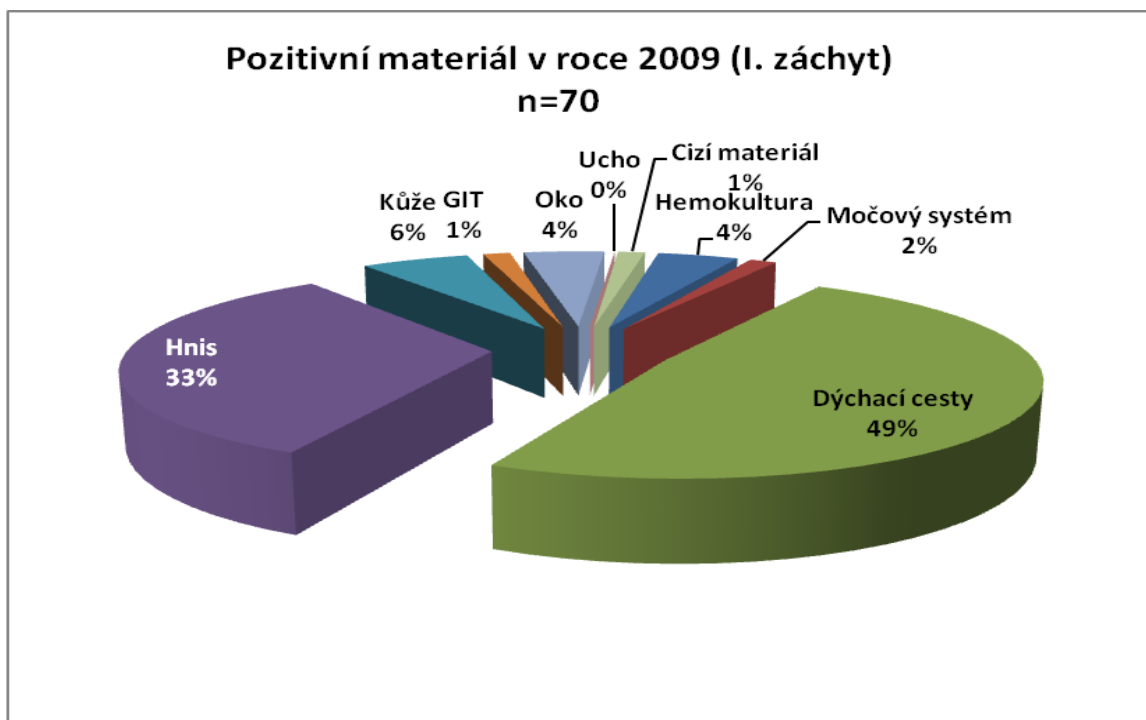
Srovnání prvního pozitivního a celkového záchytu v jednotlivých materiálech v letech 2008 a 2009 je uvedeno v tab. 13 a grafu 10 a 11.

**Tabulka 11: Výskyt MRSA pozitivního materiálu podle prvního záchytu v roce 2008 a 2009**

Materiál	I. pozitivní záchyt 2008	I. pozitivní záchyt 2009
Hemokultura	4	3
Močový systém	2	1
Dýchací cesty	30	34
Hnis	20	23
Kůže	1	4
GIT	0	1
Oko	1	3
Ucho	0	0
Cizí materiál	0	1
<b>Celkem</b>	<b>58</b>	<b>70</b>



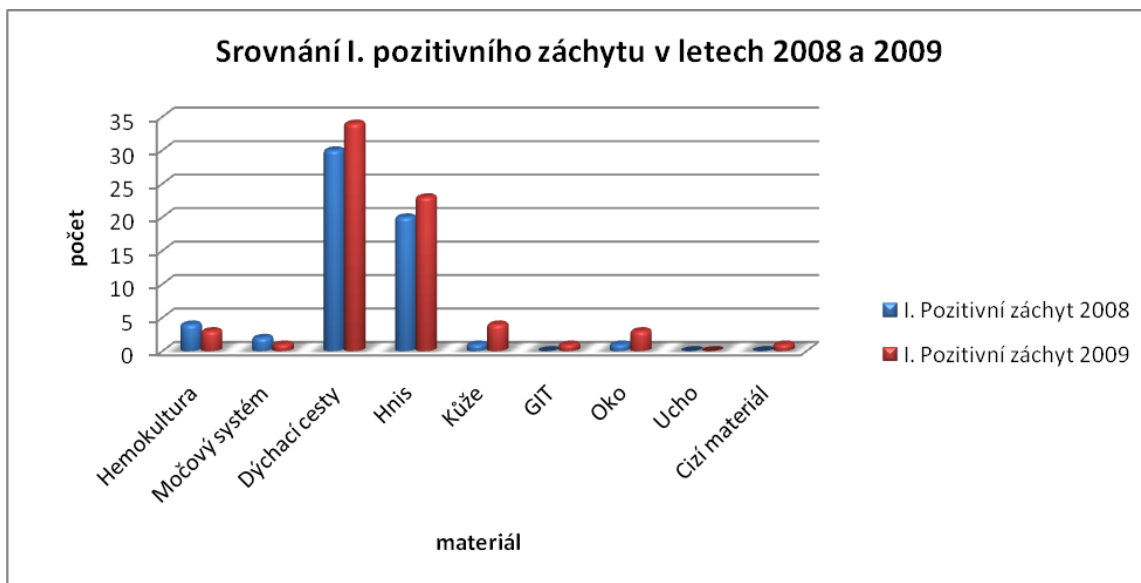
**Graf 7: Procentuální zastoupení MRSA pozitivního materiálu v roce 2008 podle prvního pozitivního záchytu (n=58)**



**Graf 8: Procentuální zastoupení MRSA pozitivního materiálu podle prvního pozitivního záchytu v roce 2009 (n=70)**

**Tabulka 12 : Srovnání MRSA pozitivního materiálu v letech 2008 a 2009 podle prvního pozitivního záchytu**

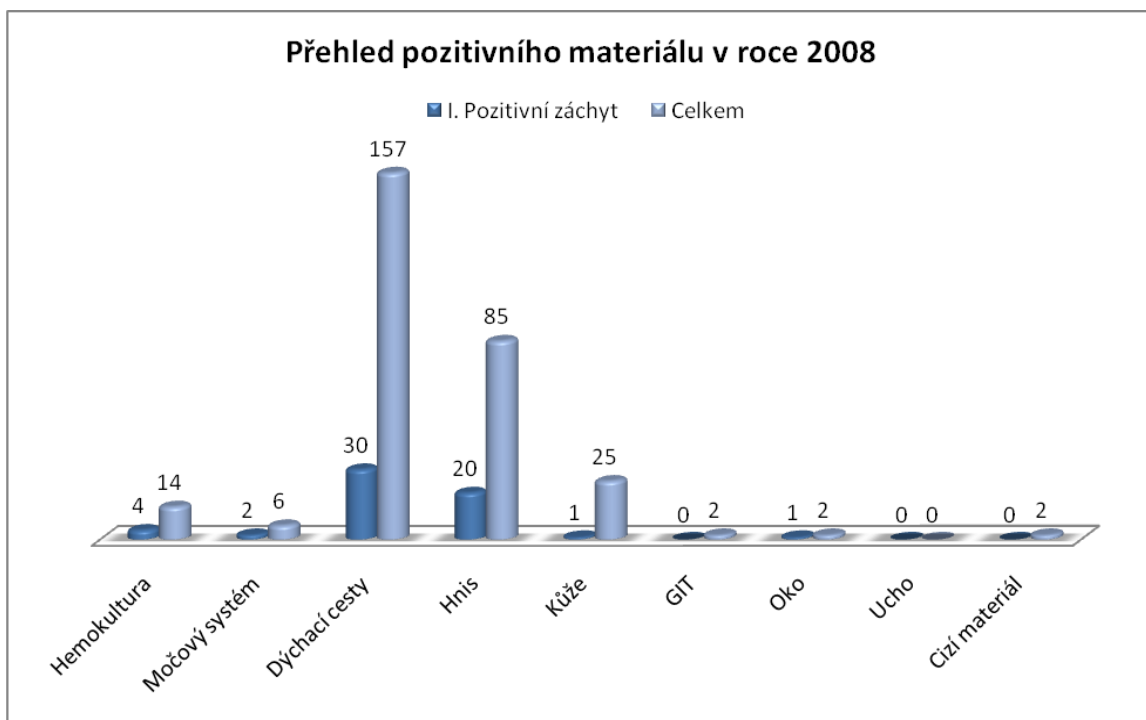
Materiál	I. pozitivní záchyt 2008	I. pozitivní záchyt 2009
Hemokultura	4	3
Močový systém	2	1
Dýchací cesty	30	34
Hnis	20	23
Kůže	1	4
GIT	0	1
Oko	1	3
Ucho	0	0
Cizí materiál	0	1
<b>Celkem</b>	<b>58</b>	<b>70</b>



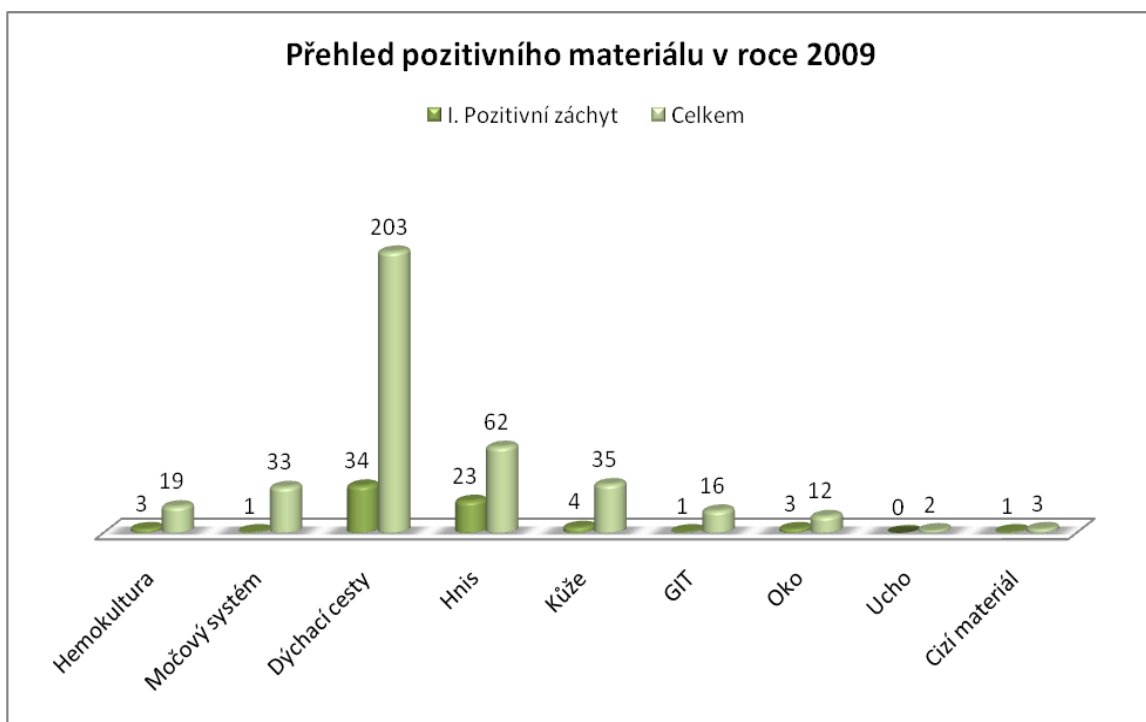
**Graf 9: Srovnání MRSA pozitivního materiálu v letech 2008- 2009 podle prvního pozitivního záchytu**

**Tabulka 13: Pozitivní materiál 2008 (první pozitivní záchyt, opakovaně, celkem)**

Materiál	ROK 2008		ROK 2009	
	I. pozitivní záchyt	Celkem	I. pozitivní záchyt	Celkem
Hemokultura	4	14	3	19
Močový systém	2	6	1	33
Dýchací cesty	30	157	34	203
Hnis	20	85	23	62
Kůže	1	25	4	35
GIT	0	2	1	16
Oko	1	2	3	12
Ucho	0	0	0	2
Cizí materiál	0	2	1	3



**Graf 10: Pozitivní materiál v roce 2008 (první pozitivní záchyt, celkem)**



**Graf 11: Pozitivní materiál v roce 2009 (první pozitivní záchyt, celkem)**

### 8.4.3 Výskyt MRSA na jednotlivých klinikách FN Hradec Králové

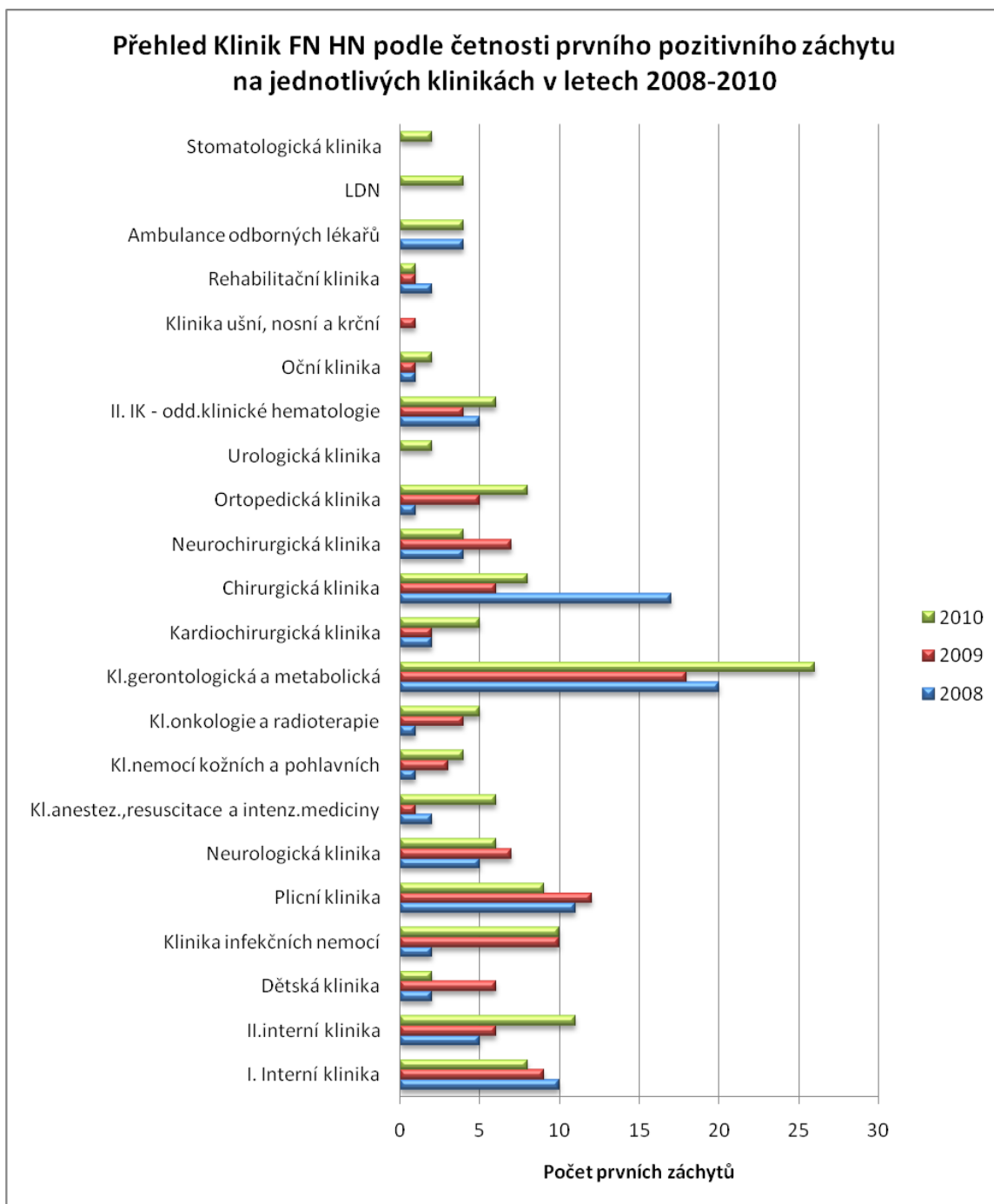
Výskyt MRSA na jednotlivých klinikách podle prvního pozitivního záchytu je uveden v tab. 14 a grafu 12. Nejvyšší počet pozitivních pacientů byl zaznamenán ve všech letech na Klinice gerontologické a metabolické. Nejvyšší nárůst prvního záchytu mezi roky 2008 a 2010 byl zachycen na Klinice infekčních nemocí (+ 8), Ortopedické



klinice (+ 7), klinice gerontologické a metabolické (+ 6) a II. Interní klinice (+ 6).  
Pokles byl zaznamenán u Chirurgické kliniky (- 9).

**Tabulka 14: Srovnání jednotlivých klinik FN HK v letech 2008-2010 podle četnosti prvního pozitivního záchytu MRSA**

Klinika	I. záchyty 2008	I. záchyty 2009	I. záchyty 2010
I. Interní klinika	10	9	8
II. Interní klinika	5	6	11
Dětská klinika	2	6	2
Klinika infekčních nemocí	2	10	10
Plicní klinika	11	12	9
Neurologická klinika	5	7	6
Kl. anestezi., resuscitace a intenz. medicíny	2	1	6
Kl. nemocí kožních a pohlavních	1	3	4
Kl. onkologie a radioterapie	1	4	5
Kl. gerontologická a metabolická	20	18	26
Kardiochirurgická klinika	2	2	5
Chirurgická klinika	17	6	8
Neurochirurgická klinika	4	7	4
Ortopedická klinika	1	5	8
Urologická klinika	0	0	2
II. IK - odd. Klinické hematologie	5	4	6
Oční klinika	1	1	2
Klinika ušní, nosní a krční	0	1	0
Rehabilitační klinika	2	1	1
Ambulance odborných lékařů	4	0	4
LDN	0	0	4
Stomatologická klinika	0	0	2

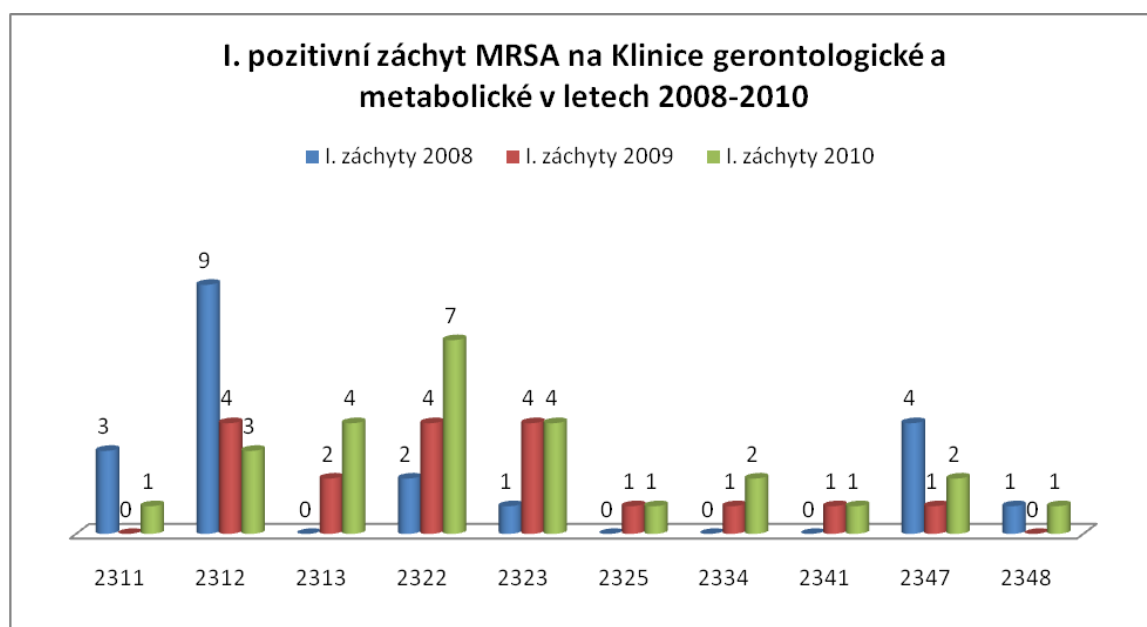


**Graf 12: Srovnání klinik FN HK v letech 2008-2010 podle četnosti prvního pozitivního záchytu MRSA na klinikách**

Výskyt MRSA na jednotlivých odděleních Kliniky gerontologické a metabolické je uveden v tab. 15. Jejich četnost na jednotlivých odděleních této kliniky je znázorněna na grafu 13. Nejvyšší záchyt byl zjištěn na jednotce intenzivní péče A a oddělení geriatrickém.

**Tabulka 15: První pozitivní záchyty MRSA v letech 2008-2010 na jednotlivých odděleních Kliniky gerontologické a metabolické**

Kód	Oddělení	I. záchyty 2008	I. záchyty 2009	I. záchyty 2010
2311	JIP geriatrická	3	0	1
2312	JIP A	9	4	3
2313	JIP B	0	2	4
2322	Odd. geriatrické	2	4	7
2323	Odd. A (lůžkové)	1	4	4
2325	Odd. F (následná péče)	0	1	1
2334	Poradna gerontologická	0	1	2
2341	Poradna diabetologická	0	1	1
2347	Dialýza	4	1	2
2348	Poradna nefrologická	1	0	1



**Graf 13: První pozitivní záchyt MRSA na jednotlivých odděleních Kliniky gerontologické a metabolické v letech 2008-2010**

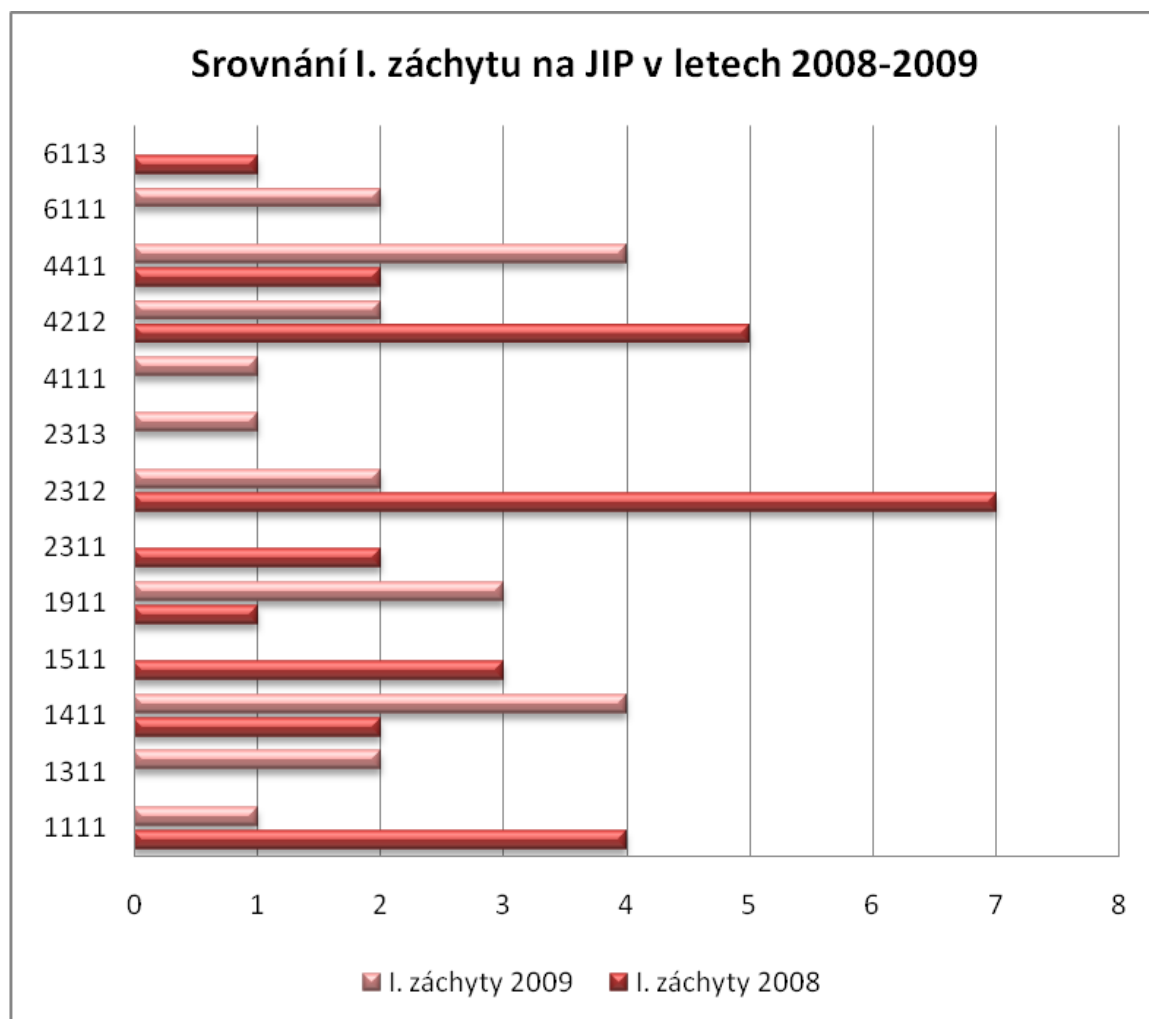
#### 8.4.4. Výskyt MRSA v intenzivní péči

Výskyt positivity MRSA na jednotkách intenzivní péče podle prvního pozitivního záchytu je zobrazen v tab. 16 a grafu 14. V roce 2008 byla nejvyšší četnost prvního pozitivního záchytu MRSA na JIP Kliniky gerontologické a metabolické, v roce 2009 byl nejvyšší první pozitivní záchyt na JIP Kliniky plicní a neurochirurgické.

Srovnání prvního záchytu na jednotkách intenzivní péče a standardních odděleních je uvedeno v tab. 17 a grafu 15. V obou sledovaných letech je vyšší výskyt positivity MRSA na standardních odděleních.

**Tabulka 16 : JIP- srovnání počtu prvních pozitivních záchytů MRSA v letech 2008 a 2009**

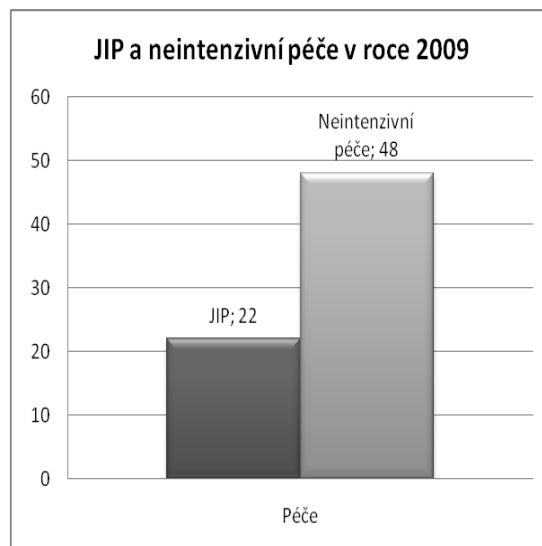
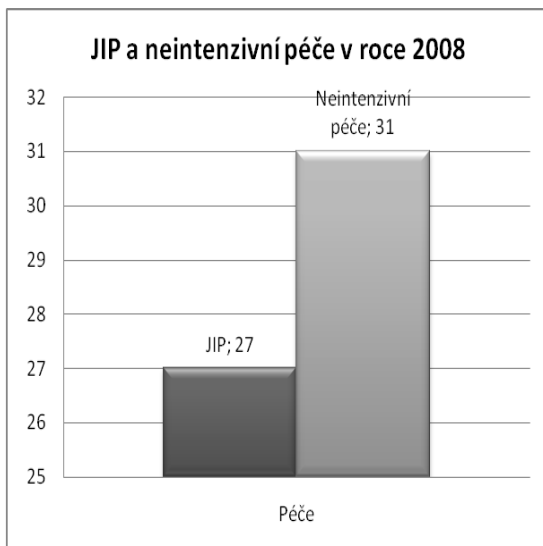
Kód	JIP	I. záchyty 2008	I. záchyty 2009
1111	Akutní kardiologie	4	1
1311	JIP	0	2
1411	JIP	2	4
1511	JIP	3	0
1911	Odd. lůžkové	1	3
2311	JIP geriatrická	2	0
2312	JIP interní A	7	2
2313	JIP interní B	0	1
4111	JIP	0	1
4212	JIP 1	5	2
4411	JIP	2	4
6111	JIP - transplantační	0	2
6113	JIP	1	0



**Graf 14: Výskyt MRSA pozitivních vzorků na JIP podle prvního pozitivního záchytu v letech 2008-2009**

**Tabulka 17: Výskyt MRSA na JIP a standardních odděleních podle prvního záchytu v letech 2008 a 2009**

Rok	JIP	Neintenzivní péče	Celkem
2008	27	31	58
2009	22	48	70



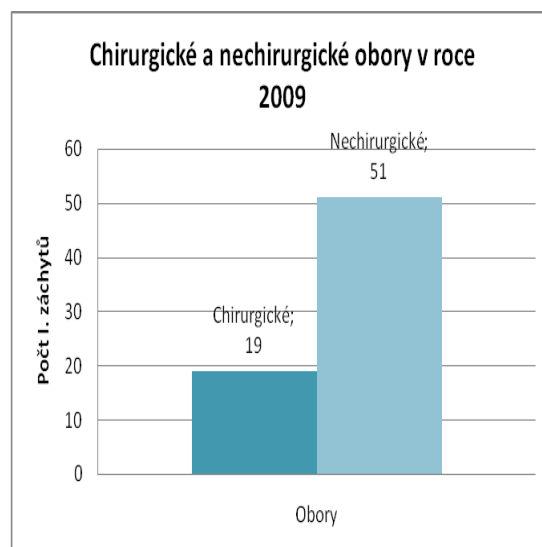
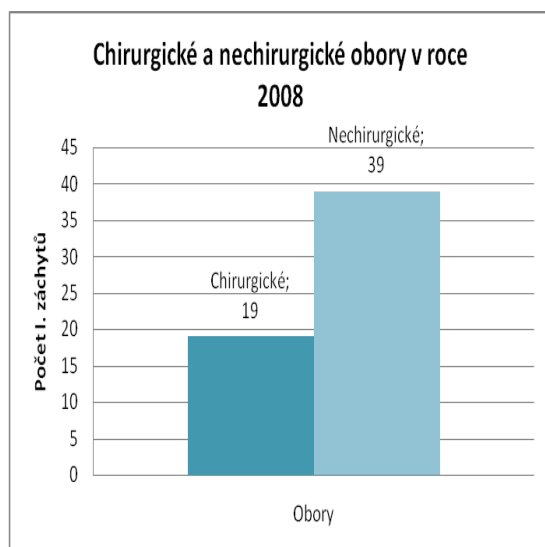
**Graf: 15: Výskyt MRSA pozitivních vzorků na JIP ve srovnání s jednotkami standardní péče v letech 2008 a 2009**

#### 8.4.5. Výskyt MRSA v chirurgických a nechirurgických oborech

Srovnání výskytu MRSA v chirurgických a nechirurgických oborech v letech 2008 a 2009 je uvedeno v tab. 18 a grafu 16. Vyšší zastoupení MRSA pozitivních pacientů je zaznamenáno u nechirurgických oborů v obou sledovaných letech.

**Tabulka 18: Srovnání výskytu MRSA na chirurgických a nechirurgických odděleních v letech 2008 a 2009 (první pozitivní záchyt)**

Obory	2008	2009
Chirurgické	19	19
Nechirurgické	39	51



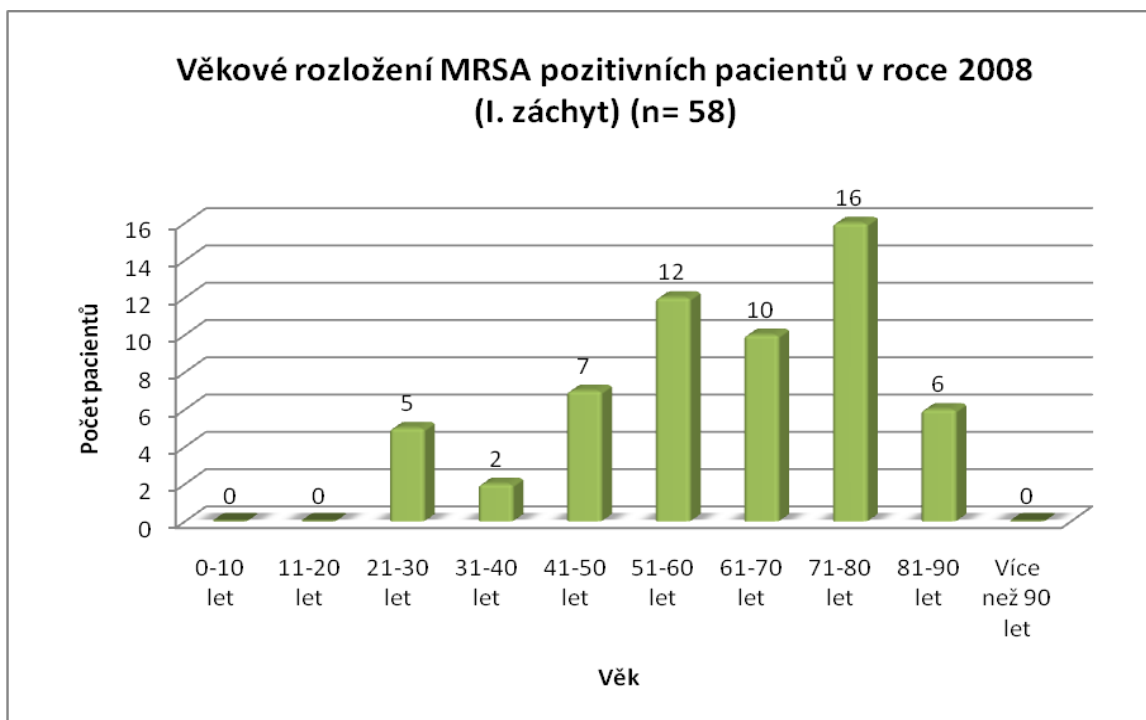
**Graf 16: Srovnání výskytu MRSA na chirurgických a nechirurgických odděleních v letech 2008 a 2009 podle první positivity**

Vyšší zastoupení MRSA pozitivních pacientů je zaznamenáno u nechirurgických oborů v obou sledovaných letech.

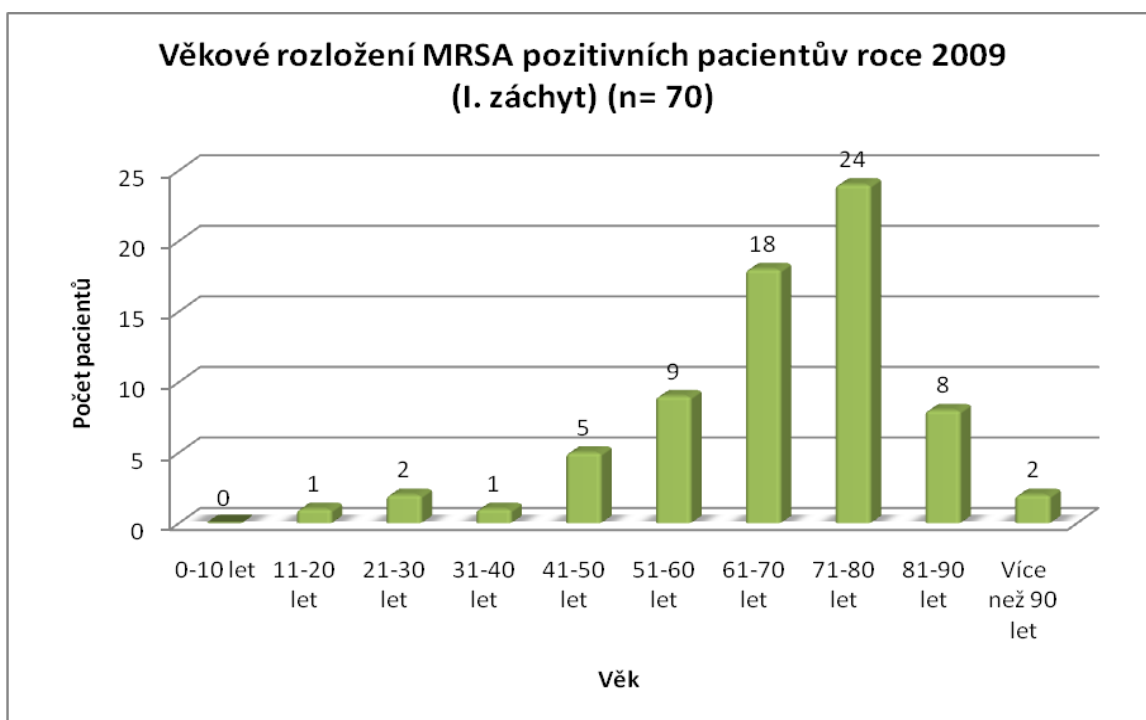
#### 8.4.6. Věk a pohlaví MRSA pozitivních pacientů

Graf 17 a 18 zobrazují věkové rozložení MRSA pozitivních pacientů v letech 2008 a 2009 podle prvního pozitivního záchytu. S vyšším věkem četnost positivity narůstá a nejvyšší počet pozitivních pacientů byl v obou sledovaných letech zaznamenán ve věkové kategorii 71-80 let.

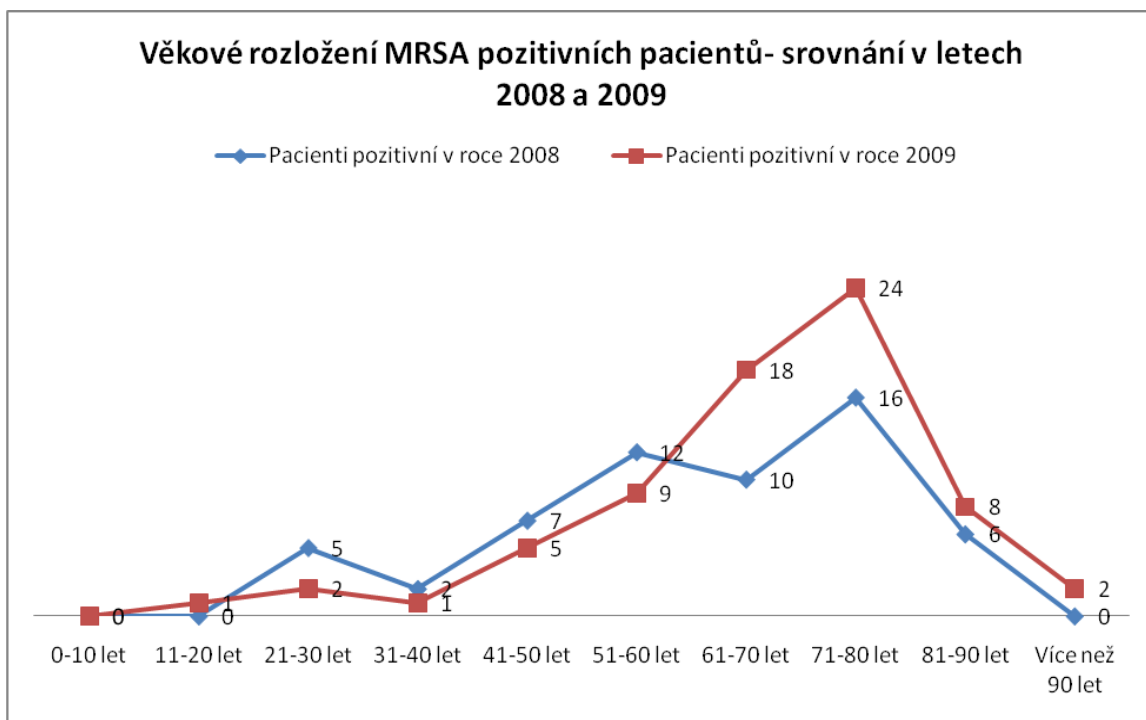
Tabulka 19 a graf 20 zobrazují pohlaví MRSA pozitivních pacientů v letech 2008-2009. Převažuje mužské pohlaví (61 %)



Graf 17: Četnost pozitivity prvního záchytu MRSA podle věku pacientů v roce 2008



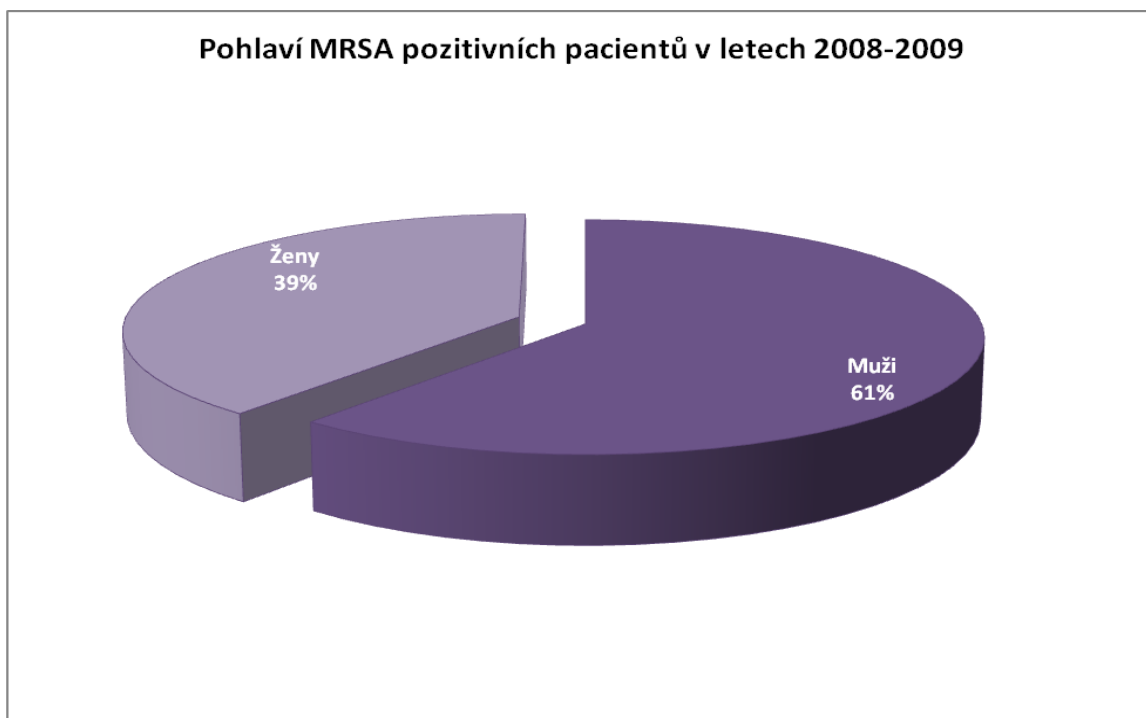
Graf 18: Četnost pozitivity prvního záchytu MRSA podle věku pacientů v roce 2009



**Graf 19: Srovnání věkového rozložení MRSA pozitivních pacientů v letech 2008 a 2009**

**Tabulka 19: Pohlaví MRSA pozitivních pacientů**

Rok	Muži	Ženy
2008	40	18
2009	38	32



**Graf 20: Procentuální srovnání zastupení pohlaví u MRSA pozitivních pacientů v letech 2008 a 2009**



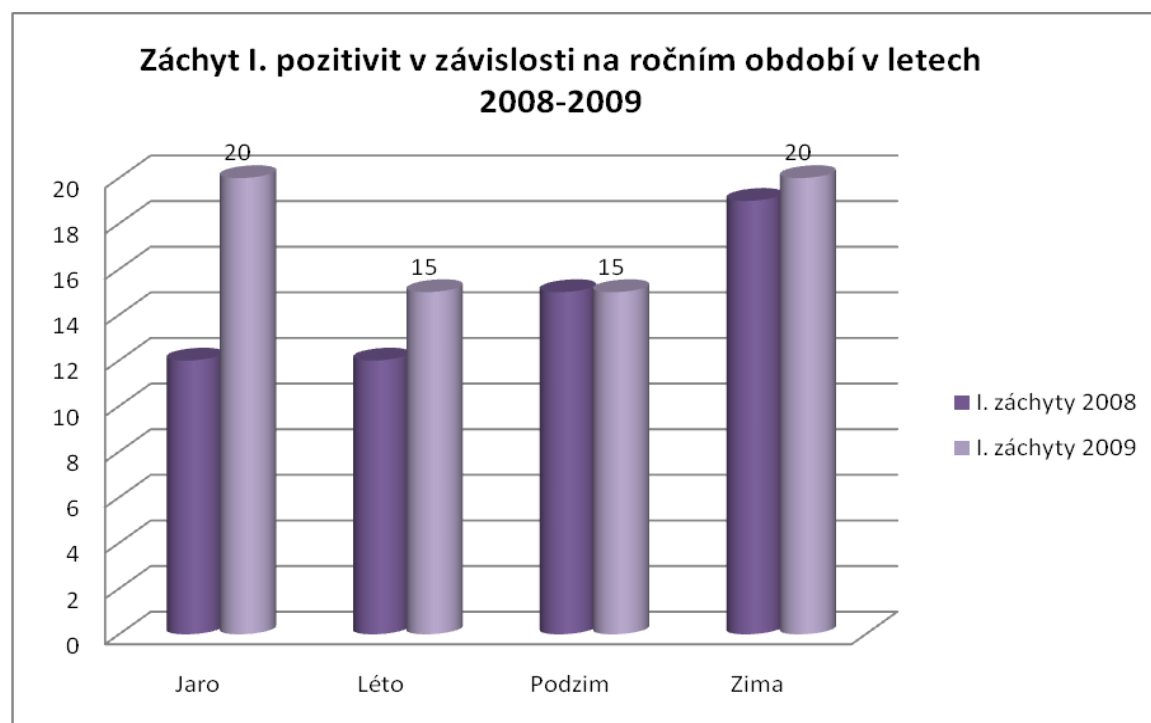
#### 8.4.7. Záchyt MRSA v časové ose roku

První pozitivní záchyt MRSA v jednotlivých ročních obdobích let 2008 a 2009 je zobrazen v tab. 20 a grafu 21. Nejvyšší počet prvních pozitivních záchytů byl zjištěn na jaře a v zimě roku 2009.

První, opakovaný a celkový pozitivní záchyt MRSA v jednotlivých měsících let 2008 a 2009 je zobrazen v tab. 21 a na grafech 22 a 23.

**Tabulka 20: Záchyt prvních pozitivit v letech 2008 a 2009 v závislosti na ročním období**

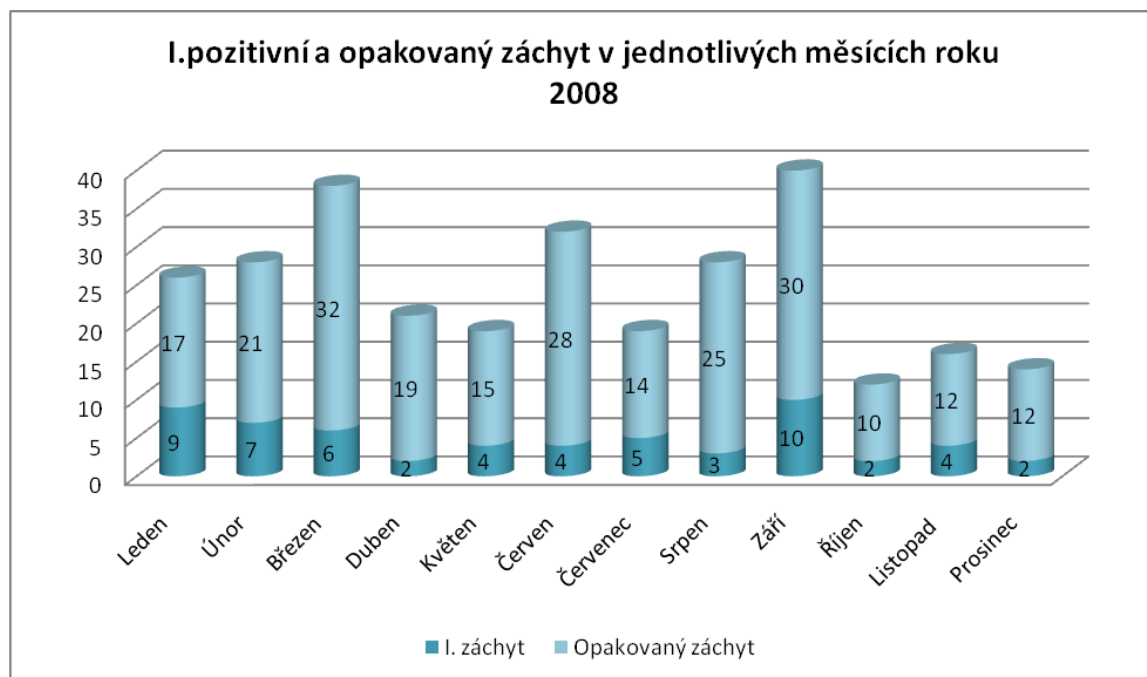
Roční období	I. záchyty 2008	I. záchyty 2009
Jaro	12	20
Léto	12	15
Podzim	15	15
Zima	19	20



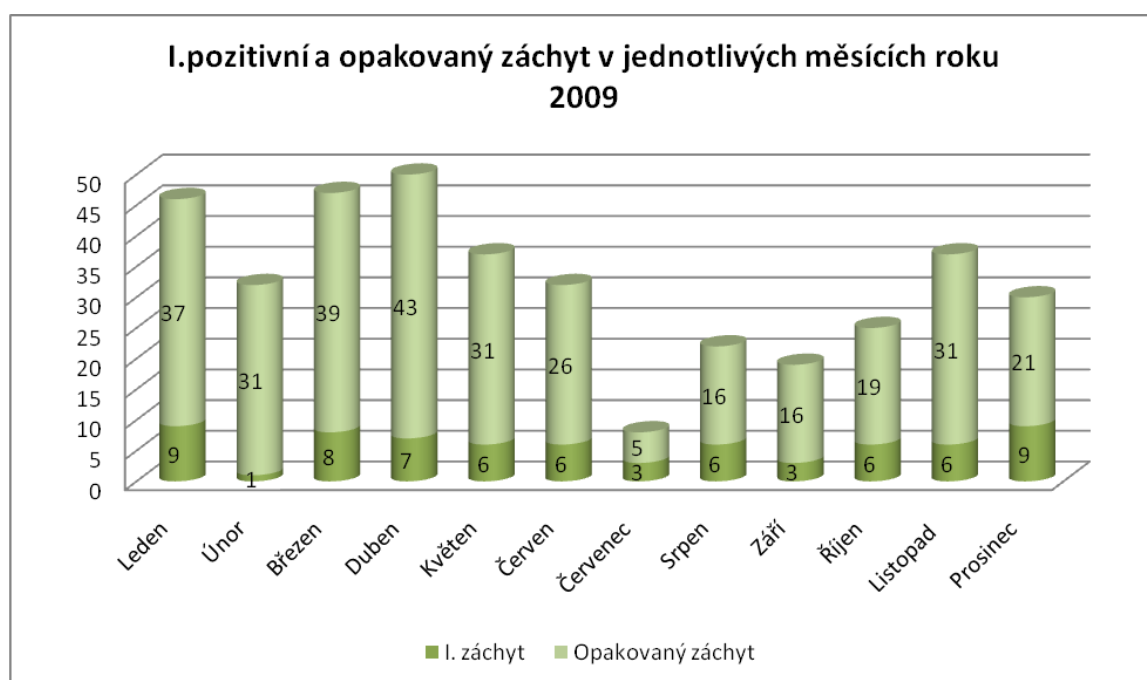
**Graf 21: První pozitivní záchyt MRSA v jednotlivých ročních obdobích let 2008 a 2009**

**Tabulka 21: Výskyt MRSA pozitivních vzorků v jednotlivých měsících roku 2008 a 2009**

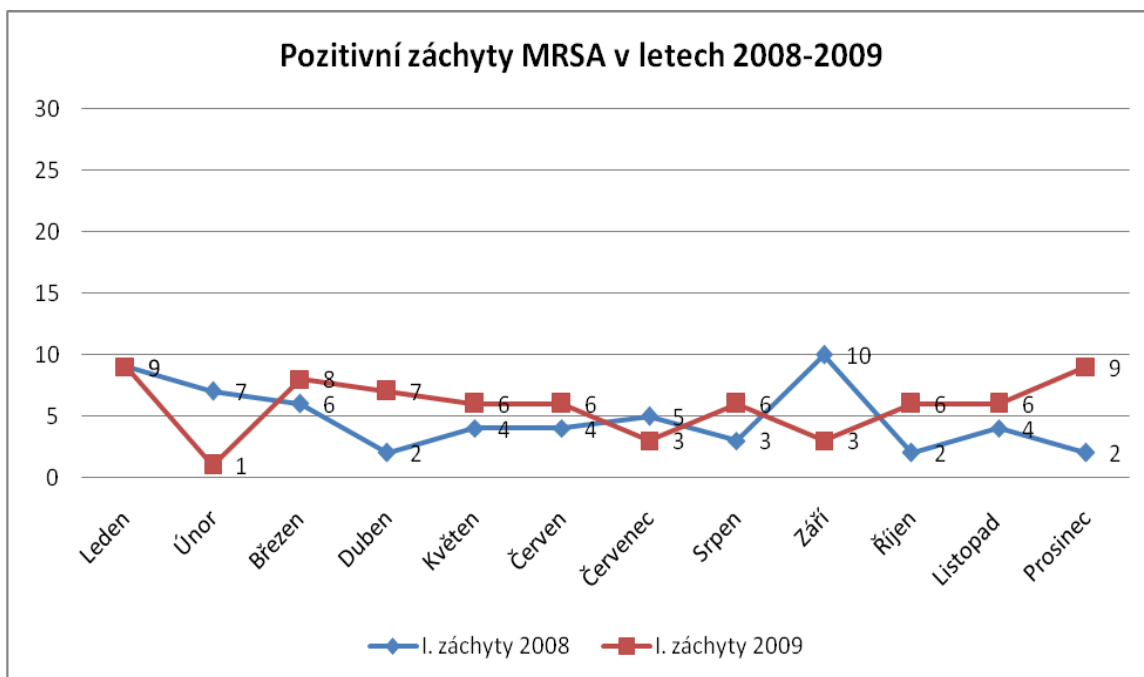
Měsíce	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	Záchyt
2008	9	7	6	2	4	4	5	3	10	2	4	2	I. pozitivní
	17	21	32	19	15	28	14	25	30	10	12	12	Opakovaný
2009	9	1	8	7	6	6	3	6	3	6	6	9	I. pozitivní
	37	31	39	43	31	26	5	16	16	19	31	21	Opakovaný



**Graf 22: Srovnání MRSA pozitivit podle prvních a opakovaných záchytů v jednotlivých měsících roku 2008**



**Graf 23: Srovnání MRSA pozitivit podle prvních a opakovaných záchytů v jednotlivých měsících roku 2009**



**Graf 24: Srovnání prvního záchytu MRSA pozitivních vzorků v letech 2008-2009**

Nebyla zjištěna žádná závislost výskytu pozitivita MRSA na určitých měsících.

#### 8.4.8. MRSA pacienti poprvé pozitivní v letech 2008 a 2009

V letech 2008 a 2009 bylo celkem 168 pacientů s prvním pozitivním záchytem MRSA. Z toho bylo 40 pacientů diagnostikováno v jiném zdravotnickém zařízení. Ze 128 pacientů, jejichž pozitivita byla kulturačně potvrzena na ÚKM FN HK, bylo dále opakovaně kulturačně vyšetřováno 115 pacientů.

U všech pacientů byla prováděna screeningová vyšetření (cílená kulturační vyšetření výtěru z krku, nosu, podpaží, hráze, chronických ran na MRSA) v celkovém počtu 2 344 za rok 2008 a 2002 za rok 2009, což je zobrazeno v tab. 22. Porovnání pozitivita těchto screeningových vyšetření k počtu celkem provedených vyšetření znázorňuje graf. 25. Zjištěná hodnota pozitivita (výběžnost screeningových vyšetření) má hodnotu 9,6 – 9,7 %.

Pozitivitu screeningu u pacientů v časové ose od první pozitivní izolace MRSA zachycuje tab. 23 a graf 26. Nejvyšší pozitivita byla v obou letech zjištěna do 1 měsíce od první pozitivní izolace.

Srovnání opakované pozitivita pacientů a pacientů, u kterých nebyla od prvního záchytu zjištěna dalšími vyšetřeními MRSA pozitivita, uvádí tab. 24 a grafické znázornění je vyjádřeno na grafu 27.

Hodnoty celkového a opakovaného záchytu u MRSA pozitivních pacientů zachycuje tab. 25. Hodnota celkového pozitivního záchytu je rovna číslu 699, z toho opakovaný

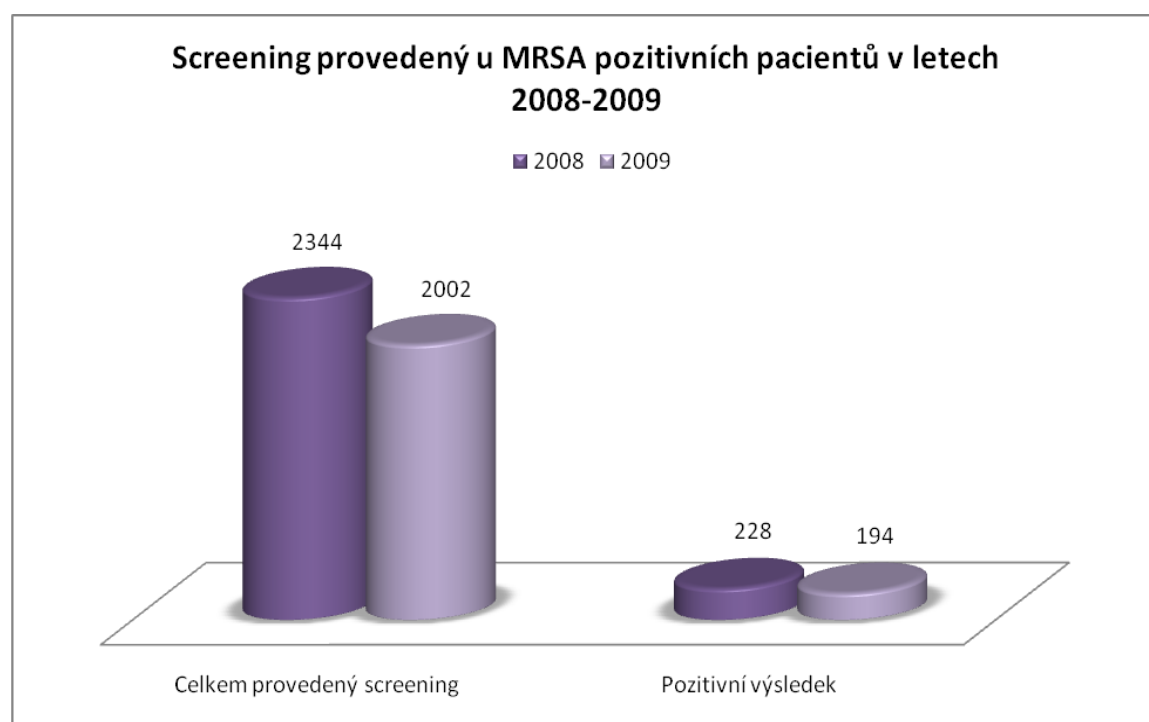
záchyt tvoří číslo 571. Zjištěný průměrný počet záchytů na jednoho pacienta má hodnotu 5,5. Průměrná hodnota opakovaného záchytu na jednoho pacienta je rovna číslu 5. Grafické znázornění podává graf 28.

Materiály, ve kterých byl zjištěn opakovaný pozitivní záchyt shrnuje tab. 26. Na prvním místě jsou s hodnotou 312 vzorky z dýchacích cest, což zobrazuje graf 29.

V tabulce 28 a grafu 31 je uvedeno srovnání výskytu rezistence k antibiotikům v letech 2008-2010.

**Tabulka 22: Screening provedený u pacientů poprvé pozitivních v letech 2008 a 2009**

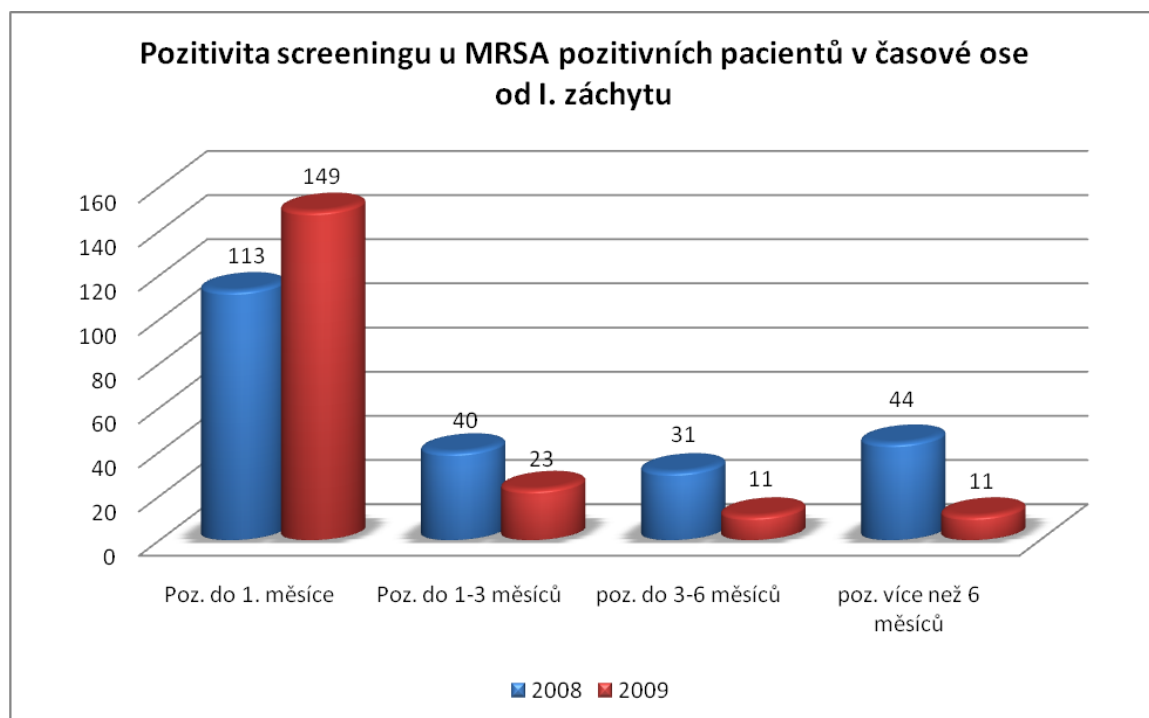
Rok	Celkem provedený screening	Pozitivní výsledek
2008	2344	228
2009	2002	194
Celkem	4346	422



**Graf 25: Screening provedený u MRSA pozitivních pacientů v letech 2008-2009**

**Tabulka 23: Pozitivita screeningu u pacientů v časové ose od záchytu první positivity**

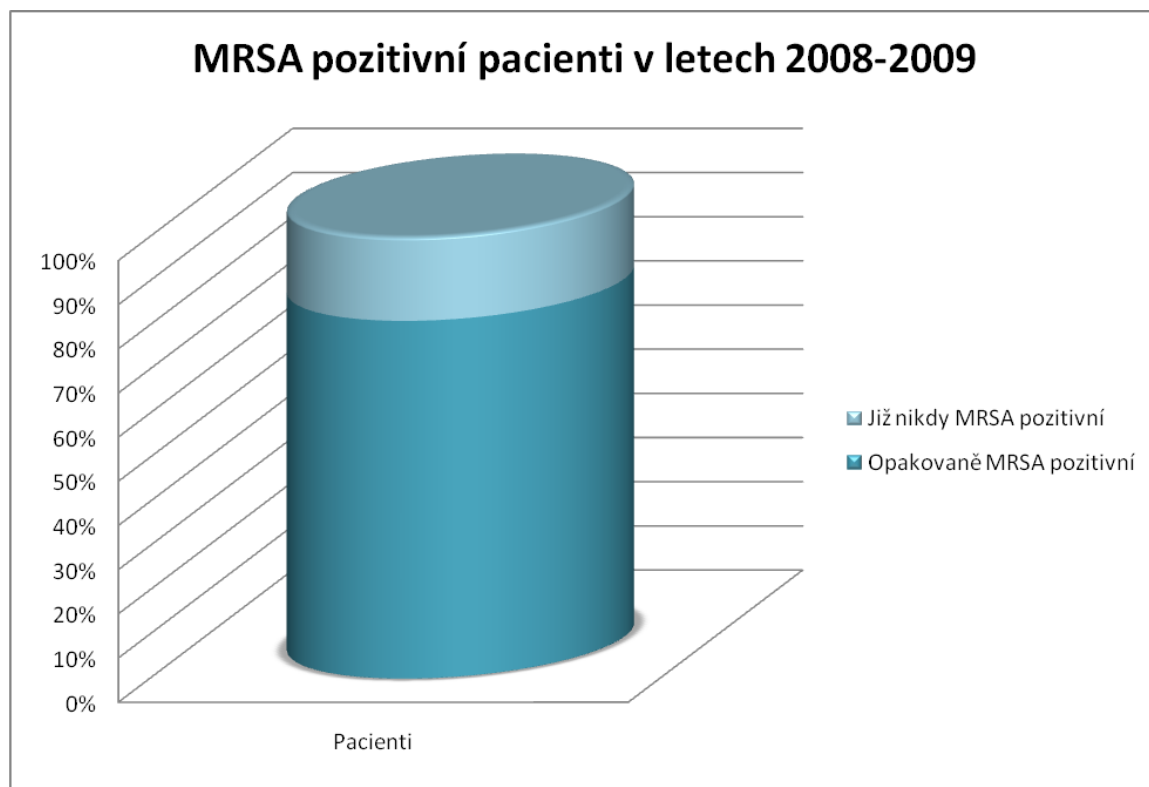
Rok	Poz. do 1. měsíce	Poz. do 1-3 měsíců	Poz. do 3-6 měsíců	Poz. za > 6 měsíců
2008	113	40	31	44
2009	149	23	11	11



**Graf 26: Znázornění positivity screeningu u MRSA pozitivních pacientů v časové ose od prvního pozitivního záchytu v letech 2008-2009**

**Tabulka 24: MRSA pozitivní pacienti ve FN HK poprvé pozitivní v letech 2008 a 2009**

Pacienti	Počet	Vyjádření v %
Celkem	128	
Opakovaně vyšetření	115	100
Opakovaně MRSA pozitivní	93	81
Již nikdy MRSA pozitivní	22	19

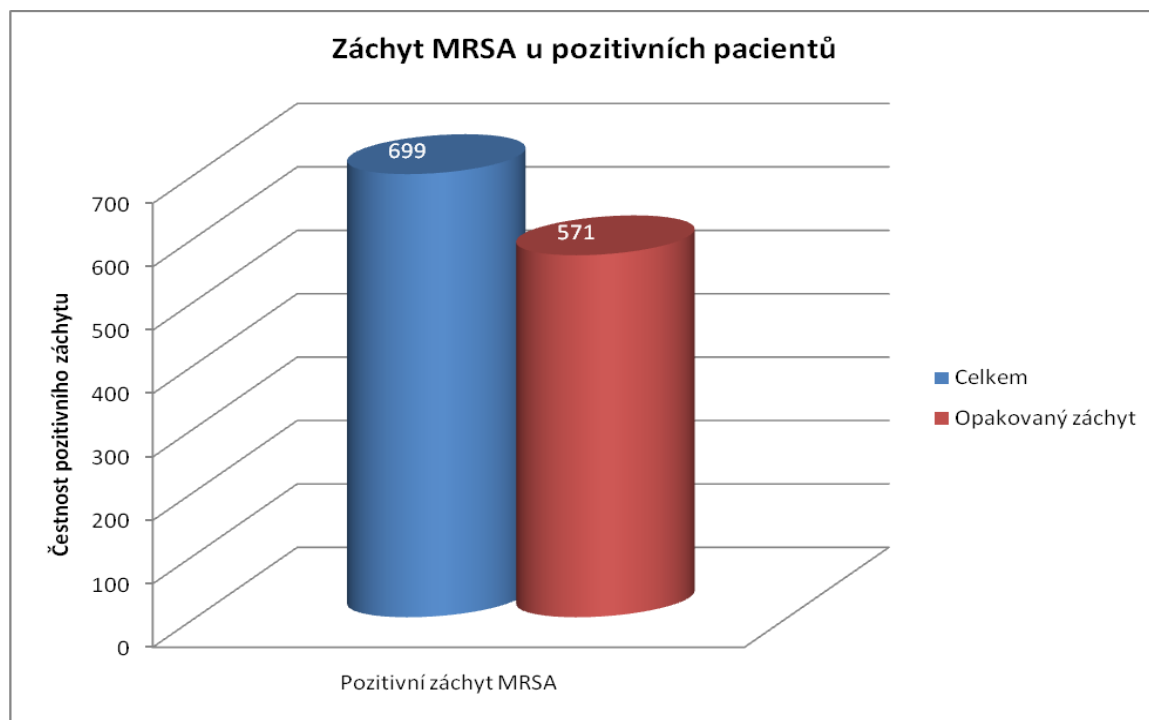


**Graf 27: Procentuální zastoupení pacientů, u kterých byla po prvním pozitivním záchytu MRSA zjištěna dalším vyšetřením opětovná pozitivita a pacientů, při dalších vyšetřeních již nikdy opakovaně pozitivních**

Z celkového počtu 115 opakovaně vyšetřovaných pacientů, byla u 81 % opětovně prokázána MRSA, zbylých 19 % bylo kultivačně negativních.

**Tabulka 25: Záchyt MRSA u pacientů poprvé pozitivních v roce 2008 a 2009**

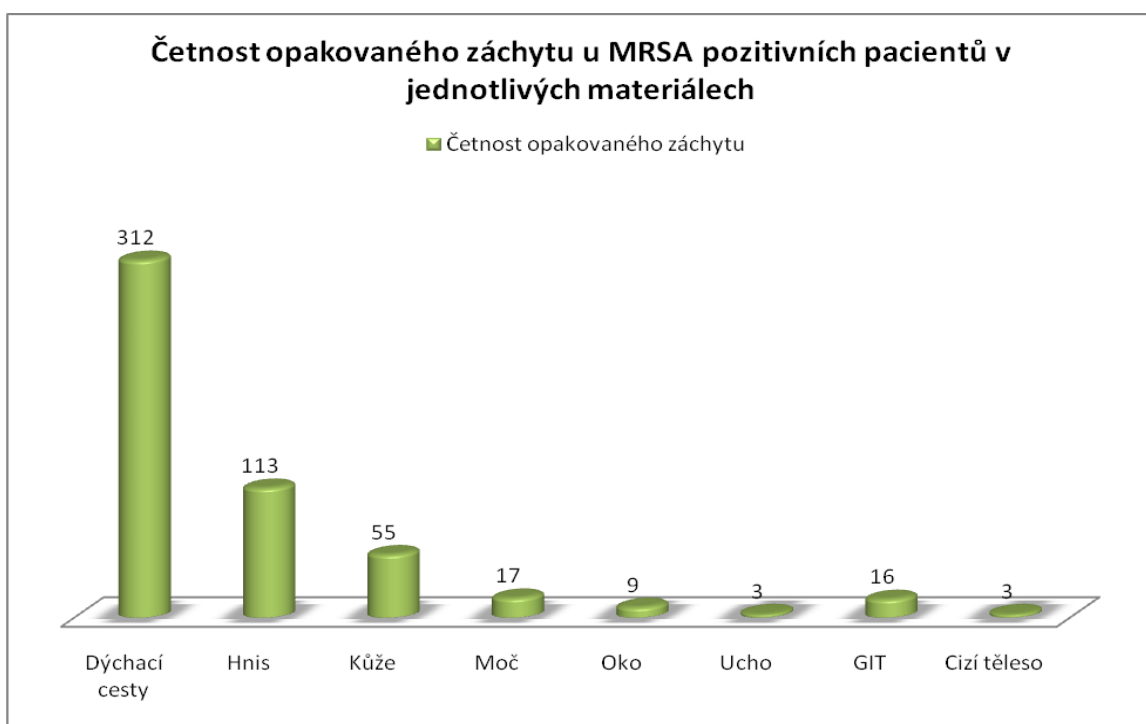
Pozitivní záchyt	Hodnota
Celkem	699
Opakovaný záchyt	571
Průměrný počet na pacienta	5,5
Průměrný počet opakovaných záchytů na pacienta	5



**Graf 28: Zobrazení celkového a opakovaného záchytu MRSA u pacientů poprvé pozitivních v letech 2008 a 2009**

**Tabulka 26: Materiály pacientů poprvé pozitivních v letech 2008 a 2009, ve kterých byl zjištěn opakovaný záchyt MRSA**

Materiály záchytu u opakovaně pozitivních pacientů	Celkem
Krev	43
Dýchací cesty	312
Hnis	113
Kůže	55
Moč	17
Oko	9
Ucho	3
GIT	16
Cizí těleso	3

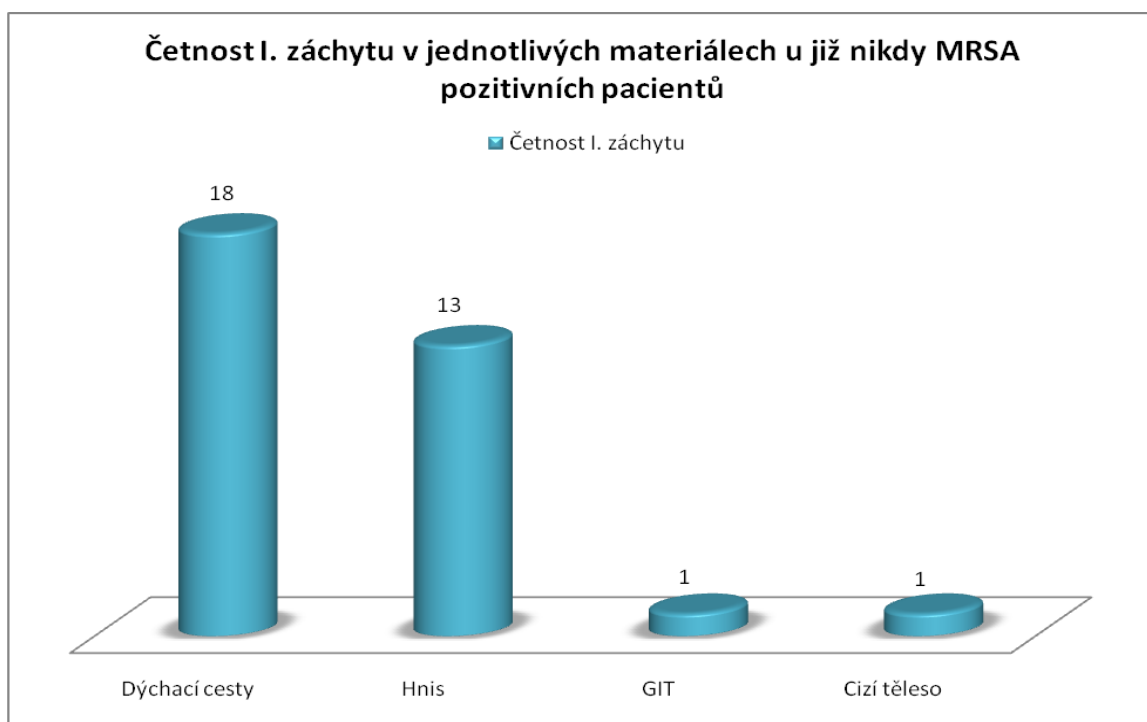


**Graf 29: Znázornění četnosti opakovaného záchytu v jednotlivých materiálech pacientů poprvé MRSA pozitivních v letech 2008 a 2009**



**Tabulka 27: Přehled materiálů, ze kterých byl zjištěn první pozitivní záchyt MRSA u již dále nikdy pozitivních pacientů (poprvé pozitivních v letech 2008 a 2009)**

Materiály I. pozitivního záchytu u již nikdy pozitivních pacientů	Celkem
Krev	2
Dýchací cesty	18
Hnis	13
GIT	1
Cizí těleso	1



**Graf 30: Znázornění četnosti prvního pozitivního záchytu v jednotlivých materiálech u dále již nikdy MRSA pozitivních pacientů (poprvé pozitivních v letech 2008 a 2009)**

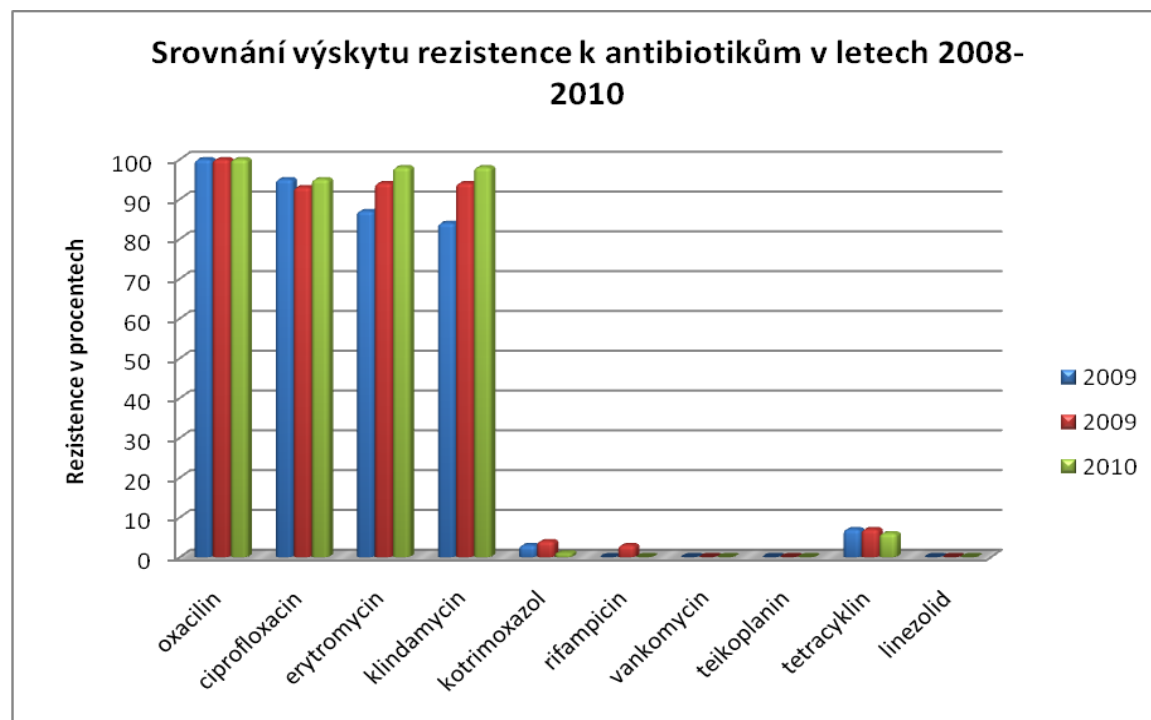
#### 4.8.9. Citlivost MRSA k antibiotikům

V tabulce 28 a grafu 31 je uvedeno srovnání výskytu rezistence k antibiotikům v letech 2008-2010 podle prvního pozitivního záchytu MRSA.

Tabulka 28: Srovnání výskytu rezistence k antibiotikům v letech 2008-2010

Antibiotikum	2008	% (n=97)	2009	% (n= 104)	2010	% (n=134)
Oxacilin	97	100	104	100	134	100
Ciprofloxacin	90	95	97	93	127	95
Erytromycin	83	87	98	94	131	98
Klindamycin	81	84	98	94	131	98
Kotrimoxazol	3	3	4	4	1	1
Rifampicin	0	NT	1	3	0	0
Vankomycin	0	0	0	0	0	0
Teikoplanin	0	0	0	0	0	0
Tetracyklin	7	7	7	7	8	6
Linezolid	0	0	0	0	0	0

\*NT- netestováno



Graf 31: Procentuální srovnání výskytu rezistence k antibiotikům v letech 2008-2010 podle prvního pozitivního záchytu MRSA

## IX. DISKUZE

Výskyt methicillin-rezistentních kmenů *S. aureus* je aktuálním celosvětovým problémem. Prvenství ve výskytu MRSA mezi izoláty *S. aureus* od hospitalizovaných pacientů ve světě drží USA - zhruba 60 % a Japonsko - více než 70 % (SPNN, 2010). Situace v České republice je srovnatelná se sousedními zeměmi a odpovídá hodnotě 10-25 % izolovaných kmenů (EARS-Net, 2009).

Tato studie je zaměřena pouze na nozokomiální výskyt MRSA a nejsou v ní tedy zahrnuty údaje od praktických lékařů. Situace na území Evropy je pod kontrolou EARS-Net, ke které se Česká republika připojila v roce 2000, a od července téhož roku bylo zahájeno sledování výskytu *S. aureus*. Do studie jsou zařazeny pouze kmeny izolované z krevních vzorků, které jsou povinně testovány na citlivost k vankomycinu. Podle údajů SZÚ ČR se výskyt rezistentních kmenů na území naší republiky pohyboval v letech 2000-2003 na hodnotě přibližně 6 %. V následujícím roce 2004 došlo ke zvýšení výskytu na 9 % a v roce 2009 to bylo již 13 % rezistentních kmenů, což koreluje s výsledky EARS-Net, která jako medián pro roky 2008-2009 udává hodnotu 12,5 %. Narůstající výskyt rezistentních kmenů byl zjištěn i ve FN HK, kdy bylo v roce 2008 zjištěno a následně dále kultivačně vyšetřeno 50 pacientů, v roce 2009 byl první pozitivní záchyt MRSA zaznamenán u 70 pacientů.

Současným trendem v laboratořích je zrychlení analýzy a zvýšení přesnosti výsledků. Rozvoj molekulární genetiky přinesl obrovské možnosti v diagnostice patogenních bakterií. Nevýhodou těchto přístupů ovšem zůstává vysoká cena a finančně náročné vybavení, takže tyto metody nejsou vhodné pro menší laboratoře. Proto byly hledány další alternativy a jednou z nich je chromogenní agar (BioRad), který byl použit pro screening MRSA i ve FN HK. Podle studie Riedela et al. je senzitivita i specifita tohoto testu, doplněného konfirmačním koagulásovým testem růžově rostoucích kolonií k vyloučení koaguláso-negativních stafylokoků, rovna hodnotě 90 % (Riedel et al., 2009). Dourčení kolonií může být provedeno stanovením volné koagulázy (např. Itest) a biochemickými testy (např. VITEK 2 BioMerieux).

Nejčastěji pozitivním materiálem jsou vzorky z dýchacích cest (53 %) a vzorky hnisu (16-29 %). Kunishima ve své studii z let 2004-2008 udává pozitivitu materiálů z dýchacích cest 60 % (Kunishima, 2010). Nejvyšší četnost pozitivního materiálu byla v obou letech pro vzorky z dýchacích cest zjištěna u kultivace výtěru z nosu (30-36 %) a pro vzorky hnisu u kultivace z rány (74-76 %). Vysoká četnost positivity u výtěrů

z nosu je pravděpodobně způsobena tím, že *S. aureus* má vysokou afinitu k nosní sliznici a až 80 % zdravé populace je trvalým (20 %) nebo intermitentním nosičem (60 %).

Při srovnávání záchytu v klinických materiálech dvou závažných nozokomiálních patogenů *S. aureus* MRSA a *Klebsiella pneumoniae* produkující širokospektrou betalaktamázu v FN HK za rok 2009 byly nejčastěji pozitivními materiály vzorky z dýchacích cest (53 % pro MRSA, 42 % pro ESBL). Velký rozdíl byl ale zachycen u vzorků z moči, jejichž pozitivita je vyšší u *K. pneumoniae* ESBL (38 %, resp. 9 % u MRSA). Tento rozdíl je pravděpodobně způsoben predominancí výskytu gram-negativních tyčků a možným osídlením močových katetrů.

Vysoký výskyt positivity kultur z ran by mohl být důvodem vyššího záchytu MRSA na Klinice gerontologické a metabolické, kde se léčí diabetičtí pacienti, u kterých je častá infekce bércoých vředů. Naopak nízký záchyt positivity byl zjištěn u vzorků z kůže, které jsou často používány pro screeningové vyšetření a vybízí k otázce efektivity tohoto vyšetření. Nejčastěji opakovaně izolovaným materiálem byly v obou letech opět materiály z dýchacích cest (127x v roce 2008 a 157x v roce 2009).

Klinikou s nejhojnějším výskytem první positivity MRSA byla ve všech zkoumaných letech Klinika gerontologická a metabolická, což je pravděpodobně zapříčiněno typem pacientů, kteří jsou na jejích odděleních hospitalizováni. Jsou to lidé s typickými rizikovými faktory – vyšší věková kategorie, s oslabenou imunitou nebo probíhajícím chronickým onemocněním, zavedným močovým nebo permanentním katetrem, po chirurgickém zákroku nebo předešlé hospitalizaci. Nejčastější první pozitivní záchyt byl zjištěn na jednotkách intenzivní péče této kliniky (12 pozitivních záchytů v roce 2008, 6 v roce 2009 a 8 v roce 2010). Za ní následuje s celkovým počtem 32 prvních pozitivních záchytů Klinika plicní a Chirurgická klinika s celkovým počtem 31 záchytů.

Vyšší incidence infekcí způsobených MRSA byla zjištěna u nechirurgických oborů, což je pravděpodobně zapříčiněno jednak vyšším poměrným zastoupením lůžek na nechirurgických odděleních ve FN HK, ale i vysokým celkovým počtem pozitivních izolátů na Klinice gerontologické a metabolické a Klinice plicní.

Porovnáním prevalence MRSA na jednotkách intenzivní péče a standardních odděleních podle prvního pozitivního záchytu byl zjištěn vyšší výskyt MRSA na jednotkách standardní péče v obou sledovaných letech.

Jako signifikantní rizikový faktor pro infekci MRSA byl zjištěn vyšší věk a mužské pohlaví. Tato fakta byla potvrzena i studií Kupfera et al. z roku 2010, který uvádí, že

mužské pohlaví významně souvisí s vyšším rizikem získání MRSA a že 75 % pozitivních pacientů bylo starších 50-ti let (průměrný věk byl 59,8 let) (Kupfera et al., 2010) a Mahmooda, který uvádí procentuální zastoupení MRSA pozitivních mužů 58,5 % a věkové rozložení pacientů v rozmezí 40-80 let (Mahmood et al., 2010). Mnou zjištěné zastoupení mužského pohlaví u MRSA pozitivních pacientů bylo 61 %. Nejvyšší incidence MRSA byla zjištěna u pacientů ve věkové kategorii 71-80 let (průměrný věk byl 64,4 let).

Podle incidence prvního pozitivního záchytu MRSA nebyla zjištěna žádná závislost na ročním období nebo jednotlivých měsících. V roce 2009 byla sice zvýšená četnost pozitivivity na jaře a na podzim, což se ale v předešlém roce nepotvrdilo.

U souboru pacientů poprvé pozitivních v letech 2008 a 2009 byl počet provedených screeningových vyšetření v roce 2008 celkem 2344 a v roce 2009 celkem 2002 vyšetření. Rok 2010 nebyl zpracován z důvodu, že bychom tato data nemohli hodnotit s dostatečným časovým odstupem a výsledky by mohly být zkreslené. Zjištěná hodnota pozitivivity screeningu činila 9,6-9,7 %. Nejvyšší záchyt byl zaznamenán do jednoho měsíce od zjištěné první pozitivivity MRSA, dále již pravděpodobnost pozitivivity klesá.

Opakovaný záchyt MRSA byl potvrzen za oba roky celkem 571-krát. Hodnota průměrného záchytu MRSA na jednoho pacienta byla 5,5 záchytů, hodnota průměrného opakovaného záchytu činila 5 záchytů. Nejvyšší incidence MRSA byla u opakovaného záchytu zjištěna v materiálu z dýchacích cest (celkem 312 vzorků).

Ze všech 115 vyšetřovaných pacientů bylo 81 % z nich při dalších testech opakovaně pozitivních, u zbylých 19 % nebyla MRSA pozitivita dalším šetřením opakovaně prokázána. Tyto výsledky by mohly podporovat teorii „jednou MRSA navždy MRSA“, ovšem tato studie provedla pouze krátkodobé sledování (2-3 roky). Pro ověření dlouhodobého nosičství MRSA by byla třeba delší nejspíše prospektivní studie.

Přehledy rezistence MRSA k vybraným antibiotikům ukazují na setrvání stejných fenotypů rezistence MRSA v populaci ČR, Byl zjištěn pouze mírný nárůst rezistence k erytromycinu a klindamycinu.

## X. ZÁVĚR

Zástupci rodu *Staphylococcus* patří k nejběžnějším patogenům v nemocnicích a jsou původci široké škály infekcí. Zejména výskyt rezistentních kmenů je často příčinou komplikovanějšího klinického průběhu onemocnění spojenou s ohrožením života pacienta a s tím souvisejícími zvýšenými náklady na léčbu. Rezistence k antibiotikům představuje globální problém nejen u *S. aureus*, ale i jiných patogenů, jako je například *Escherichia coli* nebo *Klebsiella pneumoniae*. Její výskyt přímo souvisí s nadměrným předepisováním a užíváním antibiotických preparátů. V současné době není už omezen pouze na nemocnice, ale infekce rezistentními kmeny *S. aureus*, které označujeme jako CA-MRSA, ohrožují ve stále větší míře i běžnou populaci. Pokud nebudeme dodržovat zásady správné antibiotické praxe, mohly by se pro nás nemoci, jejichž léčba je dnes pro nás díky antibiotikům snadno zvládnutelná, stát obtížně řešitelným problémem.

## XI. SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ

**Obrázek 1:** *S. aureus* v mikroskopu

**Obrázek 2:** Genom *S. aureus*

**Obrázek 3:** Srovnání genomů *S. aureus*

**Obrázek 4:** Schéma přenosu MGEs do genomu *S. aureus*

**Obrázek 5:** Schematické znázornění přenosu Tn1546 z *Enterococcus* spp. do *S. aureus*

**Obrázek 6:** Nejčastější chyby při dezinfekci rukou

**Obrázek 7:** Testování citlivosti k oxacilinu na agaru

**Obrázek 8:** Diskový difuzní test na agaru Müller-Hinton (*S. aureus*)

**Obrázek 9:** *S. aureus*: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v roce 2009

**Obrázek 10:** Prevalence MRSA ve světě

**Tabulka 1.** Charakteristiky CA-MRSA a HA-MRSA

**Tabulka 2.** Citlivost k antimikrobiálním látkám (%) u kmenů CA-MRSA a HA-MRSA

**Tabulka 3:** Rizikové faktory pro MRSA u zdravotních pracovníků

**Tabulka 4:** Srovnání hlavních, v současné době dostupných metod pro molekulární typizaci MRSA

**Tabulka 5:** Přehled zařazených materiálů podle systémů

**Tabulka 6:** Přehled klinik ve FN Hradec Králové

**Tabulka 7:** Rozdělení oborů ve FN na chirurgické a nechirurgické

**Tabulka 8:** Přehled jednotek intenzivní péče ve FN HK

**Tabulka 9:** Celkový přehled pozitivního materiálu v letech 2008 a 2009

**Tabulka 10:** Procentuální srovnání výskytu MRSA a ESBL v jednotlivých klinických materiálech v roce 2009

**Tabulka 11:** Výskyt MRSA pozitivního materiálu podle prvního záchytu v roce 2008 a 2009

**Tabulka 12 :** Srovnání MRSA pozitivního materiálu v letech 2008 a 2009 podle prvního pozitivního záchytu

**Tabulka 13:** Pozitivní materiál 2008 (první pozitivní záchyt, opakovaně, celkem)

**Tabulka 14:** Srovnání jednotlivých klinik FN HK v letech 2008-2010 podle četnosti prvního pozitivního záchytu MRSA

**Tabulka 15:** První pozitivní záchyty MRSA v letech 2008-2010 na jednotlivých odděleních Kliniky gerontologické a metabolické

**Tabulka 16 :** JIP- srovnání počtu prvních pozitivních záchytů MRSA v letech 2008 a 2009

**Tabulka 17:** Výskyt MRSA na JIP a standardních odděleních podle prvního záchytu v letech 2008 a 2009

**Tabulka 18:** Srovnání výskytu MRSA na chirurgických a nechirurgických odděleních v letech 2008 a 2009 (první pozitivní záchyt)

**Tabulka 19:** Pohlaví MRSA pozitivních pacientů

**Tabulka 20:** Záchyt prvních pozitivit v letech 2008 a 2009 v závislosti na ročním období

**Tabulka 21:** Výskyt MRSA pozitivních vzorků v jednotlivých měsících roku 2008

**Tabulka 22:** Screening provedený u pacientů poprvé pozitivních v letech 2008 a 2009

**Tabulka 23:** Pozitivita screeningu u pacientů v časové ose od záchytu první positivity

**Tabulka 24:** MRSA pozitivní pacienti ve FN HK poprvé pozitivní v letech 2008 a 2009

**Tabulka 25:** Záchyt MRSA u pacientů poprvé pozitivních v roce 2008 a 2009

**Tabulka 26:** Materiály pacientů poprvé pozitivních v letech 2008 a 2009, ve kterých byl zjištěn opakovaný záchyt MRSA

**Tabulka 27:** Přehled materiálů, ze kterých byl zjištěn první pozitivní záchyt MRSA u již dále nikdy pozitivních pacientů (poprvé pozitivních v letech 2008 a 2009)

**Tabulka 28:** Srovnání výskytu rezistence k antibiotikům v letech 2008-2010

**Graf 1:** Srovnání celkového výskytu MRSA v klinických materiálech v letech 2008 a 2009

**Graf 2:** Procentuální zastoupení MRSA pozitivních vzorků z dýchacích cest v roce 2008 (n= 157)

**Graf 3:** Procentuální zastoupení MRSA pozitivních vzorků z dýchacích cest v roce 2009 (n= 203)

**Graf 4 :** Procentuální zastoupení MRSA pozitivních vzorků hnisu v roce 2008 (n= 85)

**Graf 5:** Procentuální zastoupení MRSA pozitivních vzorků hnisu v roce 2009 (n= 62)

**Graf 6:** Procentuální srovnání výskytu MRSA a ESBL v jednotlivých klinických materiálech v roce 2009

**Graf 7:** Procentuální zastoupení MRSA pozitivního materiálu v roce 2008 podle prvního pozitivního záchytu (n=58)

**Graf 8:** Procentuální zastoupení MRSA pozitivního materiálu podle prvního záchytu v roce 2009 (n=70)

**Graf 9:** Srovnání MRSA pozitivního materiálu v letech 2008- 2009 podle prvního pozitivního záchytu  
**Graf 10:** Pozitivní materiál v roce 2008 (první pozitivní záchyt, celkem)  
**Graf 11:** Pozitivní materiál v roce 2009 (první pozitivní záchyt, celkem)  
**Graf 12:** Srovnání klinik FN HK v letech 2008-2010 podle četnosti prvního pozitivního záchytu MRSA na klinikách  
**Graf 13:** První pozitivní záchyt MRSA na jednotlivých odděleních Kliniky gerontologické a metabolické v letech 2008-2010  
**Graf 14:** Výskyt MRSA pozitivních vzorků na JIP podle prvního pozitivního záchytu v letech 2008-2009  
**Graf 15:** Výskyt MRSA pozitivních vzorků na JIP ve srovnání s jednotkami standardní péče v letech 2008 a 2009  
**Graf 16:** Srovnání výskytu MRSA na chirurgických a nechirurgických odděleních v letech 2008 a 2009 podle první pozitivity  
**Graf 17:** Četnost pozitivity prvního záchytu MRSA podle věku pacientů v roce 2008  
**Graf 18:** Četnost pozitivity prvního záchytu MRSA podle věku pacientů v roce 2009  
**Graf 19:** Srovnání věkového rozložení MRSA pozitivních pacientů v letech 2008 a 2009  
**Graf 20:** Procentuální srovnání zastoupení pohlaví u MRSA pozitivních pacientů v letech 2008 a 2009  
**Graf 21:** První pozitivní záchyt MRSA v jednotlivých ročních obdobích let 2008 a 2009  
**Graf 22:** Srovnání MRSA pozitivit podle prvních a opakovaných záchytů v jednotlivých měsících roku 2008  
**Graf 23:** Srovnání MRSA pozitivit podle prvních a opakovaných záchytů v jednotlivých měsících roku 2009  
**Graf 24:** Srovnání prvního záchytu MRSA pozitivních vzorků v letech 2008-2009  
**Graf 25:** Screening provedený u MRSA pozitivních pacientů v letech 2008-2009  
**Graf 26:** Znázornění pozitivity screeningu u MRSA pozitivních pacientů v časové ose od prvního pozitivního záchytu v letech 2008-2009  
**Graf 27:** Procentuální zastoupení pacientů, u kterých byla po prvním pozitivním záchytu MRSA zjištěna dalším vyšetřením opětovná pozitivita a pacientů, při dalších vyšetřeních již nikdy opakovaně pozitivních  
**Graf 28:** Zobrazení celkového a opakovaného záchytu MRSA u pacientů poprvé pozitivních v letech 2008 a 2009  
**Graf 29:** Znázornění četnosti opakovaného záchytu v jednotlivých materiálech pacientů poprvé MRSA pozitivních v letech 2008 a 2009  
**Graf 30:** Znázornění četnosti prvního pozitivního záchytu v jednotlivých materiálech u dále již nikdy MRSA pozitivních pacientů (poprvé pozitivních v letech 2008 a 2009)  
**Graf 31:** Procentuální srovnání výskytu rezistence k antibiotikům v letech 2008-2010 podle prvního pozitivního záchytu MRSA



## XII. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

### Články

Albrich Werner C., Stephan Harbarth, 2008, Health-care workers: source, vector, or victim of MRSA?, *Lancet Infect Dis*, Vol. 8: 289-301

Baba Tadashi, Fumihiko Takeuchi, Makoto Kuroda, Harumi Yuzawa, Ken-ichi Aoki, Akio Oguchi, Yoshimi Nagai, Natsuko Iwama, Kazuyuki Asano, Timothy Naimi, Hiroko Kuroda, Longzhu Cui, Kenji Yamamoto, Keiichi Hiramatsu, 2002, Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA, *The Lancet*, Vol. 359, 1819- 1827

Baba Tadashi, Taeok Bae, Olaf Schneewind, Fumihiko Takeuchi, Keiichi Hiramatsu, 2008, Genome sequence of *Staphylococcus aureus* strain Newman and comparative analysis of staphylococcal genomes: polymorphism and evolution of two major pathogenicity islands, *Journal of Bacteriology*, Vol. 190, No. 1, 300-310

Beavers-May Toni, Richard F. Jacobs, 2004, Clinical and Laboratory Issues in Community-acquired MRSA, *J Pediatr Pharmacol Ther*; 9:82-88

Beneš J., M. Unzeitigová, Příspěvek k doporučeným postupům pro péči o MRSA-pozitivní pacienty, *Klin mikrobiol inf lék*; 12 (4): 169-172

Bergerová Tamara, Dana Hedlová, Vlastimil Jindrák, Pavla Urbášková, Václav Chmelík, 2006, Doporučený postup pro kontrolu výskytu kmenů *Staphylococcus aureus* rezistentních k oxacilinu (MRSA) a s jinou nebezpečnou antibiotickou rezistencí ve zdravotnických zařízeních, *Zprávy CEM*, ročník 15, příloha 1

Bokarewa Maria I., Tao Jin, Andrej Tarkowski, 2005, *Staphylococcus aureus*: Staphylokinase, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* Volume 38, Issue 4, 2006, 504-509

Bootsma M. C. J., O. Diekmann, M. J. M. Bonten, 2006, Controlling methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Quantifying the effects of interventions and rapid diagnostic testing, PNAS, Vol. 103, No. 14, 5620- 5625

Boyce John M., 1998, Diagnosis and Treatment of Serious Antimicrobial-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection, Clinical Updates in Infectious Diseases, Vol. 4, Issue 4

Brown Derek F. J., David I. Edwards, Peter M. Hawkey, Donald Morrison, Geoffrey L. Ridgway, Kevin J. Towner, Michael W. D. Wren, 2005, Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 56: 1000-1018

Bukowski Michal, Benedykt Wladyka, Grzegorz Dubin, 2010, Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*, Toxins, 2, 1148-1165

Burnside Kellie, Annalisa Lembo, Melissa de los Reyes, Anton Iliuk, Nguyen-Thao BinhTran, James E. Connelly, Wan-Jung Lin, Byron Z. Schmidt, Anthony R. Richardson, Ferric C. Fang, Weiguo Andy Tao, Lakshmi Rajagopal, 2010, Regulation of Hemolysin Expression and Virulence of *Staphylococcus aureus* by a Serine/Threonine Kinase and Phosphatase, PLoS ONE 5 (6): e11071. doi:10.1371/journal.pone.0011071

Campion Jeffrey J., Patrick J. McNamara, and Martin E. Evans, 2004, Evolution of Ciprofloxacin-Resistant *Staphylococcus aureus* in In Vitro Pharmacokinetic Environments, Antimicrob Agents Chemother.; 48 (12): 4733–4744.

Coia J. E., G. J. Duckworth, D. I. Edwards, M. Farrington, C. Fry, H. Humphreys, C. Mallaghan, D. R. Tucker, 2006, Guidelines for the control and prevention of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in healthcare facilities, Journal of Hospital Infection, 63S, 1-44

Cooper B. S., G. F. Medley, S. P. Stone, C. C. Kibbler, B. D. Cookson, J. A. Roberts, G. Duckworth, R. Lai, S. Ebrahim, 2004, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in

hospitals and the community: Stealth dynamics and control catastrophes , PNAS, Vol. 101, No. 27, 10223–10228

Cunha M. L. R. S., Calsolari R. A. O., 2008, Toxigenicity in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci: epidemiological and molecular aspects, *Microbiology Insights*: I, 13-24

David Satcher, James M. Hughes, William J. Martone, Stephen B. Thacker, Richard A. Goodman, Suzanne M. Hewitt, Lanette B. Wolcott, Peter M. Jenkins, 1995, Recommendations for Preventing the Spread of Vancomycin Resistance, Recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC), *MMWR*, Vol. 44, No. RR-12

Denis Olivier, Juana Magdalena, Ariane Deplano, Claire Nonhoff, Erik Hendrickx, Marc J. Struelens, 2002, Molecular epidemiology of resistance to macrolides-lincosamides-streptogamins in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) causing bloodstream infections in patients admitted to belgian hospitals, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50, 755-757

DeLeo Frank R., Chambers Henry F., 2009, *Staphylococcus aureus* in the genomics, *The Journal of Clinical Investigation*, Vol. 119, No. 9, 2464-2474

Diep Binh An, Henry F. Chambers, Christopher J. Graber, John D. Szumowski, Loren G. Miller, Linda L. Han, Jason H. Chen, Felice Lin, Jessica Lin, Tiffany HaiVan Phan, Heather A. Carleton, Linda K. McDougal, Fred C. Tenover, Daniel E. Cohen, Kenneth H. Mayer, George F. Sensabaugh, Françoise Perdreau-Remington, 2008, Emergence of multidrug-resistant, community-associated, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone USA300 in men who have sex with men, *Ann Intern Med.*, 148: 249-257

Durupt F., L. Mayor, M. Bes, M.-E. Reverdy, F. Vandenesch, L. Thomas, J. Etienne, 2007, Prevalence of *Staphylococcus aureus* toxins and nasal carriage in furuncles and impetigo, *Journal of Dermatology*, 157, 1161- 1167

Emori T. G., Culver D. H., Horan T. C., Jarvis W. R., White J. W., Olson D. R., Banerjee S., Edwards J. R., Martone W. J., Gaynes R. P., 1991, National nosocomial infections surveillance system (NNIS): description of surveillance methods, *American journal of infection control*, 19 (1): 19-35

Enright Mark C, Nicholas P. J. Day, Catrin E. Davies, Sharon J. Peacock, Brian G. Spratt, 2000, Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*, *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 38, No. 3, 1008-1015

Enright Mark C., D. Ashley Robinson, Gaynor Randle, Edward J. Feil, Hajo Grundmann, Brian G. Spratt, 2002, The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *PNAS*, Vol. 99, No. 11, 7687–7692

Frank R. DeLeo, Henry F. Chambers, 2009, Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* clones, *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 47, No. 1, 1-8  
Fuit Ad C., Maarten R. Visser, Franz-Josef Schmitz, 2001, Molecular Detection of Antimicrobial Resistance, *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 14, No. 4, 836-871

Garzoni Christian, Patrice Francois, Antoine Huyghe, Sabine Couzinet, Caroline Tapparel, Yvan Charbonnier, Adriana Renzoni, Sacha Lucchini, Daniel P. Lew, Pierre Vaudaux, William L. Kelley, Jacques Schrenzel, 2007, A global view of *Staphylococcus aureus* whole genome expression upon internalization in human epithelial cells, *BMC Genomics*, 8: 171

Gill Steven R., Derrick E. Fouts, Gordon L. Archer, Emmanuel F. Mongodin, Robert T. DeBoy, Jacques Ravel, Ian T. Paulsen, James F. Kolonay, Lauren Brinkac, Mauren Beanan, Robert J. Dodson, Sean C. Daugherty, Ramana Madupu, Samuel V. Angiuoli, A. Scott Durkin, Daniel H. Haft, Jessica Vamathevan, Hoda Khouri, Terry Utterback, Chris Lee, George Dimitrov, Lingxia Jiang, Haiying Qin, Jan Weidman, Kevin Tran, Kathy Kang, Ioana R. Hance, Karen E. Nelson, Claire M. Fraser, 2005, Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain, *Journal of Bacteriology*, Vol. 187, No. 7, 2426- 2438

Girou Emmanuelle, Ghislaine Pujade, Patrick Legrand, Florence Cizeau, Christian Brun- Buisson, 1998, Selective screening of carriers for control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in high-risk hospital areas with a high level of endemic MRSA, *Clinical Infectious Diseases*, 27: 543-550

Gould F. Kate, Richard Brindle, Paul R. Chadwick, Adam P. Fraiese, Simon Hill, Grundmann Hajo, Marta Aires-de-Sousa, John Boyce, Edine Tiemersma, 2006, Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat, *The Lancet*, Vol. 368, Issue: 9538, 874-885

Ham Jun-Sang, Seung-Gyu Lee, Seok-Geun Jeong, Mi-Hwa Oh, Dong-Hun Kim, Taeheon Lee, Bo-Young Lee, Sook Hee Yoon, Heebal Kim, 2010, Powerful usage of phylogenetically diverse *Staphylococcus aureus* control strains for detecting multidrug resistance genes in transcriptomics studies, *Molecules and Cells*, 30, 71-76

Herron-Olson Lisa, J. Ross Fitzgerald, James M. Musser, Vivek Kapur, 2007, Molecular Correlates of Host Specialization in *Staphylococcus aureus*, *PloS ONE* 2 (10)

Holden Matthew T. G., Edward J. Feil, Jodi A. Lindsay, Sharon J. Peacock, Nicholas P. J. Day, Mark C. Enright, Tim J. Foster, Catrin E. Moore, Laurence Hurst, Rebecca Atkin, Andrew Barron, Nathalie Bason, Stephen D. Bentley, Carol Chillingworth, Tracey Chillingworth, Carol Churcher, Louise Clark, Craig Corton, Ann Cronin, Jon Doggett, Linda Dowd, Theresa Feltwell, Zahra Hance, Barbara Harris, Heidi Hauser, Simon Holroyd, Kay Jagels, Keith D. James, Nicola Lennard, Alexandra Line, Rebecca Mayes, Sharon Moule, Karen Mungall, Douglas Ormond, Michael A. Quail, Ester Rabinowitsch, Kim Rutherford, Mandy Sanders, Sarah Sharp, Mark Simmonds, Kim Stevens, Sally Whitehead, Bart G. Barrell, Brian G. Spratt, Julian Parkhill, 2004, Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: Evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance, *PNAS*, Vol. 101, No. 26, 9786-9791

Chongtrakool Piriyaorn, Teruyo Ito, Xiao Xue Ma, Yoko Kondo, Suwanna Trakulsomboon, Chuntima Tiensasitorn, Mantana Jamklang, Tavinum Chavalit, Jae-Hoon Song, Keiichi Hiramatsu, 2006, *Staphylococcal cassette chromosome mec* (SCCmec) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11

asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCCmec elements, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 50, No. 3, 1001-1012

Christina Kurkowski, 2007, CA-MRSA- The new sports pathogen, *Orthopaedic Nursing*, Vol. 26, No. 5, 310-314

Ito Teruyo, Xiao Xue Ma, Fimihiko Takeuchi, Keiko Okuma, Harumi Yuzawa, Keiichi Hiramatsu, 2004, Novel type V staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 48, No. 7, 2637-2651

Ito T., Y. Katayama, K. Hiramatsu, 1999, Cloning and nucleotide sequence determination of the entire mec DNA of pre-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* N315, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 43, No. 6, 1449-1458

Ito Teruyo, Yuki Katayama, Kazumi Asada, Namiko Mori, Kanae Tsutsumimoto, Chuntima Tiensasitorn, Keiichi Hiramatsu, 2001, Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome mec integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 45, No. 5, 1323-1336

Jensen Slade O., Bruce R. Lyon, 2009, Genetics of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*, *Future Microbiology*; 4 (5): 565-582

Johan Paulsson, 2002, Multileveled selection on plasmid replication, *Genetics*, 161: 1373-1384

Johnson Alan P., Hazel M. Aucken, Susan Cavendish, Mark Ganner, Martin C. J. Wale, Marina Warner, David M. Livermore, Barry D. Cookson, účastníci UK EARSS, 2001, Dominance of EMRSA-15 and -16 among MRSA causing nosocomial bacteraemia in the UK: analysis of isolates from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS), *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 48, No. 1, 143-144

Kac Guillaume, Annie Buu-Hoï, Elisabeth Hérisson, Patricia Biancardini, Clélia Debure, 2000, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nosocomial acquisition and carrier state in a Wound care center, *Arch Dermatol*, 136: 735-739

Katai Atsuo, Masato Higashiide, Shanshuang Li, Keiichi Hiramatsu, 2008, Two different PVL phage lineages predominate in Japan, *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 46, No. 10, 3246-3258

Katayama Y., T. Ito, K. Hiramatsu, 2000, A new class of genetic element, *Staphylococcus* cassette chromosome *mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 44, No. 6, 1549-1555

Kowalski Todd J., Elie F. Berbari, Douglas R. Osmon, 2005, Epidemiology, Treatment, and prevention of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections, *Mayo Clin Proc.*, 80 (9), 1201-1208

Kunishima Hiroyuki, Natsuo Yamamoto, Takao Kobayashi, Masami Minegishi, Shigemi Nakajima, Junichi Chiba, Miho Kitagaw, Yoichi Hirakata, Yoshihiro Honda, Mitsuo Kaku, 2010, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in a Japanese community hospital: 5-year experience, *J Infect Chemother.*, 16: 414–417

Kupfer M, Jatzwauk L, Monecke S, Möbius J, Weusten A., 2010, MRSA in a large German University Hospital: Male gender is a significant risk factor for MRSA acquisition, *GMS Krankenhhyg Interdiszip.*; 5 (2)

Kuroda Makoto, Toshiko Ohta, Ikuo Uchiyama, Tadashi Baba, Harumi Yuzawa, Ichizo Kobayashi, Longzhu Cui, Akio Oguchi, Ken-ichi Aoki, Yoshimi Nagai, JianQi Lian, Teruyo Ito, Mutsumi Kanamori, Hiroyuki Matsumaru, Atsushi Maruyama, Hiroyuki Murakami, Akira Hosoyama, Yoko Mizutani-Ui, Noriko K. Takahashi, Toshihiko Sawano, Ryu-ichi Inoue, Chikara Kaito, Kazuhisa Sekimizu, Hideki Hirakawa, Satoru Kuhara, Susumu Goto, Junko Yabuzaki, Minoru Kanehisa, Atsushi Yamashita, Kenshiro Oshima, Keiko Furuya, Chie Yoshino, Tadayoshi Shiba, Masahira Hattori, Naotake Ogasawara, Hideo Hayashi, Keiichi Hiramatsu, 2001, Whole genome

sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *The Lancet*, Vol. 357, 1225-1240

Leman Richard, Francisco Alvarado-Ramy, Sean Pocock, Neil Barg, Molly Kellum, Leszczyński P., B. Weber-Dabrowska, M. Kohutnicka, M. Łuczak, A. Górecki, A. Górski, 2006, Successful eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) intestinal carrier status in a healthcare worker- case report, *Folia Microbiology*, 51 (3), 236-238

Li Min, Binh An Diep, Amer E. Villaruz, Kevin R. Braughton, Xiaofei Jiang, Frank R. DeLeo, Henry F. Chambers, Yuan Lu, Michael Ott, 2009, Evolution of virulence in epidemic community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *PNAS*, Vol. 106, No. 14, 5883-5888

Liu Catherine, Arnold Bayer, Sara E. Cosgrove, Robert S. Daum, Scott K. Fridkin, Rachel J. Gorwitz, Sheldon L. Kaplan, Adolf W. Karchmer, Donald P. Levine, Barbara E. Murray, Michael J. Rybak, David A. Talan, Henry F. Chambers, 2011, Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* Infections in Adults and Children, *Clinical Infectious Diseases*, 52 (1), 1-38

Livermore David, The zeitgeist of resistance, 2007, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60, Suppl. 1, 59–61

Lo Janice YC, 2007, Laboratory diagnosis of CA-MRSA, *Medical Bulletin*, Vol. 12, 8-10

Lu Po-Liang, Jer-Chia Tsai, Yi-wen Chiu, Feng-Yee Chang, Ya-Wei Chen, Chin-Fu Hsiao, K. L. Siu, 2008, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage, infection and transmission in dialysis patient, healthcare workers and their family members, *Nephrol Dial Transplant*, 23: 1659-1665



Luong Thanh T., Shu Ouyang, Kelly Bush, Chia Y. Lee, 2002, Type 1 capsule genes of *Staphylococcus aureus* are carried in a staphylococcal cassette chromosome genetic element, *Journal of Bacteriology*, Vol. 184, No. 13, 3623-3629

Ma Xiao Xue, Teruyo Ito, Chuntima Tiensasitorn, Mantana Jamklang, Piriyaorn Chongtrakool, Susan Boyle-Vavra, Robert S. Daum, Keiichi Hiramatsu, 2002, Novel type of staphylococcal cassette chromosome mec identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 46, No. 4, 1147-1152

Ma Xiao Xue, Teruyo Ito, Yoko Kondo, Moe Cho, Yukio Yoshizawa, Jun Kaneko, Mahmood K., Tahir T., Jameel T., Ziauddin A., Aslam H. F., 2010, Incidence of Methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) Causing Nosocomial Infection in a Tertiary Care Hospital, *ANNALS*, Vol. 16, No. 2, 91-96

Malachowa Natalia, Frank R. DeLeo, 2010, Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67: 3057-3071

Mimica M. J., Berezin E. N., Carvalho R. L. B., Mimica I. M., Mimica L. M. J., Sáfiadi M. A. P., Schneider E., Caiaffa-Filho H. H., 2007, Detection of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolated from Pediatric Patients: Is the Cefoxitin Disk Diffusion Test Accurate Enough?, *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 11(4):415-417.

Monday Steven R., Gregory M. Vath, Witold A. Ferens, Claudia Deobald, James V. Rago, Pamala J. Gahr, Dileep D. Monie, John J. Iandolo, Stephen K. Chapes, William C. Davis, Douglas H. Ohlendorf, Patrick M. Schlievert, Gregory A. Bohach, 1999, Unique superantigen activity of staphylococcal exfoliative toxins, *The Journal of Immunology*, 162: 4550-4559

Murchan Stephen, Mary Elizabeth Kaufmann, Ariane Deplano, Raf de Ryck, Marc Struelens, Christina Elsberg Zinn, Vivian Fushing, Saara Salmenlinna, Jaana Vuopio-Varkila, Névine El Solh, Christina Cuny, Wolfgang Witte, Panayotis T. Tassios, Nikolas Legakis, Willem van Leeuwen, Alex van Belkum, Anna Vindel, Idoia

Laconcha, Javier Garaizar, Saara Haeggman, Barbro Olsson-Liljequist, Ulrika Ransjo, Geoffrey Coombes, Barry Cookson, 2003, Harmonization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a single approach developed by consensus in 10 european laboratories and its application for tracing the spread of related strains, *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 41, No. 4, 1574-1585

Nannini E. C., Stryjewski M. E., 2008 A new lipoglycopeptide: telavancin, *Expert Opin Pharmacother* ; 9 (12): 2197-207

Nathwani Dilip, Geoff L. Ridgway, Michael J. Spry and Rod E. Warren on behalf of the MRSA Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy , 2009, Guidelines (2008) for the prophylaxis and treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in the United Kingdom, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* , 63, 849–861

Nathwani Dilip, Marina Morgan, Robert G. Masterton, Matthew Dryden, Barry D. Cookson, Gary French, Deirdre Lewis, 2008, Guidelines for UK practice for the diagnosis and management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections presenting in the community, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 61, 976-994

Oliveira Duarte C., Catarina Milheiriço, Hermínia de Lencastre, 2006, Redefining a structural variant of staphylococcal cassette chromosome mec, SCCmec type VI, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 50, No. 10, 3457-3459

Pathak Ashish, Yogyata Marothi, Rama V. Iyer, Binita Singh, Megha Sharma, Bo Eriksson, Ragini Macaden, Cecilia Stålsby Lundborg, 2010, Nasal Carriage and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* in healthy preschool children in Ujjain, India, *BMC Pediatrics*, 10: 100

Périchon Bruno, Patrice Courvalin, 2009, VanA-type vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Vol. 53, No. 11, 4580-4587

Pinho Mariana G., Sérgio R. Filipe, Hermínia de Lencastre, Alexander Tomasz, 2001, Complementation of the essential peptidoglycan transpeptidase function of penicillin-binding protein 2 (PBP2) by the drug resistance protein PBP2A in *Staphylococcus aureus*, *Journal of Bacteriology*, Vol. 183, No. 22, 6525- 6531

Riedel Stefan, Lisa Dam, Paul D. Stamper, Syed A. R. Shah, Karen C. Carroll, 2009, Evaluation of Bio-Rad *MRSASelect* Agar for Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Directly from Blood Cultures, *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 48, No. 6, 2285-2288

Sakoulas George, Howard S. Gold, Lata Venkataraman, Paola C. Degirolami, George M. Eliopoulos, Qinfang Qian, 2001, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Comparison of susceptibility testing methods and analysis of *mecA*-positive susceptible strains, *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 39, No. 11, 3946-3951

Shannon K. P., G. L. French, 2002, Antibiotic resistance: effect of different criteria for classifying isolates as duplicates on apparent resistance frequencies, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 49, No. 1, 201- 204

Shittu Adebayo O., Edet E. Udo, Johnson Lin, 2007, Insights on Virulence and Antibiotic Resistance: A Review of the Accessory Genome of *Staphylococcus aureus*, *Wounds*, 19 (9): 237-244

Schrammová Kateřina, 2011, Výskyt multirezistentních kmenů *Klebsiella spp.* ve FN Hradec Králové v letech 2008-2010, Diplomová práce, Katedra biologických a lékařských věd, Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové, s. 41

Schwaber M. J., S. Navon-Venezia, A. Leavitt, Y. Mekuzas, O. Hammer-Münz, J. Schlesinger, D. Schwartz and Y. Carmeli, 2004, Failure of Broth-Based Tests to Detect Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Clinical Specimen, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 3(4):348-51

Sigrid McAllister, BS, James Cheek, Matthew Kuehnert, 2004, Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an American Indian population, *Infection Control and Hospital Epidemiology*, Vol. 25, No. 2, 121-125

Stevens A. Michal, Thomas Hennessy, Henry C. Baggett, Dana Bruden, Debbie Parks, Joseph Klejka, 2010, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage and risk factors for infections, Southwestern Alaska, USA, *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 16, No. 5, 797-803

Struelens M. J., P. M. Hawkey, G. L. French, W. Witte, E. Tacconelli, 2009, Laboratory tools and strategies for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* screening, surveillance and typing: state of the art and unmet needs, *Clin Microbiol Infect*, 15: 112-119

Šenkýřová Vladislava, 2006, Meticilin rezistentní *Staphylococcus aureus*, *Urolog. pro Praxi*, 5: 250-252

Tiemersma Edine W., Stef L. A. M. Bronzwaer, Outi Lyytikäinen, John E. Degener, Paul Schrijnemakers, Nienke Bruinsma, Jos Monen, Wolfgang Witte, Hajo Grundmann a účastníci EARSS, 2004, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999-2002, *Emerging infectious diseases*, Vol. 10, No. 9, 1627- 1634

Tormo María Ángeles, María Desamparados Ferrer, Elisa Maiques, Carles Úbeda, Laura Selva, Íñigo Lasa, Juan J. Calvete, Richard P. Novick, José R. Penadés, 2008, *Staphylococcus aureus* pathogenicity islands DNA is packaged in particles composed of phage proteins, *Journal of Bacteriology*, Vol. 190, No. 7, 2434-2440

Trzcinski Krzysztof, Ben S. Cooper, Waleria Hryniewicz, Christopher G. Dowson, 2000, Expression of resistance to tetracyclines in strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 45, 763-770

Tsuru Takeshi, Mikihiro Kawai, Yoko Mizutani-Ui, Ikuo Uchiyama, Ichizo Kobayashi, 2006, Evolution of paralogous genes: Reconstruction of genome rearrangements

through comparison of multiple genomes within *Staphylococcus aureus*, *Molecular Biology and Evolution*, 23 (6): 1269-1285

Waldron Denise E., Jodi A. Lindsay, 2006, Sau1: a novel lineage-specific type I restriction-modification system that blocks Horizontal gene transfer into *Staphylococcus aureus* and between *S. aureus* isolates of different lineages, *Journal of Bacteriology*, Vol. 188, No. 15, 5578-5585

Yarwood Jeremy M., Patrick M. Schlievert, 2003, Quorum sensing in *Staphylococcus* infections, *The Journal of Clinical Investigation*, Vol. 112, No. 11, 1620- 1625

Zurita Jeannette, Carlos Mejía, Manuel Guzmán-Blanco, 2010, Diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America, *Braz J Infect Dis*, Vol. 14 (Suppl. 2): S97-S106

### **Knihy**

Miroslav Votava a kol., 2003, *Lékařská mikrobiologie speciální*, Neptun, ISBN 80-902896-6-5, 495s

Julár Jaroslav, 2006, *Úvod do lékařské bakteriologie*, Karolinum, ISBN 80-246-1270-4, 406s

### **Internetové zdroje**

Amin Alpeh, Donald Batts, 2006, *In Touch With the Experts: Community-Acquired and Healthcare-Associated MRSA: Improving Patient Outcomes*, dostupné na: <http://www.medscape.org/viewprogram/5995>

Antimicrobial resistance surveillance in Europe, Annual report of the European antimicrobial resistance surveillance network EARS-Net, 2009, ISBN 978-92-9193, 227-6, dostupné na: [http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1011\\_SUR\\_annual\\_EARS\\_Net\\_2009.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1011_SUR_annual_EARS_Net_2009.pdf)

EASAC, 2007, Tackling antibacterial resistance in Europe, ISBN 978 0 85403 638 7, dostupné na: [http://www.leopoldina.org/fileadmin/user\\_upload/Politik/Empfehlungen/EASAC/EASAC\\_Statement\\_Antibacterial-resistance\\_2007.pdf](http://www.leopoldina.org/fileadmin/user_upload/Politik/Empfehlungen/EASAC/EASAC_Statement_Antibacterial-resistance_2007.pdf)

Fairbanks David N. F., 2007, Antimicrobial Therapy in Otolaryngology- Head and neck surgery, Published and distributed American Academy of Otolaryngology-Head & Neck Surgery Foundation, 13th edition, dostupné na: [www.entnet.org/EducationAndResearch/upload/AAO-PGS-9-4-2.pdf](http://www.entnet.org/EducationAndResearch/upload/AAO-PGS-9-4-2.pdf)

Gorowitz Rachel J., Daniel B. Jernigan, John H. Powers, John A. Jernigan, 2006, Strategies for clinical management of MRSA in the community: Summary of an expert's meeting convened by the centers for disease control and prevention, dostupné [http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar\\_mrsa\\_ca.html](http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_mrsa_ca.html)

Hoza J., V. Jindrák, V. Marešová, O. Nyč, T. Sechser, J. Suchopár, J. Švihovec, P. Urbášková, Konsensus používání antibiotik I. Penicilinová antibiotika, dostupné na: <http://www.cls.cz/dalsi-odborne-projekty>

Kratochvíl A., L. Treflová, E. Šilhová, K. Petrová, Meticilin rezistentní *Staphylococcus aureus*- problém nejen pediatrické ambulance, dostupné na: <http://www.hpb.cz/index.php?pId=06-4-04>

Společnost prevence nozokomiálních nákaz, 2010, Doporučené postupy pro kontrolu MRSA, dostupné na: <http://www.spnn.estranky.cz/clanky/dokumenty/doporucene-postupy-pro-kontrolu-mrsa.html>

Státní zdravotní ústav (<http://www.szu.cz/>)

Quinn Pat, Damon T. Arnold, 2008, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Illinois: Guidelines for the Primary Care Provider, dostupné na: [http://www.idph.state.il.us/health/infect/MRSA\\_Provider.htm](http://www.idph.state.il.us/health/infect/MRSA_Provider.htm)

Ustanovení Národního antibiotického programu, 2009, Věstník MZ ČR, dostupné na:  
<http://www.infekce.cz/vestnik909.htm>