

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

**Výskyt multirezistentních kmenů *Escherichia coli*
ve FN v Hradci Králové**

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: MUDr. Pavla Paterová

Hradec Králové 2013

Bc. Lenka Šmardová

„Prohlašuji, že tato diplomová práce je mým původním autorským dílem a veškeré myšlenky, data a jejich zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpala, řádně cituji. Práce nebyla využita pro získání jiného kvalifikačního titulu.“

datum

podpis

ABSTRAKT

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

Kandidát: Bc. Lenka Šmardová

Školitel: MUDr. Pavla Paterová

Název diplomové práce: Výskyt multirezistentních kmenů *Escherichia coli* ve FN
v Hradci Králové

Escherichia coli patří mezi nejběžnější patogeny vyskytující se v nemocnicích. V současné době představuje bakteriální rezistence vůči antibiotikům velký klinický problém na celém světě, který může vést potencionálně k selhání léčby nebo dokonce k smrti pacienta, kde rezistentní bakterie jsou etiologickou agens závažných onemocnění.

Praktická část diplomové práce se zaměřuje na analýzu výskytu multirezistentních kmenů *Escherichia coli* ve Fakultní nemocnici Hradec Králové za časové období 2008 – 2012. Za pozitivní materiály byly považovány všechny pozitivní kultivace materiálů od pacientů hospitalizovaných nebo přicházejících do FN HK. Analýza byla hodnocena podle materiálu, jednotlivých klinik, intenzivních a standardních oddělení, chirurgických klinik, věku a v čase.

Výsledkem mé diplomové práce byla analýza multirezistentních kmenů *Escherichia coli*, kde bylo izolováno 1562 pozitivních izolátů. Za rizikové faktory můžeme považovat Klinikou gerontologickou a metabolickou a její Lůžkové oddělení A, kde byl zaznamenán největší první pozitivní záchyt. Významným problémem jsou jednotky intenzivní péče či nechirurgické kliniky. Dále je potvrzen vzrůstající výskyt prvních pozitivních záchytů u pacientů v nemocniční péči. Dalším významným rizikovým faktorem je věk. Infekce těmito multirezistentními kmeny nadále zůstávají problémem starších pacientů, nejvíce v rozmezí 56 – 75 roky. Důležitým předpokladem v prevenci šíření je správná lékařská a ošetrovatelská péče.

ABSTRACT

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

Candidate: Bc. Lenka Šmardová
Supervisor: MUDr. Pavla Paterová
Title of diploma thesis: Incidence of multiresistant *Escherichia coli* in University Hospital Hradec Králové

Escherichia coli is one of the most common pathogens occurring in the hospitals. Currently bacterial resistance to antibiotics represents major clinical problem all over the world, which can potentially lead to treatment failure or even death of the patient, where resistant bacteria are etiological agents of serious diseases.

The practical part of the thesis focuses on the analysis of multidrug-resistant strains of *Escherichia coli* in the University Hospital Hradec Králové for period of time 2008 - 2012. As the positive materials were considered all positive culture materials from patients hospitalized or coming to FN HK. The analysis was evaluated according to the material, individual clinics, intensive and standard units, surgical clinics, age and time.

The result of my thesis was an analysis of the multidrug resistant strains of *Escherichia coli*, where was isolated 1562 positive isolates. As for the risk factors can be considered Department of Gerontology and Metabolic and its patient ward A, where the largest first positive detection was reported. A major problem are the Intensive Care Units or non-surgical clinics. The increase of incidence of positive first seizures is also confirmed in patients in hospital care. Another important risk factor is age. Infections by multidrug-resistant strains remain problem of older patients, most in the range of 56 - 75 years. An important prerequisite in preventing the spread is a good medical and nursing care.

Ráda bych poděkovala své vedoucí diplomové práce paní MUDr. Pavle Paterové za ochotu, čas a cenné rady při zpracování diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala paní MUDr. Evě Míčkové za možnost konzultace a cenné rady. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat rodině a obzvláště sestřím za ochotu a trpělivost.

Obsah

Teoretická část

1	Úvod	12
2	Charakteristika <i>Escherichia coli</i>	13
2.1	Taxonomie.....	13
2.2	Diagnostika.....	13
2.2.1	Mikroskopie.....	13
2.2.2	Kultivace	14
2.2.3	Identifikace.....	14
2.2.4	Antigenní struktura	16
2.3	Přirozený výskyt	17
2.4	Cesta přenosu	17
2.5	Patogenita	17
2.6	Onemocnění.....	18
2.6.1	Močové infekce	18
2.6.2	Sepse	18
2.6.3	Průjemová onemocnění	19
2.7	Terapie	21
3	Vznik a vývoj rezistence	22
3.1	β – laktamázy	24
3.1.1	Klasifikace β -laktamáz	24
3.2	Klinicky významné laktamázy	27
3.2.1	ESBL – širokospektré β -laktamázy.....	27
3.2.2	β -laktamázy typu AmpC	28
3.2.3	Metallo- β -laktamázy	29
4	Metody detekce ESBL.....	30
4.1	Screeningové testy	30
4.1.1	Kvalitativní testy.....	30
4.1.2	Kvantitativní testy	31
4.2	Fenotypové metody průkazu rezistence.....	33
4.2.1	Stanovení širokospektrých β -laktamáz	33
4.2.2	Stanovení β -laktamáz typu AmpC.....	34
4.2.3	Stanovení metallo- β -laktamáz	35
4.3	Genotypové metody průkazu rezistence	35

4.3.1	Polymerázová řetězová reakce (PCR).....	36
4.3.2	Jednořetězový konformační polymorfismus (PCR-SSCP)	36
4.3.3	PCR - délka restrikčních fragmentů polymorfismu (PCR-RFLP).....	36
4.3.4	Ligázová řetězová reakce (LCR).....	36
4.3.5	Real-time PCR.....	37
4.3.6	DNA microarray.....	37
4.3.7	Přímé sekvenování	37
4.3.8	MALDI - TOF	37
5	Léčba	39
5.1	Karbapenemy	39
5.2	Cefalosporiny	39
5.3	Cefamyciny.....	39
5.4	Kombinace: β -laktamové antibiotikum s inhibítorem β -laktamázy.....	40
5.5	Chinolony	40
5.6	Aminoglykosidy	40
5.7	Kolistin.....	41
5.8	Tigecyklin.....	41
6	Epidemiologie <i>Escherichia coli</i> ESBL.....	42
6.1	Výskyt v Evropě	42
6.2	Situace ve světě.....	43
6.3	Nozokomiální infekce	44
6.4	Komunitní infekce	44
7	Prevence vzniku	46
7.1	Racionální užití ATB.....	46
7.2	Prevence přenosu infekčních patogenů.....	47
7.2.1	Bariérový režim	47
7.2.2	Izolační režim.....	48
Praktická část		
8	Materiál a metodika.....	49
8.1	Výběr dat.....	49
8.2	Kultivace <i>Escherichia coli</i>	49
8.3	Materiály	50
9	Výsledky	55
9.1.1	Výsledky pozitivních izolátů	55

9.1.2	Výskyt pozitivních izolátů v klinickém materiálu	57
9.1.3	Výskyt pozitivních izolátů v jednotlivých klinikách	60
9.1.4	Výskyt pozitivních izolátů na chirurgických a nechirurgických oborech	65
9.1.5	Výskyt pozitivních izolátů na intenzivních a standardních jednotkách.....	68
9.1.6	Výskyt podle věku	71
9.1.7	Výskyt pozitivních izolátů podle pohlaví	72
9.1.8	Výskyt pozitivních izolátů v ročních obdobích	74
9.1.9	Výskyt pozitivních izolátů v měsících	75
9.1.10	Výskyt rezistence.....	76
9.1.11	Citlivost pozitivních izolátů k antibiotikům	77
10	Diskuse	78
11	Závěr.....	83
12	Seznam literatury.....	84
13	Seznam obrázků	92
14	Seznam tabulek	93
15	Seznam grafů.....	95

Seznam zkratek

EPEC	enteropatogenní <i>Escherichia Coli</i> (enteropathogenic <i>Escherichia coli</i>)
ETEC	enterotoxigenní <i>Escherichia Coli</i> (enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i>)
EIEC	enteroinvazivní <i>Escherichia Coli</i> (enteroinvasive <i>Escherichia coli</i>)
VTEC	<i>Escherichia coli</i> produkující vero-cytotoxin (verotoxin producing <i>Escherichia coli</i>)
EHEC	enterohemoragická <i>Escherichia coli</i> (enterohaemorrhagic <i>Escherichia coli</i>)
EAEC	enteroadherentní <i>Escherichia coli</i> (enteroaggregative <i>Escherichia coli</i>)
ExPEC	extraintestinální patogenní <i>Escherichia coli</i> (extraintestinal pathogenic <i>Escherichia coli</i>)
SEPEC	se sepsí asociovaná <i>Escherichia coli</i> (sepsis-associated <i>Escherichia coli</i>)
UPEC	uropatogenní <i>Escherichia coli</i> (uropathogenic <i>Escherichia coli</i>)
NEMEC	s novorozeneckou meningitidou asociovaná <i>Escherichia coli</i> (neonatal-meningitis-associated <i>Escherichia coli</i>)
XLD	xylóza, lysin, deoxycholát (xylose, lysine, deoxycholate)
ST	tepelně stabilní toxin (heat stable toxin)
LT	tepelně labilní toxin (heat labile toxin)
cGMP	cyklický guanosinmonofostát
ESBL	širokospektré β -laktamázy (extended-spectrum β -lactamases)
PBP	peniciliny vázající protein (penicil binding protein)
MHA	Mueller-Hintonovův agar
OXA	oxolinová kyselina
IZ	inhibiční zóna
MIC	minimální inhibiční koncentrace (minimum inhibitory concentration)

MBC	minimální baktericidní koncentrace (minimum bactericidal concentration)
MBL	metalo- β -laktamázy (metallo- β -lactamase)
MR	multirezistentní (multiresistant)
CLSI	clinical and laboratory standards institute
DDST	double disc synergy test
PCR	polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction)
JIP	jednotka intenzivní péče
HUS	hemolyticko-uremický syndrom
SHV	β -laktamáza typu SHV
TEM	β -laktamáza typu TEM
CTX-M	β -laktamáza typu CTX-M
TZL	ceftazidín + kyselina klavulánová
TZ	ceftazidín
LDN	léčebna dlouhodobě nemocných
PCR – SSCP	jednořetězový konformační polymorfismus (polymerase chain reaction – single strand conformational polymorphism)
PCR – RFLP	restrikční fragmenty délkového polymorfismu (polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism)
MALDI – TOF	matrix-assisted laser desorption/ionization – time of flight
LCR	ligázová řetězová reakce (ligase chain reaction)

Cíl práce – zadání práce

Cílem mé diplomové práce je v teoretické části shromáždit a sepsat základní informace o *Escherichia coli* se zaměřením na její rezistenci a β -laktamázy a její diagnostiku. Dále se zaměřit na epidemiologickou situaci v Evropě a ve světě. Na závěr bych chtěla zdůraznit preventivní opatření proti multirezistentním kmenům *Escherichia coli*.

Cílem mé praktické části je stanovit zastoupení multirezistentních kmenů *Escherichia coli* ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové a určit základní charakteristiky jejího výskytu. Za důležitý parametr považuji zastoupení pozitivních izolátů v klinickém materiálu, protože *Escherichia coli* bývá považována za častou příčinou infekcí močových cest. Další důležitou oblastí je zjistit výskyt *Escherichia coli* v jednotlivých klinikách, rozebrat zastoupení výskytu pozitivních izolátů v chirurgických a nechirurgických klinikách či na intenzivních a standardních odděleních a provázat jejich výskyt s výskytem podle klinického materiálu. Důležitým znakem je i věk a pohlaví a jeho souvislost se zastoupením pozitivních izolátů. Dalším důležitým znakem je určení rizikového ročního období se specifikací podle měsíců.

Teoretická část

1 Úvod

Escherichia coli byla identifikována německým dětským lékařem Theodorem Escherichem v průběhu jeho studie střevní flóry dětí. (Borriello, Murray, Funke, 2005) Popsal ji v roce 1885 a nazval ji *Bacterium coli commune* a stanovil její patologické vlastnosti extraintestinálních infekcí. Název *Bacterium coli* byl široce používán až do roku 1919, kdy mikrobiologové Castellani a Chalmes definovali rod *Escherichia* a stanovili rod *Escherichia coli*. *Escherichia coli* je jako organismus studována pod různými aspekty. V obecné bakteriologii bývá používána jako model organismu pro studii buněčných struktur, růstu a metabolismu. Později se stala důležitým vehikulem pro klonování genů z prokaryotních a eukaryotních buněk a pro expresi genových produktů. *Escherichia coli* je používána jako kontrolní organismus. Je považována za důležitý parametr při testování fekálního znečištění potravin, vody a životního prostředí.

2 Charakteristika *Escherichia coli*

Escherichia coli patří mezi nejznámější bakterie a nejvýznamnější potencionálně patogenní enterobakterie. Je fakultativně anaerobní organismus, který má respirační i fermentační typ metabolismu. Slouží jako modelový organismus, jehož zkoumání neslouží jen k poznání jeho samého, ale je systematicky používáno ke zkoumání a popisování obecnějších jevů a odvozování vlastností a vztahů platících pro jiné organismy. (Votava a kol., 2010)

2.1 Taxonomie

Escherichia coli se řadí do kmenu Proteobacteria, třídy Gamma Proteobacteria, řádu Enterobacteria, čeledě Enterobacteriaceae a rodu *Escherichia*. (Votava a kol., 2010) Členy rodu *Escherichia coli* jsou oxidáza-negativní, gramnegativní tyčky netvořící spóry a pohybující se pomocí peritrichální flagellou. Tyto bakterie jsou fakultativně anaerobní, plyn tvořící obvykle fermentací karbohydrátů. (Borriello, Murray et al., 2005) Bakterie může dosahovat velikosti 2 – 3 μm do délky a 0,6 μm do šířky, na svém povrchu nese dva typy fimbrií. První typ se skládá z kyselého hydrofobního proteinu fimbrinu, který umožňuje bakterii přichytit se na epitel hostitele a následně jej kolonizovat. Tento první typ je vysoce antigenní, jelikož obsahuje F antigeny. Druhým typem fimbrií jsou sex pili, které hrají důležitou úlohu při konjugaci. (Votava a kol., 2010)

2.2 Diagnostika

2.2.1 Mikroskopie

Pod mikroskopem můžeme *Escherichia coli* pozorovat jako gramnegativní tyčinku. (Mahon, Lehman et al., 1995) Principem této metody je rozdílná barvitelnost bakterií dle Grama na základě jejich stavby stěny. Krystalová violet obarví bakteriální buňky fialově. S Lugolovým roztokem, který obsahuje jód, vytvoří barvivo komplex, který se u gramnegativních bakterií při odbarvování alkoholem snadno z buňky odplaví a ty se následně dobarví červeným barvivem safraninem. U grampozitivních bakterií se komplex odplaví hůře a tyto buňky pod mikroskopem mají barvu modrou až fialovou. (Votava a kol., 2010)

Tento obraz není specifický a je lehce zaměnitelný s ostatními z rodu enterobakterie. (Mahon, Lehman et al., 1995)

2.2.2 Kultivace

Escherichia coli tvoří na Endově nebo McConkey půdě laktózaštěpící kolonie purpurové barvy a na půdě XLD žluté kolonie. Některé kmeny se poznají podle beta hemolýzy na krevním agaru z důvodu produkce hemolysinů. (Votava a kol., 2010)



Obrázek 1 *Escherichia coli* na krevním agaru (foto autor)

Escherichia coli roste na běžných mikrobiologických půdách, optimální podmínky pro růst jsou při teplotě 37°C/24 hodin. (Borriello, Murray et al., 2005) V závislosti na stupni lipopolysacharidů na vnější membráně rostou na pevných půdách v charakteristických lesklých, hladkých nebo suchých, vrásčitých, hrubých koloniích.

V tekutých půdách *Escherichia coli* tvoří homogenní zákal, který po 12 - 18 hodinách spontánně aglutinuje a poté sedimentuje na dně nádoby. (Borriello, Murray et al., 2005)

2.2.3 Identifikace

Koliformní mikroby se identifikují rutinně v laboratoři podle biochemické aktivity. (Votava a kol., 2010) Na biochemické aktivitě koliformních mikrobů jsou založeny identifikační sety (např. Lachema, Vitek, API a další). Mezi novější metody identifikace rodů a druhů patří hmotnostní spektrometrie (MALDI-TOF). Problematická je identifikace díky úzké příbuznosti s rodem *Shigella*.

K odlišení od ostatních základních koliformních bakterií se provádí řada testů, kde se sleduje produkce indolu, pohyb či negativní produkce ureázy. Mezi takové testy patří základní biochemická řada. Je to řada zkumavek obsahující různý biochemický substrát, po jehož naočkování kmene se sleduje výsledek jednotlivých biochemických testů. Souhrn těchto výsledků je charakteristický pro určitý druh.

Mezi takové testy patří:

Zkvašení glukózy a tvorby plynu

Půda obsahuje nepatrné množství glukózy. V reakci se využívá změny pH při zkvašování cukrů. Indikátorem je fenolová červeň. Pokud bakterie produkuje plyn, nahromadí se v ní a vytvoří bublinku.

- pozitivní s bublinami – žlutá barva (zkvašení glukózy) + bubliny
- pozitivní bez bublin – žlutá barva (zkvašení glukózy)
- negativní – zelenomodrá barva (bez kvašení)

Tvorba H₂S

Hajnova půda (TSI – triple sugar iron) obsahuje tři cukry glukózu, fruktózu a laktózu. Dále obsahuje tiosulfát sodný, z něhož redukcí vzniká H₂S. Indikátorem této reakce je citrát železitanoamonný.

- pozitivní: černá barva
- negativní: červená, žlutá barva

Tvorba indolu

Půdy ve vysokém množství obsahují tryptofan. Z tryptofanu vzniká činností bakterií indol, jehož přítomnost prokážeme přidáním Kovácsova činidla.

- pozitivní: červený prstenec na hladině
- negativní: žlutý prstenec na hladině

Simmonsův citrát

Půda obsahuje citrát amonný a bromthymolovou modř jako indikátor. Bakterie využívají citrát amonný jako jediný zdroj uhlíku. Dochází k uvolnění amoniaku, alkalizaci prostředí a zmodrání půdy.

- pozitivní: modrá barva
- negativní: zelená, žlutá barva

Tvorba ureázy

Půda obsahuje močovinu. Ureáza, která je produkována bakteriemi, rozkládá močovinu v půdě a dochází k alkalizaci prostředí a zmodrání půdy. (Bednář, 1996), (Votava a kol., 2010)

- pozitivní: modrá barva
- negativní: zelená, žlutá barva



Obrázek 2 Biochemické testy pozitivní výsledek
Zleva: pozitivní Hajnova půda, tvorba indolu,
negativní Simmonsův citrát, negativní ureáza
(foto autor)



Obrázek 3 Biochemické testy negativní výsledek
Zleva: negativní Hajnova půda, negativní tvorba
indolu, pozitivní Simmonsův citrát, pozitivní ureáza
(foto autor)

2.2.4 Antigenní struktura

Antigenem je nazývána látka, která imunitní systém rozpozná a reaguje na něj. Aby imunitní systém mohl reagovat na antigeny, je potřeba, aby byly rozpoznány ve formě makromolekul. Nejčastějšími antigeny jsou proteiny, polysacharidy a také lipidy a lipoproteiny. (Hořejší, Bartůňková, 2009)

Principem aglutinace je reakce antigenu (Ag) s protilátkou (Ab). Výsledkem této reakce je shlukování částic a tvorba aglutinátu (granulí), který rychle sedimentuje. (Litzman, Freiburger et al., 2009)

Diagnostika je založena na antigenech O, H a K. (Schindler, 1999) Serotypizace je založena na distribuci liposacharidů (LPS) tělových (O), flagellárních (H) nebo kapsulárních (K) antigenech, které jsou detekovány pomocí aglutinačních testů se specifickými králičími protilátkami. (Greenwood at al., 2007)

Je popsáno více než 180 O antigenů, které detekuje zkříženou reakcí díky společným epitopům na LPS exprimovaných kmenem *Escherichia coli* a mohou se

vyskytovat i u rodu *Brucella*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella* nebo *Yersinia*.

Dále bylo identifikováno více jak 50 H antigenů. Je jen málo významných zkřížených reakcí mezi H antigeny *Escherichia coli* a dalšími H antigeny členy Enterobacteriaceae.

Termín K antigen byl prvně použit společně pro povrchové nebo kapsulární antigeny, které brání bičíkově - specifickým protilátkám z vazby na somatické antigeny. (Greenwood et al., 2007)

Escherichia coli se pro aglutinační reakce kultivuje na Endově půdě. Pro snadnější identifikaci v množstvích antigenů se zkouší kmeny nejdříve s polyvalentními séry a poté s monovalentními séry. (Votava a kol., 2010)

2.3 Přirozený výskyt

Escherichia coli je součástí normální střevní flóry lidí a teplokrevných živočichů. Je vylučována s exkrementy a může přežít v prostředí mimo lidské tělo. *Escherichia coli* je také používána za ukazatele fekálního znečištění a za důležitý parametr v hygieně potravin a vodní hygieně. Může způsobovat řadu onemocnění v humánní a savčí populaci. (Borriello, Murray et al., 2005)

2.4 Cesta přenosu

Zdroj infekce se rozvíjí buď endogenní, nebo exogenní cestou. Endogenní cestou rozumíme přenos původce pocházejícího z mikroflóry lidského těla (především pacienti s nozokomiálními infekcemi). Exogenní cestou rozumíme přenos původce nepocházejícího z mikroflóry lidského těla (nemocničním zařízením a rukama nemocničního personálu). (Kolář, 2012)

Přírodní reservoir enterovirulentního kmene jsou střeva lidí. Organismy se dále šíří přímým kontaktem nebo pomocí kontaminovaného jídla či vody. (Borriello, Murray et al., 2005)

2.5 Patogenita

Escherichia coli je komenzálním kmenem střeva, kde působí prospěšně. Je prospěšná jako součást přirozené mikroflóry, jelikož produkuje řadu látek, které brání rozšíření patogenních bakterií a podílí se i na tvorbě některých vitamínů (např. vitamín

K). Jde ale o oportunního patogena (mikroorganismy neinvazivní nebo dokonce za normálních okolností nepatogenní, které vyvolávají onemocnění většinou jen u hostitele s významnou poruchou imunity), který se za určitých podmínek může stát patogenním. Patogenní kmeny *Escherichia coli* kódují faktory virulence: produkce toxinů nebo specifické antigenní struktury (kapsulární, somatický a bičíkový antigen). (Votava a kol 2003)

2.6 Onemocnění

Mezi nejčastější onemocnění způsobené *Escherichia coli* patří komunitní nekomplikované močové infekce získané mimo nemocnici. Dále způsobuje onemocnění například meningitidu, sepsi novorozenců, pooperační infekce a abscesy v orgánech. (Schindler, 1999)

Dostupné studie *Escherichia coli* z infekce močových cest, krevního oběhu, centrální nervového systému, dýchacího ústrojí a pobřišnice ukazují, že většina z těchto izolátů je zcela odlišná od komenzální a *Escherichia coli* způsobující střevní onemocnění. V poslední době byla navržena nová terminologie, kdy kmeny *Escherichia coli* jsou souhrnně nazývané ExPEC (extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*). Kmeny asociované se sepsí se nazývají SEPEC (sepsis-associated *Escherichia coli*), kmeny přidružené s novorozeneckou meningitidou NEMEC (neonatal-meningitis-associated *Escherichia coli*) a uropatogenní kmeny UPEC (uropathogenic *Escherichia coli*). Důvodem nových názvů je, aby odrážely jejich společné schopnosti překonat nebo rozvrátit obranu hostitele a způsobit onemocnění ve více anatomických oblastech. (Johnson, Russo, 2005)

2.6.1 Močové infekce

Infekce močových cest patří mezi nejčastější bakteriální onemocnění jak v komunitě, tak v nemocnici. Multirezistentní izoláty *Escherichia coli* jsou obvykle rezistentní vůči ampicilinu a trimethoprim–sulfamethoxazolu, méně často odolné vůči fluorochinolonům a jen zřídka odolné vůči nitrofurantoinu. (Karlowsky et al., 2007)

2.6.2 Sepse

Escherichia coli může způsobit novorozenecké meningitidy a septikémie, sepsy u operačních ran a abscesy v různých orgánech. Dle světové zdravotnické organizace se

dostává novorozenecká meningitida mezi přední infekce novorozenců. *Escherichia coli* je v současnosti druhou příčinou novorozenecké meningitidy. Na prvním místě stále zůstávají streptokoky typu B, kdy se vyskytuje jeden případ způsobený *Escherichia coli* na dva případy způsobené streptokoky. (Bonacorsi, Bingen, 2005)

Průběh infekce novorozeneckou meningitidou probíhá v několika fázích. *Escherichia coli* získaná od matky nebo z okolního prostředí kolonizuje střevní trakt kojence. (Bonacorsi, Bingen, 2005) Další krok spočívá v bakteriální translokaci ze střevního lumen do krevního řečiště. Při bakteriémií dojde ke zmnožení a k intravaskulárnímu přežití. Bakteriémií předchází přes hemato-encefalitickou bariéru a invazi z arachnoidálního prostoru. (Kim, 2001)

2.6.3 Průjmová onemocnění

Ačkoli se *Escherichia coli* běžně nachází ve střevech jako neškodná bakterie, může způsobit gastrointestinální onemocnění v rozmezí mírného průjmu až hemoragické kolitidy i onemocnění potenciálně ohrožující život - hemolytický uremický syndrom.

Kmeny, které způsobují průjem, můžeme rozdělit do několika skupin dle patogenetických mechanismů:

Enteropatogenní *Escherichia coli* (EPEC)

Tyto kmeny, jejichž výsledkem je hojný vodnatý průjem, provází běžně horečka a zvracení. Tento kmen je velmi podobný kmenu EHEC, způsobuje vyhlazení povrchu střeva. Důležitým rozdílem mezi EPEC a EHEC je to, že EPEC neprodukuje *shiga* toxin, a proto nevytváří symptomy charakteristické pro danou bakterií. (Talaro, Cowan, 2009) Zejména v tropech způsobuje průjem kojenců často s příměsí krve. Dále se vyskytuje hromadně v nemocnicích a má vysokou mortalitu. (Schindler, 2010)

Enterotoxigenní *Escherichia coli* (ETEC)

Produkuje dva adheziny, které se vážou na intestinální mukózu, a produkuje enterotoxiny, které jsou dvojího druhu. Buď tepelně stabilní (ST) nebo tepelně labilní (LT) a jsou zodpovědné za průjem. LT toxin je podobný toxinu *Vibrio cholerae*. ST toxin se váže ke guanylátcykláze vedoucí ke zvýšení intracelulárního cGMP hladiny a odtoku vody a elektrolytů ze střevních buněk. Pacienti trpí tzv. cestovatelskými průjmy, které jsou charakterizovány vodnatými průjmy. (Mahon, Lehman et al., 1995)

Enteroinvazivní *Escherichia coli* (EIEC)

Způsobuje infekci podobnou jako u infekce způsobené bakterií *Shigella*. U pacientů se zprvu objevuje vodnatá stolice, která je podobná stolici způsobené ETEC. Později prograduje vodnatý průjem do invazivního typu průjmu, který je provázen horečkou, bolestmi břicha a křečemi, až se nakonec objeví krev ve stolici. (Mahon, Lehman, et. al., 1995)

Escherichia coli produkující *vero*-cytotoxin (VTEC)

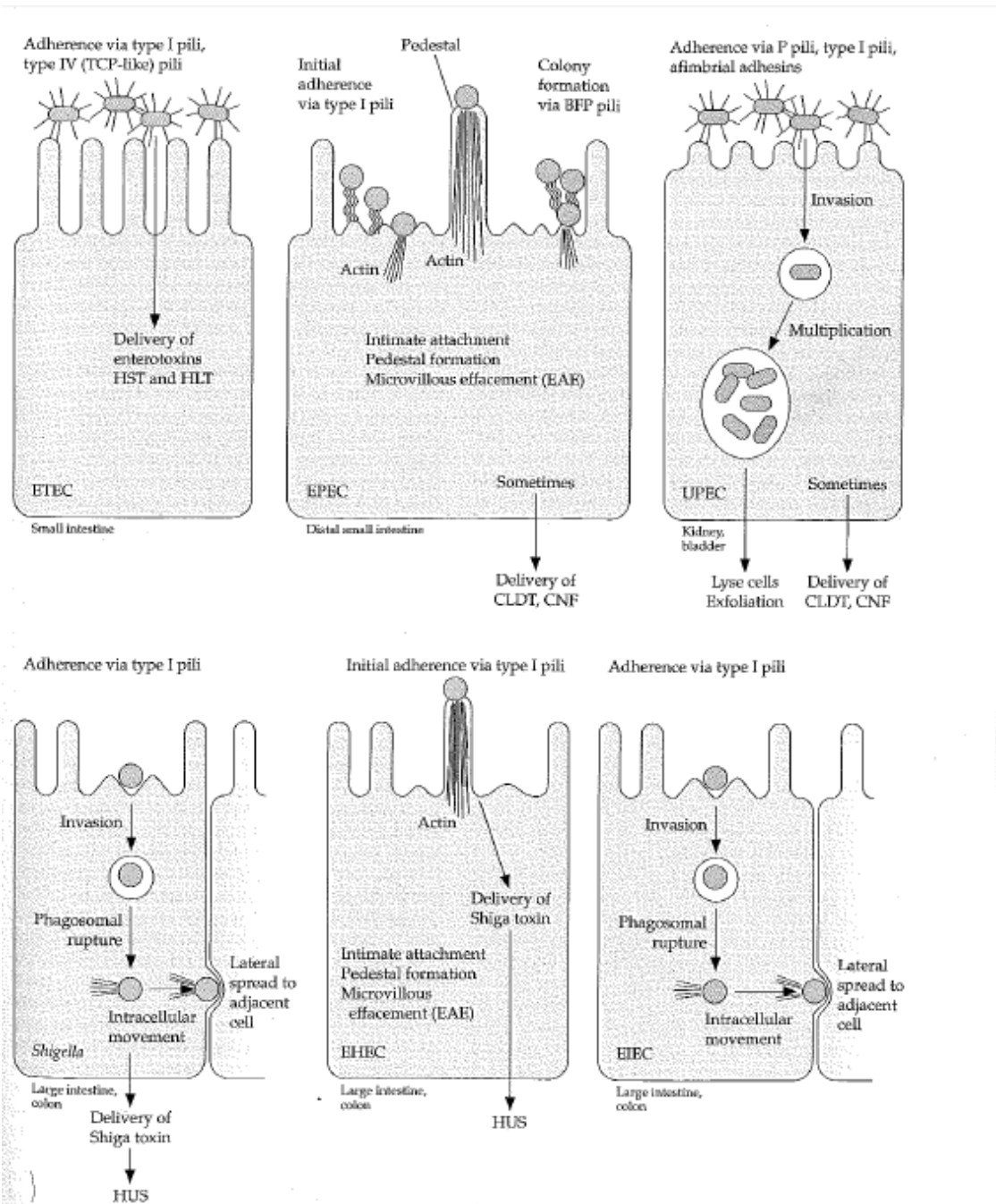
Infekce může být asociována s širokou škálou klinických symptomů, a to zejména s mírným průjmem bez přítomnosti krve, který vede k rozvoji hemolyticko-uremického syndromu. Hemoragická kolitida způsobuje průjem se silnou příměsí krve, obvykle s absencí horečky. Předchází tomu břišní bolest a vodnatý průjem. Biologické vlastnosti, fyzikální charakteristika a antigenní struktura jsou velmi podobné *shiga* toxinu produkovaný kmenem *Shigella dysenteriae*.

Enterohemoragická *Escherichia coli* (EHEC)

Infekce EHEC začíná obvykle vodnatým průjmem. Dále dochází druhý nebo další den ke zvýšené bolesti břicha a ve stolici se objevuje krev. Tato nemoc se může vyvinout také v hemolyticko-uremický syndrom, který je charakterizovaný hemolytickou anémií, nízkým počtem krevních destiček a následným selháním ledvin. (Mahon, Lehman at al., 1995)

Enteroagregativní *Escherichia coli* (EAEC)

Je charakterizována svojí schopností adherovat částice laboratorně nakultivovaných buněk. Průjmy způsobené těmito kmeny jsou poměrně vzácné a vyskytují se častěji v endemických oblastech. Z endemických oblastí je pak cestovním ruchem přenášen do vyspělých zemí.



Obrázek 4 Působení patogenní *Escherichia coli* ve střevě (Wilson, 2002)

2.7 Terapie

Terapie spočívá v podávání cefalosporinů první, maximálně druhé generace. U citlivých kmenů se podává ampicilin. (Votava a kol., 2010)

3 Vznik a vývoj rezistence

V současné době představuje bakteriální rezistence vůči antibiotikům velký klinický problém na celém světě, který může vést potencionálně k selhání léčby nebo dokonce k smrti pacienta, kde rezistentní bakterie jsou etiologickou agens závažných onemocnění. (Chromá, Kolář, 2010)

Rezistence k určitému antibiotiku může být přirozenou nebo získanou vlastností. Přirozená rezistence bývá uvedena v souhrnné charakterizaci antibiotika. Příčinnou je absence cílového místa účinku nebo absence sterolů v cytoplazmatické membráně bakterií, které znemožňují účinek antifungálních polyenů. (Marek, 2010) Protože je možné tento typ rezistence předpokládat, nepředstavuje zásadní problém. (Kolář, 2012)

Mikroby, které byly k danému antibiotiku původně citlivé, mohou rezistenci získat mutací genů nebo získáním determinant rezistence. Mutační rezistence se vyskytuje poměrně vzácně a je výsledkem spontánně se vyskytujících chyb v procesu replikace DNA, které nebyly opraveny. Podáním účinného antibiotika dochází k inaktivování růstu a množení citlivých buněk. Rezistentní buňky se množí a přežívají. (Marek, 2010) Tento typ rezistence je závažnější problém, protože jej nelze v plné rozsahu předem předpokládat. (Kolář, 2012)

Je mnoho mechanismů, kterými se bakterie chrání před antibiotiky. Ty jsou klasifikovány do čtyř základních skupin:

1. Chybějící cílová struktura, na níž by antibiotikum účinkovalo

Změna v primárním účinku může vzniknout mutací v genu, což má za následek modifikaci cílové struktury. Tato cílová struktura si zachová své nezbytné buněčné funkce, ale je nepřístupná pro antibiotickou inhibici. Dalším typem modifikace je import genu, který specifikuje nový náhradní enzym, který výrazně sníží citlivost na lék. (Chromá, Kolář, 2010)

2. Změna v propustnosti membrány

Bakteriální buňky mají vnitřní schopnost omezit vstup malých molekul do buňky. Taková schopnost je typická pro gramnegativní bakterie, jejichž vnitřní membrána, asymetrická dvojvrstva složená z fosfolipidů, polysacharidů a proteinů, poskytuje účinnou bariéru a první linii obrany proti antimikrobiálním látkám. Některé proteiny tvoří vodou naplněné kanály nazývané poriny, které umožňují difúzi hydrofilních

rozpuštěných látek do buňky. Malá antibiotika, např. β -laktamová, tetracykliny nebo chloramfenikol s hydrofilním charakterem, využijí tuto cestu k překročení vnější membrány. Jakýkoliv pokles schopnosti nebo rychlosti vstupu těchto sloučenin může vést k rezistenci v mnoha bakteriích pomocí ztráty funkčních porinů. (Chromá, Kolář, 2010)

3. Enzymatická inaktivace

Bakteriální β -laktamázy jsou nejvíce známým příkladem tohoto mechanismu rezistence. Účinek této skupiny enzymů se skládá z interakce s β -laktamovými antibiotiky a následným narušením amidové vazby na čtyř členěný β -laktamový kruh, čímž dochází k inaktivaci antibiotika. (Chromá, Kolář, 2010)

4. Rychlé vylučování antibiotik z buňky

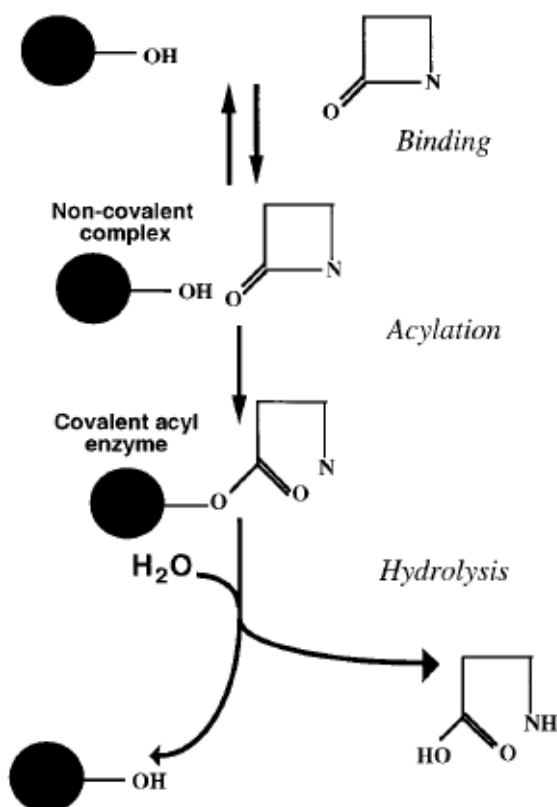
Výtokové pumpy jsou transmembránové transportní proteiny používané fyziologicky u gramnegativních a grampozitivních bakterií pro export specifických metabolitů a xenobiotických toxických látek ven z buněk. Pumpy mohou být specifické pro jednotlivé substráty nebo mohou transportovat řadu strukturálně různých sloučenin. Tyto transportní molekuly mohou být spojovány s multirezistencí. (Chromá, Kolář, 2010)

Rezistence vzniká neúspěšnou léčbou danými antibiotiky, kdy dochází ke změně genomu. Geny zodpovídající za rezistenci se přenáší pomocí plazmidů, které se nachází v buňkách v mnoha kopiích. Pokud se plazmidy přenáší z jedné buňky do dalších v rámci jedné generace, jedná se o horizontální přenos. Mezi horizontální přenosy patří i přenos pomocí bakteriofágu (transdukci) anebo DNA (transformaci). Poslední dva typy se objevují jen zřídka. Dalším typem přenosu je vertikální přenos, kdy se rezistence přenáší na potomstvo. Dochází tak z důvodu působení antibiotika na normální citlivé buňky, zatímco rezistentní buňky se nadále množí.

Na šíření rezistence se podílí souhra faktorů, kdy dochází k tomu, že se bakterie množí rychle, vyskytují se v početných populacích, mají poměrně vysokou mutační rychlost nebo mohou přenášet část chromozomu, převážně plazmidy. Zvláště mezi plazmidy s geny rezistence (R-plazmidy), které se v buňce množí, a tím se řetězově infikují další buňky.

3.1 β – laktamázy

Nejčastější příčinou rezistence k penicilínovým a cefalosporonovým antibiotikům je exprese β -laktamázy. Jsou to enzymy, které štěpí amidovou vazbu v β -laktamovém kruhu. (Tomanicek et al., 2011) Jsou produkovány gramnegativními a grampozitivními tyčkami, koky, anaeroby a mykobakteriemi. Inhibitory β -laktamáz se využívají k léčbě. Mezi inhibitory patří β -laktamy, mezi něž patří kyselina klavulanová, sulbaktam nebo tazobaktam. Mají zanedbatelnou hydrolytickou aktivitu, nicméně poměrně silnou afinitu k aktivnímu centru enzymu, kam se váží a inhibují hydrolytickou aktivitu. (Bednář, 1996)



Obrázek 5 Chemické schéma penicilinů s označením štěpení β -laktamáz (Livermore, 1995)

3.1.1 Klasifikace β -laktamáz

Historie

Důvodem klasifikace laktamáz na základě jejich funkce bylo odlišení cefalosporináz (laktamázy s vysokou hydrolyzou cefalosporinů) od penicilináz (s dobrou penicilin-hydrolyzovou aktivitou). V roce 1968 bylo přijato klasifikační schéma od Sawai et. al. popisující penicilinázy a cefalosporinázy pomocí reakce

antiséra jako dalšího diskriminátora. O pár let později, v roce 1973, bylo doplněno o schéma od Richmonda a Sykese, které zahrnuje všechny laktamázy z gramnegativní bakterie popsané v té době. Výsledkem bylo třídění enzymů do pěti hlavních skupin na základě profilu substrátu. Další změna nastala Bushem v roce 1989, která zahrnovala enzymy ze všech bakteriálních zdrojů. Byl to první systém, který se pokusil korelovat substrátové a inhibiční vlastnosti s molekulární strukturou. (Bush, Jacoby et al., 1995)

První klasifikace na základě molekulární struktury byly navrhovány už v roce 1980, kdy byly známy pouze čtyři aminokyselinové sekvence z laktamázy. Enzymy jsou rozděleny do čtyř tříd A, B, C a D založených na podobnosti primární sekvence a katalytického mechanismu. (Bush, Jacoby et al., 1995) Třídy C a D využívají serin jako aktivní místo mechanismu účinku, zatímco třída B vyžaduje bivalentní kationty, např. zinek, který katalyzuje β -laktamovou hydrolyzu. (Maiduddin, Materon et al., 2002)

Ambler class	Bush-Jacoby-Medeiros class	Preferred substrates	Inhibited by clavulanate	Representative enzyme(s)
A (serine penicillinases)	2a	Penicillins	+	PC ₁ from <i>S. aureus</i>
	2b	Penicillins, narrow-spectrum cephalosporins	+	TEM-1, TEM-2, SHV-1
	2be	Penicillins, narrow-spectrum and extended-spectrum cephalosporins	+	SHV-2 to SHV-6, TEM-3 to TEM-26, CTX-Ms
	2br	Penicillins	-	TEM-30, SHV-72
	2c	Penicillins, carbenicillin	+	PSE-1
	2e	Extended-spectrum cephalosporins	+	FEC-1, CepA
	2f	Penicillins, cephalosporins, carbapenems	±	KPC-2, SME-1, NMC-A
B (metallo- β -lactamases)	3	Most β -lactams, including carbapenems	-	IMP-1, VIM-1, CcrA, and BcII (B ₁); CphA (B ₂); L1(B ₃)
C (cephalosporinases)	1	Cephalosporins	-	AmpC, CMY-2, ACT-1
D (oxacillinases)	2d	Penicillins, cloxacillin	±	OXA-1, OXA-10
Not classified	4			

Obrázek 6 Klasifikační schéma dle Bushe, dle Amblera (Drawz, Bonomo, 2010)

Třída A

Enzymy, které jsou součástí této třídy, velmi rychle hydrolyzují β -laktamová antibiotika. Nejčastěji jsou produkovány gramnegativními a grampozitivními bakteriemi. (Maiduddin, Materon et al., 2002)

Třída B

Tato třída enzymů je významná svojí schopností hydrolyzovat karbapenemy. Rezistence bývá rozšířená i na peniciliny nebo cefalosporiny, ale jsou rezistentní vůči všem β -laktamovým inhibitorům. Třída B je dále rozdělena na podtřídy B1, B2 a B3 podle potřeby kovu. Podtřída B1 zahrnuje většinu metalo- β -laktamáz. Funkční podskupina B2 má dvě zinkové stránky, každé s podobnou vazebnou afinitou. V podskupině B3 se zinek váže pevně pro maximální enzymatickou aktivitu. (Maiduddin, Materon et al., 2002)

Třída C

Enzymy této třídy jsou produkovány pouze gramnegativními bakteriemi. Do této třídy patří chromozomální β -laktamázy typu AmpC, které způsobují rezistenci na cefalosporiny I. a II. generace a na širokospektré peniciliny. Ačkoliv tazobaktam má schopnost třídu C inhibovat, další mechanismy na bázi inhibitorů jako kyselina klavulánová jsou neúčinné proti třídě C. (Maiduddin, Materon et al., 2002)

Třída D

Do této třídy patří OXA enzymy. Název OXA pochází ze schopnosti těchto enzymů efektivně hydrolyzovat oxacilin. Další klinický problém představuje nedostatek inhibitorů pro tyto enzymy. (Maiduddin, Materon et al., 2002)

Další klasifikace podle Bushové, Jacobyho a Medeirose má dobrou návaznost na členění dle Amblera. β -laktamázy se třídí do několika skupin podle funkčních vlastností. (Bednář, 1996) Tři hlavní skupiny enzymů jsou definovány dle jejich substrátů a inhibitorů.

První skupina

Do první skupiny patří cefalosporinázy, které nejsou dobře inhibovány kyselinou klavulánovou. (Bush, Jacoby et al., 1995)

První skupina, rozšířené spektrum β -laktamáz (ESBL), má schopnost hydrolyzovat a způsobit rezistenci k různým typům novějších β -laktamových antibiotik, včetně třetí generace cefalosporinů a monobaktamů, ale nemá schopnost hydrolyzovat a způsobit rezistenci cefamycinu a karbapenemům. (Pitout, Laupland, 2008) V této skupině se nachází indukovatelné enzymy, které jsou primárně lokalizované na chromozomu,

preferenčně aktivní k cefalosporinům. (Bednář, 1996)

Druhá skupina

Do druhé skupiny patří penicilinázy, cefalosporinázy a široké spektrum laktamáz, které jsou obecně inhibovány aktivními laktamázovými inhibitory. (Bush, Jacoby et al., 1995)

Druhá skupina, jež je charakterizovaná primární aktivitou k penicilinům, je aktivní i k cefalosporinům. Obsahuje osm podskupin. Nejznámější je podskupina, ve které je zařazena plazmidová β -laktamáza gramnegativních tyčinek TEM-1. (Bednář, 1996)

Třetí skupina

Třetí skupina, do které patří metalo- β -laktamázy, hydrolyzují peniciliny, cefalosporiny a karbapenemy a jsou nedostatečně inhibovány téměř všechny laktamové molekuly. (Bush, Jacoby et al., 1995)

Třetí skupina je zastoupená metaloenzymy, které nejsou inhibovány klavulanátem. (Bednář, 1996)

3.2 Klinicky významné laktamázy

3.2.1 ESBL – širokospektré β -laktamázy

Širokospektré β -laktamázy jsou plazmidy kódované β -laktamázy. (Rodríguez-Bano, Navarero et al., 2006) Jsou rezistentní na peniciliny, cefalosporiny všech generací a monobaktamy. Jsou inhibovány inhibitory β -laktamáz, nehydrolyzují karbapenemy a obvykle ani cefamyciny. Dle funkční klasifikace navržené K. Bush et al. spadají do skupiny 2be, část spadá do skupiny 2d. (Hrabák, Bergerová, Žemličová, 2009) ESBL produkují Enterobakterie, kteří hrají důležitou vedoucí roli mezi nozokomiálními a získanými multirezistentními organizmy.

ESBL jsou děleny do několika typů. Dva nejčastější typy jsou TEM a SVH typ. V poslední době byl navržen nový typ CTX-M odvozený od cefotaximu, širokospektrého antibiotika ze třetí generace cefalosporinů. (Rodríguez-Bano, Navarro et al., 2006)

TEM- β -laktamázy

TEM ESBL typy jsou nejčastěji nalezeny u *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae*. Všechny typy TEM jsou odvozeny od enzymů TEM-1 a TEM-2.

(Al-Jasser, 2006) Enzym TEM byl původně izolován z kmene *Escherichia coli*, z hemokultury pacientky jménem Temoniera v Řecku v roce 1965. První TEM varianta se zvýšenou aktivitou proti rozšířeným spektrům cefalosporinů byla TEM-3, která byla zaznamenána v roce 1987. Od té doby došlo k rychlému zvýšení v počtu a rozmanitosti rozšířeného spektra TEM variant. Počet variant nyní dosáhl více než 100 variant. (Shah, Hasan et al., 2004)

SVH- β -laktamázy

SVH typ ESBL lze nalézt v klinickém materiálu častěji než jakýkoliv jiný typ ESBL. Na rozdíl od TEM typu β -laktamáz existuje relativně málo derivátů SHV-1. Většina variant SHV mají ESBL fenotyp a vyznačují se tím, že je serin nahrazen glycinem na pozici 238. Také některé mají nahrazen lysin za glutamát na pozici 240. Zbytkový serin na pozici 238 je rozhodující pro efektivní hydrolyzu ceftazidimu a lysinu. Ve světě je popsáno již více než 50 SHV typů. Většina ESBL fenotypů a inhibitorů odolných vůči fenotypu byly hlášeny v několika enzymech SHV.

CTX-M- β -laktamázy

CTX-M- β -laktamázy jsou poměrně novou skupinou, která je plasmidem přenášena a hydrolyzuje cefotaxim. Název CTX odráží silnou hydrolytickou aktivitu těchto β -laktamáz proti cefotaximu. Tyto enzymy hydrolyzují cephalothin lépe než benzylpenicillin a přednostně hydrolyzuje cefotaxim přes ceftazidim. CTX-M typ byl převážně nalezen ve třech zeměpisných oblastech: Jižní Amerika, Dálný východ a východní Evropa. Nicméně v posledních letech byl CTX-M typ ESBL hlášen také v západní Evropě, Severní Americe, Číně, Japonsku a Indii. CTX-M typ je nejčastější typ ESBL po celém světě. Počet CTX-M typu β -laktamáz se rychle šíří. V současné době je známo více než 40 CTX-M variant.

3.2.2 β -laktamázy typu AmpC

Podle klasifikace Bushové et al. jsou enzymy AmpC řazeny do první skupiny. Podle Amblerovy klasifikace jsou řazeny do skupiny C. Jedná se o β -laktamázy se serinem v aktivním místě, hydrolyzující peniciliny, cefamyciny a většinu cefalosporinů a monobaktamy. Nehydrolyzují karbapenemy a nejsou inhibovány inhibitory β -laktamáz. (Hrabák, Bergerová, Žemličová, 2009) Od širokospektrých β -laktamáz se liší především schopností hydrolyzovat cefamyciny a necitlivostí k inhibitorům. Na základě svého spektra účinku jsou často označovány jako cefalosporinázy. (Hrabák,

2007b)

Rozlišujeme několik druhů β -laktamáz typu AmpC:

- inducibilní enzymy AmpC (iAmpC) - exprimují se pouze v přítomnosti induktoru (cefoxitin nebo inhibitory β -laktamáz – kyselina klavulanová, sulbaktam nebo tazobaktam).
- konstitutivní AmpC - dochází k nadprodukcí β -laktamáz, které se exprimují i bez přítomnosti induktoru. (Votava a kol., 2003)

3.2.3 *Metallo- β -laktamázy*

Substrátová specificita metallo- β -laktamáz zahrnuje peniciliny, cefalosporiny a karbapenemy. Monobaktamy nejsou MBL hydrolyzovány. Nejsou inhibovány inhibitory β -laktamáz s β -laktamovým kruhem. Donorem molekuly vody při hydrolýze amidové vazby β -laktamu je kovový iont vázaný v aktivním místě enzymu. V Amblerově klasifikaci jsou MBL zařazeny do skupiny B a v klasifikaci navržené Bushem et al. jsou zařazeny ve třetí skupině. (Hrabák, Bergerová et al., 2009)

4 Metody detekce ESBL

Metody pro průkaz antimikrobiálních rezistencí můžeme rozdělit na metody screeningové (vyhledávací) a na metody fenotypové rezistence, a na metody, které prokazují její genotyp.

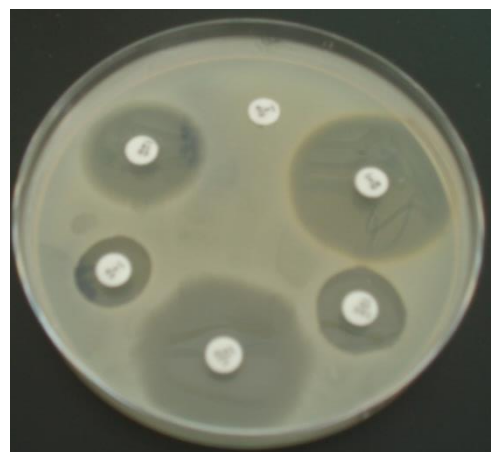
4.1 Screeningové testy

Screeningové testy průkazu rezistence se dělí na kvalitativní a kvantitativní testy. Mezi kvalitativní testy se řadí diskový difúzní test a mezi kvantitativní E-testy nebo diluční testy. (Votava a kol., 2003)

4.1.1 Kvalitativní testy

Diskový difúzní test

Diskový difúzní test patří mezi nejběžněji užívanou metodu kvalitativního stanovení citlivosti. Tento test je přísně standardizován a jeho správný výsledek závisí na mnoha faktorech. Test probíhá na Mueller-Hintonově agaru v Petriho misce. Agar je nalit ve standardní tloušťce se standardním pH v rozmezí 7,2 - 7,4. Nejdříve se v bujONU připraví suspenze ze čtyř až pěti kolonií. Užívá se koncentrace 160 bakterií v 1 ml. Dále se k naočkování použije sterilní vatový tampón smáčený v suspenzi a naočkuje se rovnoměrně po celém povrchu agaru. Nakonec se položí na agar maximálně šest papírových disků nasycených standardním množstvím antibiotika. Disky se kladou proti směru hodinových ručiček. Inkubace probíhá 18 - 24 hodin při 37 °C. Během inkubace disk nasaje vodu z půdy a antibiotikum difunduje do okolí. Jestli jsou bakterie inhibovány v růstu, vytvoří se kolem disku inhibiční zóna. Po inkubaci se změří průměr inhibiční zóny. (Votava a kol., 2003) Ty se následně porovnají s tabulkovými hodnotami daného antibiotika a mikroba s tzv. referenční zónou. (Bednář, 1996)



Obrázek 7 Diskový difúzní test (foto autor)

4.1.2 Kvantitativní testy

Mikrodiluční metoda - minimální inhibiční koncentrace

Tímto testem se stanovuje minimální inhibiční koncentrace (MIC) daného antibiotika, pomocí kterého se vyjadřuje míra citlivosti antibiotika. Test se provádí v plastových mikrotitračních destičkách s jamkami. Jedna destička má 96 jamek a slouží pro jeden kmen. V pravém horním rohu je umístěna kontrola růstu, která obsahuje růstové médium bez antibiotika. Zbylé jamky jsou naplněny růstovým médiem, které obsahuje různé koncentrace antibiotik řaděné geometrickou řadou. (Votava a kol., 2003) Do pŕdy se naočkuje zkoumaný mikrob a po 18 - 20 hodinách inkubace se hodnotí růst podle zákalu pŕdy. Díky stanovení MIC lze určit dávku antibiotika, která nejméně zatěžuje organismus toxickými účinky. (Bednář, 1996)

Minimální inhibiční koncentrace je nejnižší koncentrace dané antimikrobiální látky, která je ještě schopna testovaný kmen bakterie zastavit v růstu. (Votava a kol., 2010) Tato hodnota se udává v jednotkách mg/l nebo $\mu\text{g/ml}$ a srovnává se s hraniční hodnotou nazývanou break point. Je-li MIC nižší nebo rovna hraniční hodnotě, je daný mikrob na antibiotikum citlivý. Je-li MIC vyšší, je daný mikrob na antibiotikum rezistentní. (Votava a kol., 2003)



Obrázek 8 Mikrodiluční metoda (foto autor)

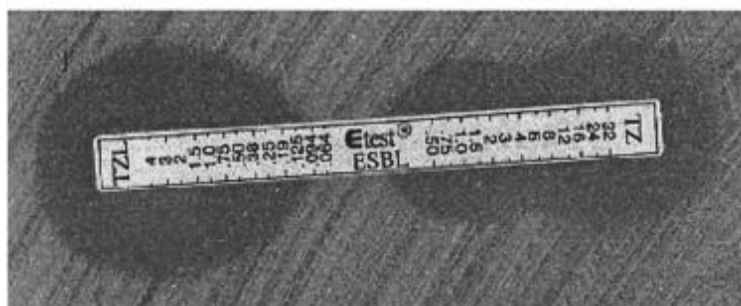
Stanovení minimální baktericidní koncentrace

U vážných onemocnění s poruchami imunity musí být použita antibiotika s baktericidním účinkem. U těchto stavů se stanovuje minimální baktericidní koncentraci (MBC), jež vyjadřuje nejnižší koncentraci antimikrobiální látky, která je

schopna vyšetřovaný kmen usmrtit. (Votava a kol., 2010) Vychází se ze stanovení MIC, kdy je tekutina z jamek, ve kterých došlo k zábraně růstu, přeočkována na pevnou půdu. Tato půda se nechá 18 hodin kultivovat. Po této době se odečítá růst mikroba na půdě. Pokud mikroba neroste, je usmrcen. Pokud však roste, koncentrace antibiotika ho neusmrtila. Toto stanovení se využívá v praxi výjimečně. (Votava a kol., 2003)

E-test

E-test poskytuje rychlou a pohodlnou metodu pro určení minimální inhibiční koncentrace na agarové plotně. Na agar se přiloží dlouhý kalibrovaný proužek, který je napuštěn gradientem koncentrací daného antibiotika. Po přilnutí proužku na agar dochází k difúzi a podél proužku, kolmo směrem od něj, se vytvoří kontinuální gradient. Kolem proužku, na kterém je vyznačena stupnice s hodnotami MIC, se vytvoří inhibiční zóna ve tvaru kapky. Kapka zasahuje svým koncem přímo do místa, kde je koncentrace antibiotika rovna MIC. (Bednář, 1996)



Obrázek 9 E - test pro průkaz širokospektrých β -laktamáz (Bradford, 2001)

Na obrázku č. 9 můžeme vidět, že v obou případech je levá strana proužku napuštěna ceftazidimem v kombinaci s kyselinou klavulanovou (TZL), pravá strana je napuštěna gradientem ceftazidimu (TZ). Horní obrázek znázorňuje pozitivní výsledek. Na spodním obrázku je výsledek testu obtížně interpretovatelný, protože kyselina klavulanová difunduje agarem z levé části proužku do pravé části, který obsahuje samotný ceftazidim. (Bradford, 2001)

4.2 Fenotypové metody průkazu rezistence

4.2.1 Stanovení širokospektrých β -laktamáz

Mezi testy, pomocí kterých se stanovují širokospektré β -laktamázy, patří konfirmační metoda CLSI nebo metoda DDST.

Vyhledávání kmenů produkujících ESBL

Kmen, který testujeme na produkci ESBL, má v diskovém testu u indikátorových β -laktamových antibiotik alespoň jednu hodnotu inhibiční zóny nižší, než je hodnota hraniční. (Votava a kol., 2003)

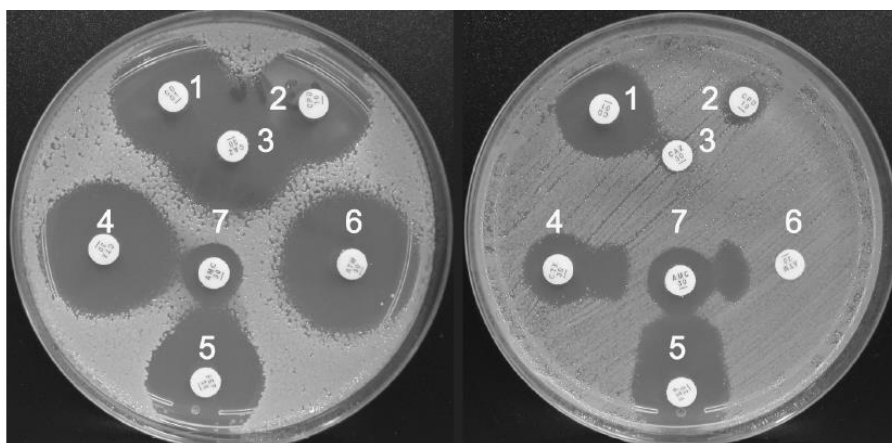
Konfirmační metoda CLSI

Detekce ESBL pomocí konfirmační metody využívá srovnání průměru inhibičních zón, které se vytváří testovaným kmenem na Mueller-Hintonově agaru okolo disků s určitým cefalosporinem a okolo disku obsahujícím kombinaci téhož cefalosporinu s kyselinou klavulanovou. Je-li rozdíl průměru inhibičních zón větší než 5 mm, tak je kmen hodnocen jako producent ESBL.

Tato metoda platí pouze pro druhy *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* a *Proteus mirabilis*. (Hrabák, Vaniš a kol., 2008)

Metoda DDST (Double disc synergy test)

Tato metoda je založena na průkazu synergického účinku mezi inhibitorem β -laktamázy a cefalosporiny třetí generace nebo aztreonamem. Na naočkovanou plotnu se položí doprostřed disk s inhibitorem a ve vzdálenosti 30 mm od středu tohoto disku se umístí další disky se substráty. Synergii můžeme pozorovat rozšířením inhibiční zóny v oblasti jejich společné difúze ve tvaru výseče. (Votava a kol., 2003)



Obrázek 10 Vyšetření produkce ESBL (vlevo metoda DDST a vpravo metoda CLSI). (Hrabák, 2007a)

Na obrázku č. 10: (1) cefpodoxim/k. klavulanová, (2) cefpodoxim, (3) ceftazidim, (4) cefotaxim, (5) cefepim, (6) aztreonam, (7) amoxicilin/kyselina klavulanová. Vlevo se nachází kmen *Klebsiella pneumoniae* neprodukující ESBL, vpravo se nachází kmen *Escherichia coli* produkující ESBL. (Hrabák, 2007a)

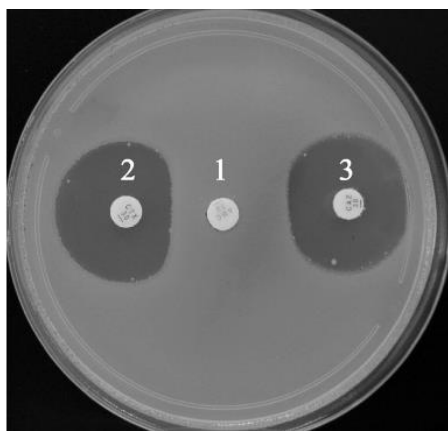
4.2.2 Stanovení β -laktamáz typu AmpC

U stanovení β -laktamáz typu AmpC se rozlišuje stanovení inducibilních nebo konstitutivních enzymů AmpC, které byly popsány v kapitole Vznik a vývoj rezistence.

Detekce inducibilních enzymů typu AmpC

Inducibilní enzymy AmpC (iAmpC) se exprimují pouze v přítomnosti induktoru (cefoxitin nebo inhibitory β -laktamáz – kyselina klavulanová, sulbaktam nebo tazobaktam).

K detekci se používá modifikovaný DDST-test, který slouží jak k detekci ESBL, tak i inducibilní AmpC. Producenti iAmpC vytváří inhibiční zónu ve tvaru písmene D u aztreonamu, cefotaximu a u ceftazidimu. Vzdálenost disků je 25mm. (Votava a kol., 2003)



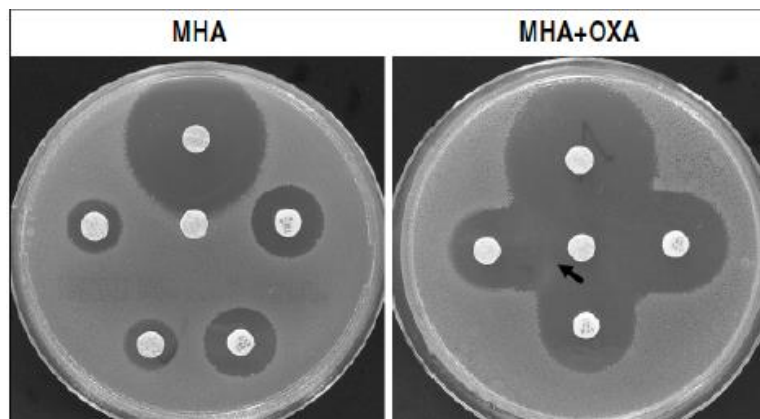
Obrázek 11 Expres β -laktamázy AmpC za přítomnosti induktoru (Hrabák, 2007a)

Detekce hyperprodukce (konstitutivního) AmpC.

U konstitutivní AmpC dochází k nadprodukci β -laktamáz, které se exprimují i bez přítomnosti induktoru.

Pro detekci iAmpC nebo pro detekci současně produkujících AmpC a ESBL se využívá toho, že některé látky jsou schopny inhibovat enzymy AmpC. Jedná se o kyselinu boritou nebo oxacilin. Nejdříve se připraví suspenze bakterií ve fyziologickém roztoku s glukózou. Tímto inokulem naočkujeme Petriho misky a

MHA a současně MHA s oxacilinem. Na obě půlky se umístí disk s amoxicilinem/kyselinou klavulanovou. Do vzdálenosti 25 mm se umístí disky s aztreonamem, ceftazidimem, cefepimem a cefotaximem. Odečítáme a interpretujeme za 24 hodin. (Votava a kol., 2003)



Obrázek 12 Konstitutivní produkce ESBL a AmpC (Hrabák, Bergerová et al., 2009)

Na obrázku č. 12: kmen vpravo je producentem ESBL: na Mueller-Hinton agaru + oxolinová kyselina (MHA+OXA) je zřejmá deformace inhibičních zón (IZ) směrem k disku s amykacinem (AMC), šipka označuje náznak hranice IZ.

Kmen vlevo je konstitutivním producentem AmpC: na MHA + OXA je zřejmé zvětšení IZ u cefalosporinů třetí generace v porovnání s MHA.

4.2.3 Stanovení metalo- β -laktamáz

Průkaz metalo- β -laktamáz

Metody průkazu metalo- β -laktamáz jsou založeny na průkazu inhibice β -laktamáz chelátory kovových iontů, mezi které patří EDTA, kyselina 2-merkaptopropionová a další. Vzhledem k tomu, že u některých druhů není EDTA dostatečně citlivá, je nutné použít kombinaci obou zmíněných inhibitorů EDTA a kyseliny 2-merkaptopropionové. Produkci MBL je nutné vždy konfirmovat spektrofotometrickou metodou hydrolýzy imipenemu, které jsou prováděny specializovanou laboratoří. (Hrabák, Bergerová a kol., 2009)

4.3 Genotypové metody průkazu rezistence

Používání těchto metod má celou řadu výhod. Usnadňuje vyhodnocování výsledků minimální inhibiční koncentrace, když se hodnota pohybuje na hranici účinnosti, nebo těsně okolo ní. V případech akutní infekce umožňuje rychlé zjištění genů rezistence

v porovnání s fenotypovými metodami včasné nasazení terapeutické léčby.

4.3.1 Polymerázová řetězová reakce (PCR)

Nejjednodušší postup genetické detekce β -laktamáz je amplifikace celého β -laktamázového genu nebo jeho části pomocí PCR s oligonukleotidovými primery, které jsou specifické pro cílové geny. (Chromá, Kolář, 2010)

4.3.2 Jednořetězový konformační polymorfismus (PCR-SSCP)

Jedná se o jednoduchou metodu pro identifikaci sekvence změn v amplifikované DNA. Je založena na poznatku, že pohyb single stranded DNA v nedenaturovaném polyakrylamidovém gelu je velmi citlivá na primární sekvenci. Jakýkoliv rozdíl v základní sekvenci ssDNA v důsledku mutace nebo polymorfismu bude rozpoznán díky posunu pohybu. Tato metoda byla použita pro detekci jednotlivých bodových mutací v *bla* SHV genu. Tato metoda byla aplikována pro detekci genu SHV-7 a identifikaci různých genů SHV v rámci jednoho genu. (Fujita, Silver, 1994), (Chromá, Kolář, 2010)

4.3.3 PCR - délka restrikčních fragmentů polymorfismu (PCR-RFLP)

Analýza RFLP umožňuje charakterizaci DNA po natrávení restrikčními endonukleázami a následné separace fragmentů DNA v agarózovém gelu.

RFLP je jednoduchá a rychlá metoda pro detekci známých mutací, které jsou rozpoznány restrikčními endonukleázami. (Arlet, Brami, Decre, 1995)

4.3.4 Ligázová řetězová reakce (LCR)

LCR metoda zahrnuje použití dvou párů sond, kdy je každá komplementární k části z denaturované cílové DNA. Každá sonda je navržena tak, aby hybridizovala na přilehlých úsecích DNA. V důsledku nedokonalé hybridizace sondy s cílovou strukturou je ligace inhibována. (Wiedmann, Wilson et al., 1994)

LCR je vhodná pro detekci bodových mutací, jako jsou ty, které vyskytující v genu *bla*. (Chromá, Kolář, 2010)

4.3.5 *Real-time PCR*

U této metody dochází k redukci jedné doby cyklu, eliminace detekce a použití citlivých fluorescenčních detekčních zařízení. Na rozdíl od jednoduché PCR, real-time PCR umožňuje kontinuální sledování akumulace amplikonů v reálném čase pomocí značených primerů, oligonukleotidů nebo amplikonů s molekulami schopných fluorescence.

Real-time PCR s následnou analýzou tání křivky našla praktické uplatnění v detekci SHV rozšířeného spektra β -laktamáz. (McKay, 2004), (Chromá, Kolář, 2010)

4.3.6 *DNA microarray*

Hlavní nevýhodou výše uvedené metody je omezený počet cílů, které mají být detekovány a diferencovány v jednotlivých reakcích. DNA microarrays se zdají být slibnou genotypizační technikou s vysokou multiplexní schopností. Místo rozpoznávání a studie jednoho genu v jedné reakci, umožňují DNA mikročipy v jednom cyklu určit většinu až všechny geny daného organismu.

DNA microarrays bývají používány ve třech hlavních klinických oblastí:

- ♣ pro profil exprese genů – měření hladiny exprese ve tkáních.
- ♣ pro genotypizaci – stanovení onemocnění pomocí příslušných genů nebo původců chorob.
- ♣ pro DNA sekvenci – hledání nových mutací. (Chromá, Kolář, 2010), (Timothy, 2001)

4.3.7 *Přímé sekvenování*

Přímé sekvenování zůstává zlatým standardem pro identifikaci neznámých produktů. (Chromá, Kolář, 2010)

4.3.8 *MALDI - TOF*

MALDI-TOF nabízí možnost detailní identifikace a diferenciací bakterií během několika minut přímo z kolonií vypěstovaných na kultivačních půdách. Tento nový, metodicky jednoduchý přístup snižuje náklady na spotřební materiál a dobu strávenou při diagnostice. Poskytuje hmotnostní spektra pomocí látek, které jsou obsažené

v bakteriální buňce a jsou charakteristické pro analyzovaný rod, druh či kmen. (Wieser, Schneider et al., 2012)

Tabulka 1 Přiřazení píků hmotnostních spekter *Escherichia coli* (Gidden, Denson et al., 2009)

<i>m/z</i>	<i>E. coli</i>
675.5	
685.5	Na + PG (28:2)
686.5	Na + PE (30:0)
700.5	
708.5	
712.5	Na + PE (32:1)
713.5	
714.5	Na + PE (32:0)
717.5	
722.5	
726.5	Na + PE (33:1)
731.5	
734.5	2Na-H + PE (32:1)
736.5	2Na-H + PE (32:0)
739.5	
740.5	Na + PE (34:1)
745.5	
748.5	2Na-H + PE (33:1)
753.5	
754.5	Na + PE (35:1)
755.5	
762.5	2Na-H + PE (34:1)
767.5	
768.5	
776.5	2Na-H + PE (35:1)
823.6	
851.6	
887.7	
901.7	
915.7	

(PE) fosfatidylethanolamin, (PG) fosfatidylglycerol, čísla v závorkách uvádí počet atomů uhlíku a dvojných vazeb (Gidden, Denson et al., 2009)

5 Léčba

Léčba multirezistentní *Escherichia coli* by se měla stát cílenou terapií, která je založena na výsledcích testů citlivosti prováděných in vitro. Je také důležité dodržovat zásady antibiotické léčby multirezistentních infekcí. Mezi tyto zásady patří dodržování správné indikace, rozlišování mezi kolonizací a infekcí, dále včasné zahájení léčby, podávání účinného antibiotika nebo jejich kombinace, správné dávkování, vhodný způsob podání nebo adekvátní délka léčby. Bez dodržování těchto zásad může mnoho léčebných postupů selhávat, což významně prodlužuje dobu trvání infekce, ohrožení pacienta na životě a zvyšuje i náklady na léčbu.

5.1 Karbapenemy

Karbapenemy (meropenem, imipenem, ertapenem) jsou považovány za lék první volby pro vážné, život ohrožující infekce způsobené organismy produkující ESBL. Základem pro toto tvrzení není jen téměř jednotná in vitro citlivost těchto sloučenin, ale také stále rozsáhlé klinické zkušenosti. Meropenem je považován za lék volby u nemocničních meningitid, podobnou účinnost najdeme též u polymyxinu B. (Paterson, Bonomo, 2005)

5.2 Cefalosporiny

Cefalosporiny by neměly být používány k léčbě závažných infekcí ESBL produkujících organismů, i když jsou testy citlivosti v normě. (Falagas, Karageorgopoulos, 2009) Ani cefepim by neměl být používán v první linii terapie proti organismy produkující ESBL. Je-li použit, měl by být používán ve vysokém dávkování. Rezistence na cefipim může být častější pro kmeny, které produkují CTX-M typ ESBL. (Paterson, Bonomo, 2005)

5.3 Cefamyciny

Cefamyciny (např. cefoxitin, cefotetan) jsou strukturně stabilnější k hydrolýze ESBL než jiné cefalosporiny. Mnoho organismů produkující ESBL zůstávají citlivé na cefamyciny. Kromě toho dochází ke zvýšení počtu kmenů produkujících ESBL, včetně AmpC enzymů, které zprostředkovávají odolnost vůči cefamycinům. (Rupp, Fey, 2003)

5.4 Kombinace: β -laktamové antibiotikum s inhibítozem β -laktamázy

β -laktamová antibiotika s inhibitory β -laktamázy nejsou považována za vhodnou léčbu první volby závažných infekcí způsobené organismy produkujícími ESBL. Údaje týkající se jejich používání při léčbě závažných infekcí jsou rozptýleny a selhání léčby byly již hlášeny. Jejich účinnost může být snížena v organismech, které produkují více ESBL. Hyperprodukce mateřských enzymů (např. TEM-1, SHV-1 aj.) nebo kombinace s β -laktamázy může vést ke ztrátě membránových porinů, což má za následek snížení aktivity inhibitorů β -laktamázy. Stupeň inhibiční aktivity inhibitorů β -laktamázy proti hydrolýze β -laktamů se může lišit podle typu inhibitoru, jakož i typu ESBL. V tomto ohledu bylo zjištěno, že tazobaktam je silnější ve srovnání s kyselinou klavulanovou proti CTX-M typu ESBL. Obě výše uvedené látky se zdají být účinnější než sulbaktam v inhibici TEM a SHV typu ESBL. (Paterson, Bonomo, 2005)

5.5 Chinolony

Chinolony mohou být považovány za vhodnou léčbu první volby u komplikovaných infekcí močových cest a v druhé volbě k léčbě bakterémie, nemocniční pneumonie nebo nitrobřišních infekcí způsobené organismy produkujícími ESBL v případě, že je *in vitro* prokázána citlivost na chinolony. Bohužel, rostoucí *in vitro* rezistence ESBL produkujících organismů na chinolony omezuje roli těchto antibiotik v budoucnu. (Paterson, Bonomo, 2005) Obecně platí, že novější chinolony neposkytují další skvělé výhody oproti ciprofloxacinu.

Rezistence na flourochinolony je rezistence zkřížená. To znamená, že zasahuje bez výjimky všechny generace chinolonů. Nástup rezistence je velmi rychlá a může k němu dojít v některých případech i během léčby. K tomuto stavu dochází při dlouhodobém preventivním podávání nízkých dávek u recidivujících a chronických uroinfekcí. (Jindrák, Urbášková et al., 2007)

5.6 Aminoglykosidy

Použití aminoglykosidů závažných infekcí by mělo být pravděpodobně omezeno na kombinaci s β -laktamovými antibiotiky.

5.7 Kolistin

I když je kolistin čím dál více používán proti multirezistentním gramnegativním bakteriálním infekcím. Vzhledem k alarmující odolnosti vůči mnoha dalším, v současné době používaných antibiotik, bylo jeho klinické použití omezeno kvůli nedostatku informací o jeho farmakokinetice, farmakodynamice, a toxikodynamice. (Li, Nation et al., 2006) Kolistin se může ukázat jako důležité antibiotikum pro léčbu *Eschehrichia coli* produkující ESBL. V brzké budoucnosti má kolistin potenciál být alternativní terapií pro infekce způsobené *Eschehrichii coli* produkující ESBL. (Kiratisin, Tiengrim et al., 2006)

5.8 Tigecyklin

Tigecyklin je glycylycyklinové antibiotikum, které ukazuje slibnou aktivitu proti celé řadě organismů. Je aktivní proti mnoha gramnegativním bakteriím včetně rezistentních na více tříd antibiotik (proti multirezistentním grampozitivním a gramnegativním patogenům, včetně MRSA, penicilin-rezistentní pneumokoky, vankomycin-rezistentní enterokoky a Enterobacteriaceae produkující ESBL). (Betriu, Rodríguez-Avial et al., 2006) Tigecyklin je důležité antibiotikum pro léčbu *Escherichia coli* produkující ESBL. Tigecyklin podobně jako kolistin bude mít v brzké budoucnosti potenciál být alternativní terapií pro infekce způsobené *Eschehrichia coli* produkující ESBL. (Kiratisin, Tiengrim et al., 2006)

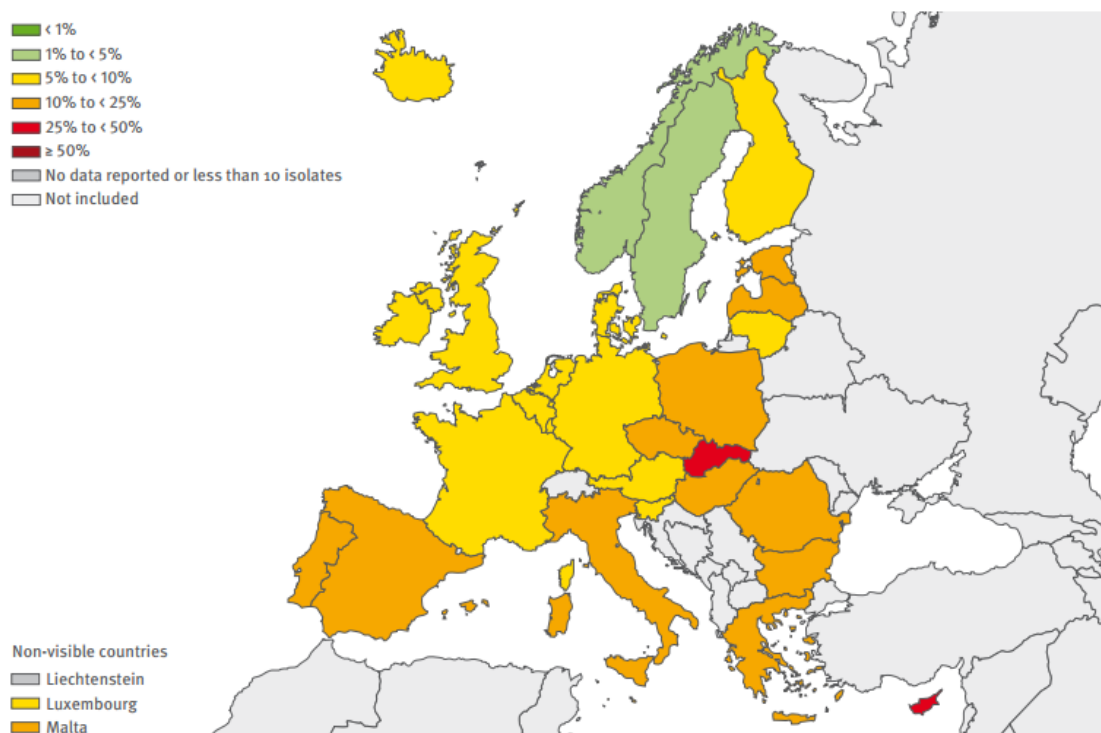
6 Epidemiologie *Escherichia coli* ESBL

6.1 Výskyt v Evropě

První výskyt ESBL pozitivních pacientů byl zaznamenán v Evropě. Ačkoliv první záchyty byly z Německa nebo Anglie, drtivá většina zpráv o pozitivních izolátech v prvních deseti letech po objevu ESBL přicházela z Francie. První velké ohnisko ve Francii bylo ohlášeno v roce 1986. Šíření ESBL bylo poměrně dramatické. Nicméně v uplynulých letech díky protiinfekčním opatřením a investicím do vývoje nových laboratorních technik na detekci ESBL se podařilo snížit výskyt ESBL. Zatímco docházelo ke snižování výskytu ESBL v západní Evropě, ve východní Evropě docházelo k opačnému efektu, k postupnému nárůstu výskytu ESBL. Ohniska nákazy s organismy produkující ESBL byly nyní hlášeny prakticky z každé evropské země. (Paterson, Bonomo, 2005)

Česká republika je řazena k programu Antimikrobiální surveillance v Evropě (EARSS), který sdružuje všech 27 členských států EU a dvě země Evropského hospodářského prostoru Norsko a Island. V této surveillance jsou sledovány rezistence kmenů izolovaných pouze z invazivních nemocničních materiálů (hemokultury, likvory). V žádné ze sledovaných zemí nedochází k tendenci snižování rezistence na třetí generaci cefalosporinů. Čtrnáct ze sedmnácti zemí hlásí mezi 85 % a 100 % ESBL pozitivních izolátů mezi izoláty odolné vůči třetí generaci cefalosporinů. V roce 2011 uvedlo jedenáct zemí jeden nebo více rezistentních izolátů na karbapenemy. Většina rezistentních izolátů (10 izolátů, 40 %) byla zaznamenána u Řecka. Výrazně rostoucí tendence na karbapenemy byly pozorovány v jedenácti zemích na fluorochinolony. Výrazně klesající tendence rezistence na fluorochinolony byly pozorovány v České republice a Švédsku. (EARSS-Net, 2011)

Figure 4.1: *Escherichia coli*: percentage (%) of invasive isolates with resistance to third-generation cephalosporins by country, EU/EEA countries, 2011



Obrázek 13 Stupeň rozšíření izolátů *Escherichia coli* rezistentní k III. generaci cefalosporinů v roce 2011 (EARSS-Net, 2011)

6.2 Situace ve světě

Po prvních zprávách o výskytu ESBL v Evropě byly hlášeny další ve světě. První zprávy o ESBL produkujících organismech ve Spojených státech se objevily v roce 1988. Z národní surveillancé nozokomiálních infekcí z ambulantní péče vyplývá, že 1,8 % z 12.059 izolátů *Klebsiella pneumoniae* a 0,4 % ze 71.448 izolátů *Escherichia coli* byly izoláty rezistentní.

V Africe a na středním východě bylo také hlášeno několik ohnisek infekce s ESBL, ale žádná národní surveillancé nebyla publikována.

V Austrálii byly první ESBL zjištěny v roce 1986 a 1988 v Perthu. Za posledních deset let byly organismy produkující ESBL zjištěny ve všech státech Austrálie a Severního teritoria. Ohniska nákazy se vyskytly jak u dospělých, tak i u dětských pacientů.

V Asii byly první organismy produkující ESBL hlášeny v roce 1988 z Číny. Ze zpráv zahrnujících omezené množství shromážděných izolátů v roce 1998 a 1999

bylo 30,7 % izolátů *Klebsiella pneumoniae*, 24,5 % izolátů *Escherichia coli* byly organismy produkující ESBL. Národní průzkumy ukázaly přítomnost ESBL v 5 - 8 % z *Escherichia coli* izolátů z Koreje, Japonska, Malajsie a Singapuru, ale 12 – 24 % v Thajsku, na Tchaj-wanu, ve Filipíny a Indonésii.

V posledních letech došlo také několik zpráv o komunitních infekcích nebo kolonizacích ESBL produkující *Escherichia coli*. (Paterson, Bonomo, 2005)

6.3 Nozokomiální infekce

Infekce a kolonizace organismy produkující ESBL jsou obvykle získané v nemocničním zařízení, zejména na jednotkách intenzivní péče. Ostatní nemocniční jednotky, které jsou vystaveny zvýšenému riziku, zahrnují chirurgická oddělení, pediatrii a neonatologii, rehabilitační jednotky a onkologická oddělení. Komunitní kliniky a pečovatelské domy byly také identifikovány jako potenciální rezervoáry. Rizikové faktory pro infekce nebo kolonizace s organismy produkujícími ESBL zahrnují: délku hospitalizace nebo pobyt na jednotce intenzivní péče, přítomnost cévních nebo močových katétrů, hemodialýzu nebo nízkou porodní hmotnost.

Mezi domy s pečovatelskou službou a organismy produkující ESBL existuje vztah. Je prokázáno, že domy s pečovatelskou službou mohou sloužit jako brána vstupu pro ESBL produkující organismy do intenzivní péče v nemocnici. Naopak, pacienti s kolonizací nebo infekcí získanou v nemocnici se mohou vrátit do jejich domova s pečovatelskou službou a přenést organismy produkující ESBL. V domech s pečovatelskou službou dochází k nadužívání antibiotik a jsou považovány za rizikový faktor pro kolonizace organismy produkující ESBL. Používání antibiotik je v pečovatelských domech častý jev. Mezi další faktory patří náchylnost s expozicí na mikrobiální flóře jiných obyvatel, zejména budou-li inkontinentní a vyžadují-li častý kontakt se zdravotníky, kteří jim poskytují péči. Bylo dobře zdokumentováno, že mytí rukou je mezi pracovníky pečovatelského domu na nižší úrovni. Dále jsou časté močové katetrizace a dekubity, které byly spojeny s kolonizací organismy neprodukujícími ESBL. (Paterson, Bonomo, 2005)

6.4 Komunitní infekce

V posledních letech došlo k několika zprávám o komunitně získaných infekcích nebo kolonizacích *Escherichia coli* produkující ESBL. Tyto zprávy pocházejí

ze Španělska, Izraele, Velké Británie, Kanady a Tanzanie. U pacientů s infekcí močových cest se rozvinula *Escherichia coli* produkující CTX-M. Některé infekce močových cest byly spojeny s bakteremií. Většina izolátů byla odolná proti běžně používaným antibiotikům podávaným na infekce močových cest jako trimethoprim-sulfamethoxazol, ciprofloxacin, gentamycin a ceftriaxon. Rodriguez-Bano v Seville ve Španělsku prováděl kontrolní studie, které u hospitalizovaných a nehospitalizovaných pacientů zkoumaly rizikové faktory infekce způsobené *Escherichia coli* produkující ESBL. Bylo zjištěno, že byly nezávislé rizikové faktory u diabetes mellitus, použitím chinolonů u opakujících se infekcí močových cest, hospitalizace a starší věk. Pitout v Calgary v Kanadě ukázal, že 22 případů infekcí způsobených *Escherichia coli* produkující ESBL u 100 000 obyvatel/rok bylo u starších pacientů nad 65 let. (Paterson, Bonomo, 2005)

7 Prevence vzniku

Mezi faktory, které podporují vznik rezistence, patří užívání širokospektrých antibiotik, dlouhodobá hospitalizace, častý transport na operační sál nebo diagnostická vyšetření. Protože existují závažné problémy v terapii onemocnění vyvolané multirezistentními kmeny, je nutné těmto infekcím předcházet. Mezi možnosti prevence můžeme zařadit postup v racionálním užití ATB nebo v prevenci přenosu infekčních patogenů.

7.1 Racionální užití ATB

Vyšší spotřeba antibiotik má negativní dopad na zvyšování rezistentních bakteriálních kmenů. Příkladem takového klinického dopadu je především možnost selhání antibiotické léčby. Jednou z možností, jak se tomuto selhání ubránit, je dodržování zásad antibiotické politiky. Obsahem antibiotické politiky je souhrn opatření pro účinné a bezpečné užívání antimikrobiálních přípravků, jehož cílem je zajistit vysokou odbornou úroveň antimikrobiální léčby, omezit vznik a šíření rezistentních mikroorganismů a zachovat tak co nejdelší účinnost antibiotik. (Kolář, Urbánek a kol., 2003)

Pokud nemůžeme použít cílenou antibiotickou léčbu na základě identifikace patogenní bakterie, musíme použít empirickou antibiotickou léčbu. Ta vychází z několika následujících podkladů:

1. znalost přirozeného mikrobiálního osídlení místa infekce,
2. znalost mikrobů, které způsobují onemocnění daného orgánu,
3. informace o regionální epidemiologické situaci a rezistenci nejčastějších bakteriálních patogenů,
4. znalosti o mikrobiologických a farmakologických vlastnostech antibiotik,
5. informace o pacientovi:
 - věk,
 - stav imunitního systému,
 - alergie,
 - délka hospitalizace,

- předchozí antibiotická léčba,
- výsledky vyšetření.

Při rozhodování o tom, které antibiotikum je pro pacienta nejvhodnější, je nutné komplexně zvážit jeho zdravotní stav. Těžké infekce a pacienty s oslabenou imunitou je vhodnější léčit baktericidními antibiotiky, která infekční agens usmrtí. Lehce a středně těžké infekce se léčí pomocí bakteriostatickými antibiotiky, které zastavují růst a množení bakterií. (Kolář, Urbánek a kol., 2006)

Další možností je cílená terapie antibiotiky při znalosti původce, infekce a jeho citlivosti in vitro. Důsledné dodržování délky terapie a pravidelné vyhodnocování infekce antibiotiky. Mezi základní možnosti také patří podání dostatečných dávek antibiotik a přísné dodržování intervalů podání. Bylo prokázáno, že nízké dávky antibiotik vytvářející subinkubační hladiny v místě infekce vedou častěji ke vzniku rezistentních subpopulací bakterií.

7.2 Prevence přenosu infekčních patogenů

Zdravotnické prostředí je důležitý rezervoár gramnegativních bakterií během propuknutí infekce, stejně jako jejich prokázaná schopnost přežít na umělém povrchu. Tradiční místa výskytu gramnegativních bakterií v nemocnicích jsou ty, které jsou přerušovaně vystaveny vodě. To zahrnuje umyvadla, dřezy, sprchy, koupelny a toalety. Bakteriální biofilm se hromadí v instalátorském potrubí, včetně kohoutků a vodních filtrů. Tyto komponenty hostí a chrání celou řadu vodu milujících organismů, představují hrozbu pro okolní oslabené pacienty. (Khan, Dance et al., 2012)

7.2.1 Bariérový režim

Bariérový režim minimalizuje riziko vzniku a šíření nemocničních nákaz. (Opatření k prevenci a přenosu infekčních agens ve FNHK, 2012) Prvním krokem a prioritou je pečlivé dodržování standardních a kontaktních opatření za jakýchkoliv podmínek. Mezi tyto opatření při kontaktu s pacientem patří ochranné osobní pracovní pomůcky, oblečení, rukavice, rouška. (Khan, Dance et al., 2012)

Mikrobiologické screeningové vyšetření

Pacienti JIP oddělení jsou pravidelně monitorováni. Aktivní monitoring se provádí u pacientů, kteří přišli do kontaktu s pozitivními pacienty.

Doporučené provedení mikrobiologického screeningu MR kmenů při příjmu do nemocnice je do 48 hodin.

- Gramnegativní MR screening (výtěr z rektu, stěr z ran):
 - provádí se u hospitalizovaných, kteří navštívili rizikové zahraniční oblasti.
 - pacienti přeloženi z jednotek intenzivních péčí jiných nemocnic, specializovaných center, dlouhodobě hospitalizovaní.
- Pacient s průjmem (při překladu z jiného zdravotního zařízení, LDN, ústavu sociální péče): vyšetření stolice na antigen a toxin *Clostridium difficile*. (Opatření k prevenci a přenosu infekčních agens ve FNHK, 2012)

7.2.2 Izolační režim

Izolačním režimem rozumíme obecný postup chování k pacientům, kteří se mohou stát zdrojem nákazy pro ostatní pacienty. Mezi takové opatření patří:

- izolace pacienta od ostatních pacientů,
- hygiena rukou – dezinfekční přípravky s účinností na původce,
- označit viditelně pokoj, postel a kartu (ESBL),
- veškerá zdravotnická dokumentace zůstává trvale mimo izolační pokoj,
- manipulace s prádlem – zajistit v místě vzniku,
- manipulace s odpadem – shromažďovat v místě vzniku,
- izolace končí po třetím negativním bakteriologickém vyšetření.

Do doby negativity vyšetření je zaveden izolační režim.

Praktická část

8 Materiál a metodika

8.1 Výběr dat

Výsledky diplomové práce vycházejí z retrospektivní analýzy dat z elektronické databáze laboratorního informačního systému Ústavu klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice Hradec Králové. Ve studii jsou zahrnuta data všech pacientů hospitalizovaných nebo přicházejících k ambulantnímu ošetření ve FN HK, u kterých byla izolována multirezistentní *Escherichia coli* z klinického materiálu za časové období od 1. 1. 2008 do 31. 12. 2012.

Databáze byla zpracována v programu Microsoft Excel. Z databáze byly odstraněny duplicity. Z rodných čísel pacienta byla vypočítána data narození, věk a pohlaví. Z data nálezů byl vypočítán měsíc a rok nálezů. Jednotlivé kliniky byly rozděleny na chirurgické/nechirurgické a intenzivní/standardní oddělení. Vyšetření byla rozdělena podle klinického materiálu. Data byla následně zpracována pomocí kontingenčních tabulek a grafů. Na ověření teorie, že u jednoho pozitivního výskytu je možné bakterii opětovně prokázat, byly použity údaje pacientů poprvé pozitivních v roce 2008.

8.2 Kultivace *Escherichia coli*

Klinické materiály byly zpracovány dle standardních operačních postupů Ústavu klinické mikrobiologie FN Hradec Králové. Po přijetí vzorku v laboratoři a zhotovení mikroskopického preparátu barveného dle Grama byly materiály naočkovány na sérii agarů dle lokalizace infekce (krevní agar, McConkyho agar, čokoládový agar, agar pro anaerobní kultivace, Sabouraudův agar a játrový bujón). Agary byly kultivovány v běžné atmosféře v termostatu při $36 \pm 2^\circ\text{C}$, anaerobní kultivace probíhá v termostatu Bug Box s anaerobní atmosférou. Dále byly agary odečítány po 24 – 48 hodinách, anaerobní agary po 2 – 5 dnech. *Escherichia coli* byla identifikována charakteristickým růstem na pevných bakteriologických půdách pestrou biochemickou řadou (Hajnova půda, produkce indolu, negativní Simmonsův citrát, negativní produkce ureázy – vše od firmy Trios). Kmeny ze závažných klinických materiálů a kmeny s nejistou identifikací v krátké biochemické řadě dourčeny systémem Vitek 2 (Bio-Mérieux). Citlivost na ATB byla určena diskovou difúzní metodou, ATB (disky Oxoid), Mueller-

Hintonův agar (Trios), diluční mikrometodou vmikrotitračních destičkách (Trios). Ke stanovení rezistence byla použita kultura Eucast. Produkce širokospektrých β -laktamáz určena modifikovaným DDST.

8.3 Materiály

V tabulce č. 2 je uvedeno rozdělení materiálů dle jednotlivých klinických systémů. Přehled klinik Fakultní nemocnice Hradec Králové je uveden v tabulce č. 3, rozdělení na chirurgické nebo nechirurgické obory je znázorněno v tabulce č. 4. Přehled jednotek intenzivní péče je uveden v tabulce č. 5.

Multirezistentní *Escherichia coli* je definována jako kmen produkující širokospektrou β -laktamázu ESBL nebo AmpC.

První záchyt je definován jako časově první kultivace multirezistentní *Escherichia coli* z jakéhokoliv materiálu daného pacienta. Opakovaný záchyt je definován jako každá další kultivace z téhož nebo z jiného materiálu z daného pacienta.

Roční období jsou rozdělena a definována podle měsíců: jaro (březen, duben, květen), léto (červen, červenec, srpen), podzim (září, říjen, listopad) a zima (prosinec, leden, únor). Věkové rozmezí je rozděleno a definováno podle ontogenetického vývoje člověka: novorozenec, kojeneček, batole, předškolní věk, školní věk (0 – 15 let), adolescence, raná dospělost (16 – 25 let), produktivní věk (26 – 39 let), pracující (40 – 55 let), období raného staří (56 – 75 let) a období pravého staří (76 < let).

Tabulka 2 Rozdělení materiálů dle klinických systémů

materiál	
hemokultivace	aerobní hemokultivace anaerobní hemokultivace dětská hemokultivace kultivace cévního katetru – cizí materiál
moč	moč z permanentní cévky cévkovaná moč moč kultivace močového katetru – cizí materiál

horní cesty dýchací	<p>kultivace z laryngu</p> <p>kultivace výtěru z nasopharyngu</p> <p>kultivace výtěru z nosu</p> <p>kultivace výtěru z krku</p> <p>kultivace stěru z dutiny ústní</p>
dolní cesty dýchací	<p>kultivace sputa</p> <p>kultivace tracheálního aspirátu</p> <p>kultivace tracheálního výtěru</p> <p>kultivace aspirátu z bronchu</p> <p>kultivace bronchoalveolární laváže</p> <p>kultivace savky</p>
hnis, rána	<p>kultivace punktátu, tekutiny</p> <p>kultivace z abscesu</p> <p>kultivace z píštěle</p> <p>kultivace z rány</p> <p>kultivace drenu – cizí materiál</p> <p>kultivace stěru z dekubitu</p> <p>kultivace tkáně</p> <p>kultivace kloubního punktátu</p> <p>kultivace pleurálního výpotku, ascités</p> <p>kultivace hnisu</p> <p>kultivace stěru</p> <p>kultivace výtěru ze zvukovodu, oka</p>
rektum	<p>kultivace výtěru z rekta – screening pro JIP</p> <p>kultivace výtěru z rekta</p> <p>aerobní kultivace výtěru z rekta</p> <p>anaerobní kultivace výtěru z rekta</p>
vagína	<p>kultivace výtěru z vagíny (+ GO)</p> <p>kultivace stěru z vagíny</p>
kůže	<p>kultivace stěru kůže</p> <p>kultivace stěru z pupku</p>

Tabulka 3 Přehled jednotlivých klinik ve FNHK

Kliniky ve Fakultní nemocnici Hradec Králové	
I. interní klinika	Kardiochirurgická klinika
II. interní klinika	Chirurgická klinika
Klinika infekčních onemocnění	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 anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny	Oční klinika
IV. interní klinika – oddělení klinické hematologie	Porodnická a gynekologická klinika
Klinika onkologie a radiologie	Klinika nemocí kožních a pohlavních
Klinika gerontologická a metabolická	Rehabilitační klinika

Tabulka 4 Rozdělení klinik ve FNHK na chirurgické a nechirurgické obory

Obory ve Fakultní nemocnici Hradec Králové	
chirurgické obory	kardiochirurgická klinika chirurgická klinika oddělení dětské chirurgie a traumatologie neurochirurgická klinika ortopedická klinika urologická klinika klinika ušní, nosní a krční oční klinika porodnická a gynekologická klinika
nechirurgické obory	I. interní klinika II. interní klinika klinika infekčních nemocí plicní klinika neurologická klinika psychiatrická klinika dětská klinika klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny klinika nemocí kožních a pohlavních

	klinika onkologie a radioterapie klinika gerontologická a metabolická IV. Interní klinika - oddělení klinické hematologie rehabilitační klinika
--	--

Tabulka 5 Přehled oddělení intenzivní péče ve FNHK

Intenzivní péče ve Fakultní nemocnici Hradec Králové	
Akutní kardiologie	Koronární a arytmiologická jednotka
JIP infekční	JIP plicní
JIP neurologie	JIP větší děti
JIP novorozenci	K. anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny
JIP geriatric	JIP interní A
JIP interní B	JIP kardiochirurgická
JIP kardiochirurgická 2	JIP 1 chirurgická
JIP 2 chirurgická	JIP neurochirurgická
JIP transplantační	Oddělení hematologie
JIP II. Interní hematologická	

Tabulka 6 Počet hospitalizovaných pacientů v jednotlivých letech (Výroční zpráva, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012)

	2008	2009	2010	2011	2012
počet hospitalizovaných pacientů	42 691	41 234	42 574	40 515	41 382

Tabulka 7 Počet hospitalizovaných pacientů na jednotlivých klinikách (Výroční zpráva, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012)

	2008	2009	2010	2011	2012
anesteziologie, resuscitace a interní medicíny	505	692	724	737	748
dětská	3 911	3 946	3 995	3 597	3 581
dětské chirurgie a traumatologie	1 362	1 391	1 432	1 464	1 252
gerontologická a metabolická	2 402	2 439	2 418	2 476	2 479
chirurgická	4 306	3 839	3 987	3 764	4 226
I. Interní	3 253	3 138	3 180	3 126	3 358
II. Interní	3 840	3 482	3 392	3 575	1 678
IV. Interní - oddělení klinické hematologie	N	N	1 706	1 767	1 887

infekčních nemocí	1 642	1 469	1 428	1 391	1 419
kardiochirurgická	1 447	1 435	1 536	1 492	1 619
neurochirurgická	2 372	2 312	2 287	2 243	2 210
neurologická	1 733	1 872	2 017	1 869	2 045
onkologie a radioterapie	1 779	1 739	1 969	1 779	1 716
ortopedická	2 511	2 570	2 466	2 243	2 273
plicní	1 308	1 225	1 175	1 202	1 349
porodnická a gynekologická	4 578	4 577	4 324	4 176	4 388
psychiatrická	779	813	778	779	1 038
rehabilitační	838	755	777	797	783
urologická	1 451	1 759	1 940	2 087	2 200
ušní, nosní a krční	2 364	2 209	2 269	2 374	2 342

N = údaj nebyl k dispozici

Tabulka 8 Počet operovaných a neoperovaných pacientů ve FNHK v jednotlivých letech (Výroční zpráva, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012)

počet	2008	2009	2010	2011	2012
operovaných pacientů	26 407	24 839	25 489	24 939	
neoperovaných pacientů	15 942	16 395	16 085	15 576	

Tabulka 9 Počet pacientů hospitalizovaných na intenzivním nebo standardním oddělení ve FNHK v jednotlivých letech (dle údajů FNHK)

oddělení	2010	2011	2012
intenzivní péče	8 777	8 953	9 156
standardní péče	32 535	31 547	32 216

Tabulka 10 Počet hospitalizovaných mužů a žen ve FNHK v jednotlivých letech (dle údajů FNHK)

pohlaví	2010	2011	2012
muž	20 463	20 180	20 406
žena	20 849	20 320	20 966

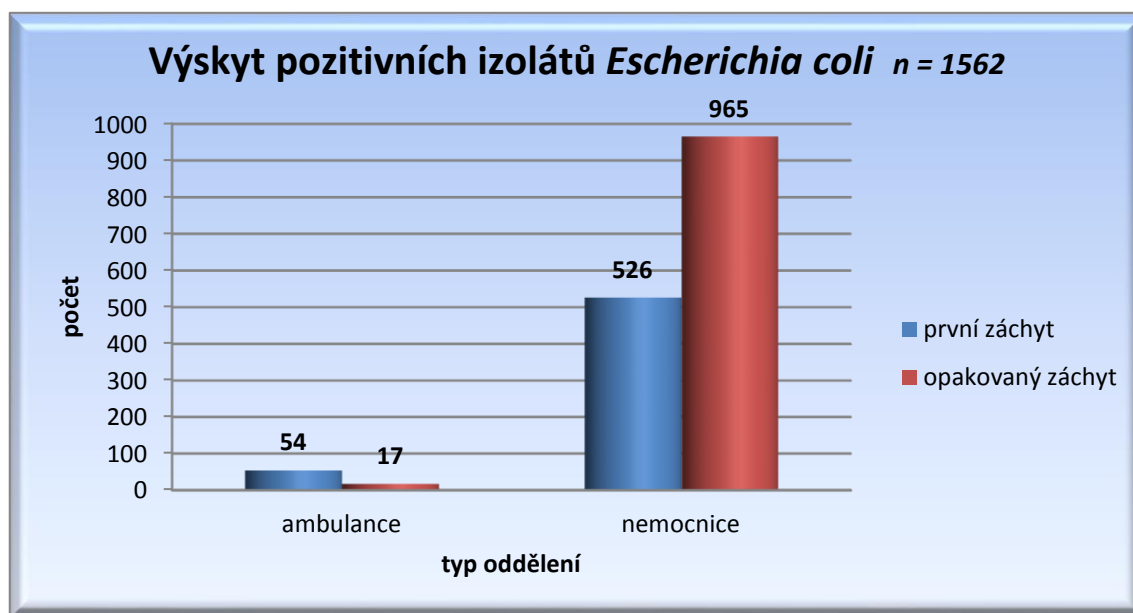
9 Výsledky

9.1.1 Výsledky pozitivních izolátů

V tabulce č. 11 nalezneme výsledky výskytu multirezistentních kmenů *Escherichia coli* ve FNHK za časové období 2008 – 2012 (1562 pozitivních izolátů). V tabulce jsou rozdělena jednotlivá data na první (580 pozitivních izolátů) či opakovaný záchyt (982 pozitivních izolátů) nebo ambulantní (71 pozitivních izolátů) či hospitalizované pacienty (1491 pozitivních izolátů). Tento záchyt je zaznamenán v grafu č. 1. Největší nárůst celkového výskytu je zaznamenán v roce 2011 (327 nových pozitivních izolátů). Největší nárůst prvního záchytu je zaznamenán v roce 2011 (203 nových pozitivních izolátů).

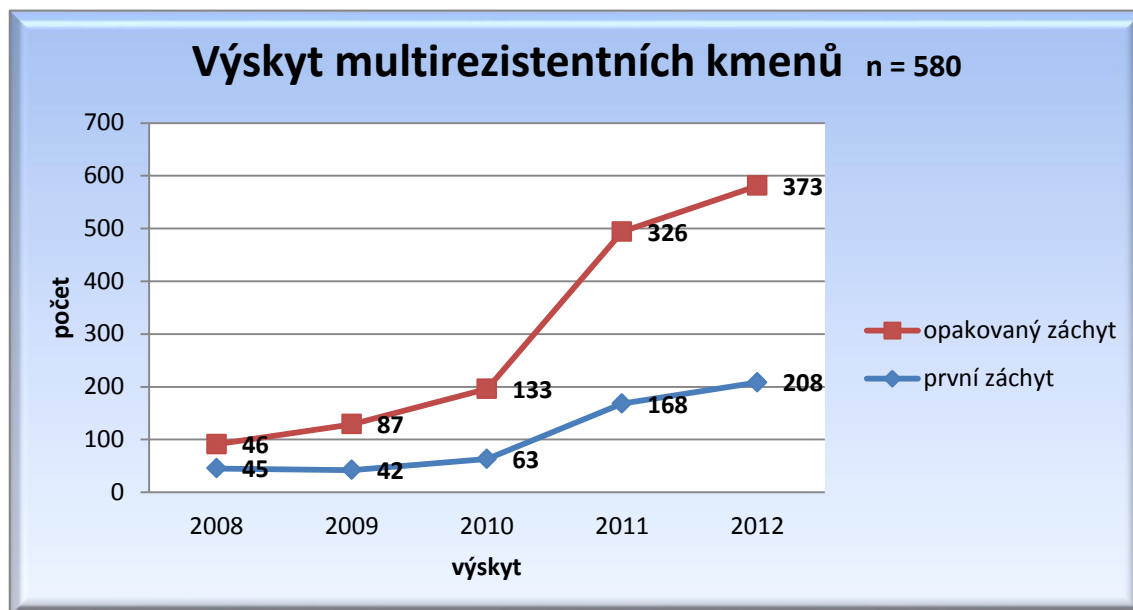
Tabulka 11 Výskyt pozitivních izolátů v letech 2008 - 2012

záchyt	2008	2009	2010	2011	2012	celkový součet
první záchyt	49	47	65	189	230	580
ambulance	4	5	2	21	22	54
nemocnice	45	42	63	168	208	526
opakovaný záchyt	47	87	134	337	377	982
ambulance	1		1	11	4	17
nemocnice	46	87	133	326	373	965
celkový součet	96	134	199	526	607	1562



Graf 1 Zastoupení pozitivních izolátů ve FNHK v letech 2008 – 2012

V grafu č. 2 je zaznamenán výskyt pozitivních izolátů v letech 2008 – 2012, s dalším rokem roste výskyt prvních a opakovaných pozitivních záchytů.



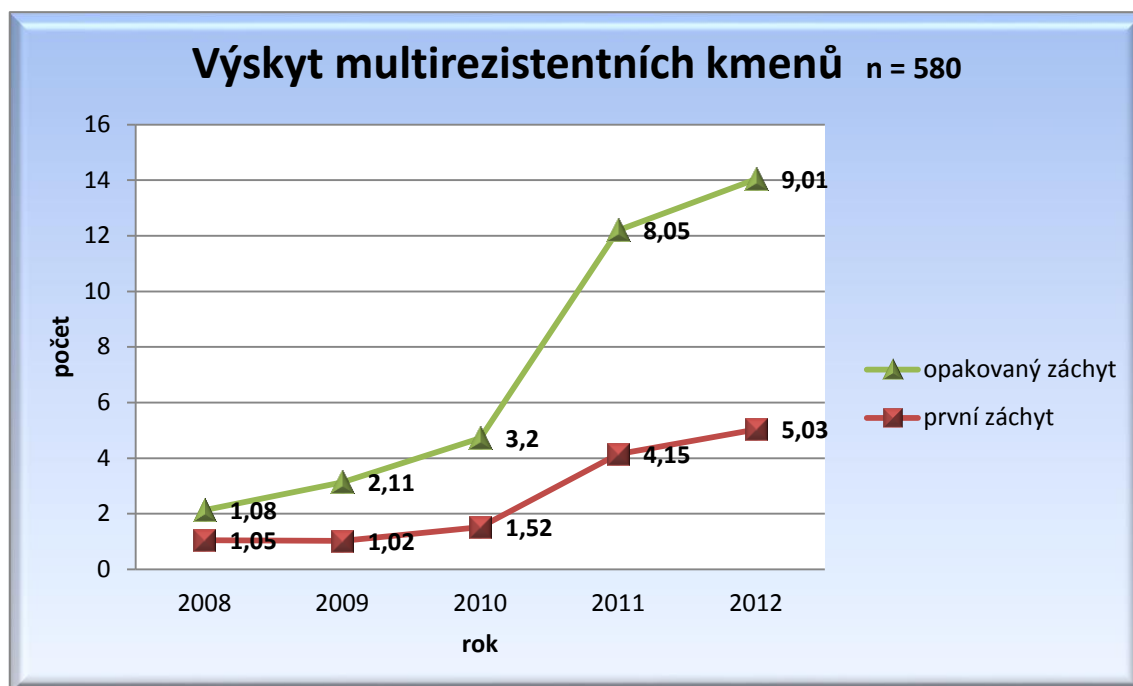
Graf 2 Přehled výskytu pozitivních izolátů *Escherichia coli* ve FNHK v letech 2008 – 2012

V tabulce č. 12 a v grafu č. 3 je uveden přepočtený první a opakovaný záchyt na 1000 hospitalizovaných pacientů za jednotlivá časová období. Počty hospitalizovaných pacientů jsou uvedeny v tabulce č. 6.

S dalším časovým obdobím roste riziko získání infekce multirezistentními kmeny *Escherichia coli*.

Tabulka 12 Přepočtený výskyt pozitivních izolátů na 1000 hospitalizovaných pacientů v letech 2008 - 2012

záchyt	2008	2009	2010	2011	2012
první záchyt	1,05	1,02	1,52	4,15	5,03
opakovaný záchyt	1,08	2,11	3,20	8,05	9,01
celkový součet	2,13	3,13	4,72	12,20	14,04



Graf 3 Přehled výskytu pozitivních izolátů *Escherichia coli* ve FNHK v letech 2008 – 2012

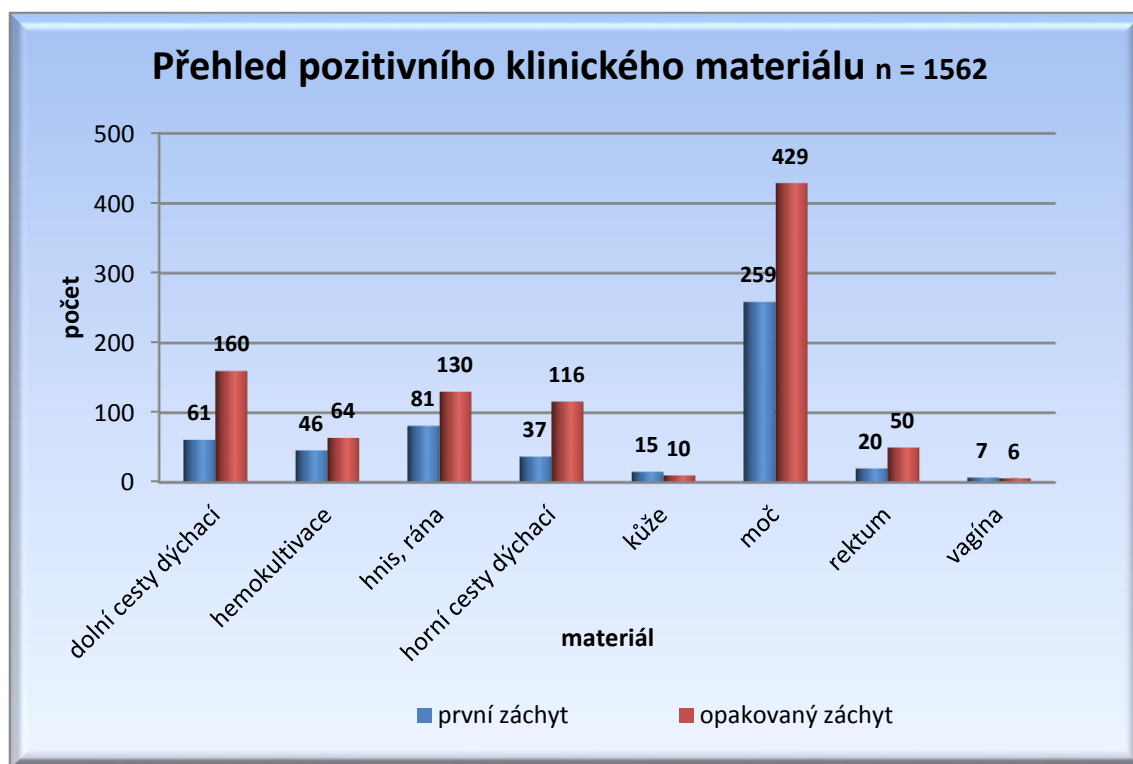
9.1.2 Výskyt pozitivních izolátů v klinickém materiálu

V časovém období 2008 - 2012 byl celkový počet pozitivních izolátů 1562. V tabulce č. 13 je znázorněn klinický materiál v jednotlivých letech podle prvního a opakovaného pozitivního záchytu. Srovnání výskytu prvního a opakovaného pozitivního záchytu v letech 2008 - 2012 udává graf č. 4. Nejčastějším pozitivním materiálem jsou vzorky z moče (743 pozitivních izolátů) a dolních cest dýchacích (224 pozitivních izolátů). Podrobnější přehled je znázorněn v grafech č. 5 a 6.

Tabulka 13 Celkový přehled pozitivního materiálu v letech 2008 - 2012

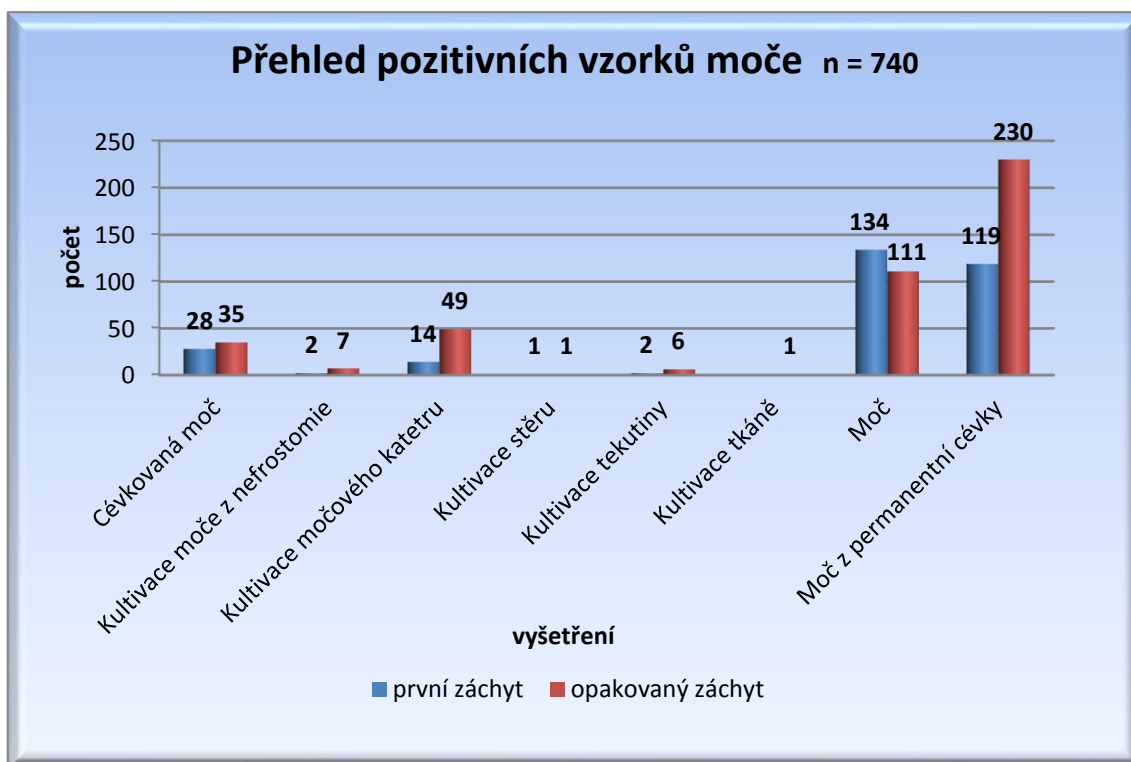
klinický materiál	první záchyt		opakovaný záchyt		celkový součet	
	relativní	absolutní	relativní	absolutní	relativní	absolutní
dolní cesty dýchací	61	10,5 %	163	16,6 %	224	14,3 %
hemokultivace	46	7,9 %	65	6,6 %	111	7,1 %
hnis, rána	84	14,5 %	130	13,2 %	214	13,7 %
horní cesty dýchací	37	6,4 %	116	11,8 %	153	9,8 %
kůže	17	2,9 %	10	1,0 %	27	1,7 %
moč	303	52,2 %	440	44,8 %	743	47,6 %
rektum	20	3,4 %	50	5,1 %	70	4,5 %
vagína	12	2,1 %	8	0,8 %	20	1,3 %
celkový součet	580	100 %	982	100 %	1562	100 %

Nejčastější materiály prvního záchytu jsou moč (259 pozitivních izolátů), hnis a rána (81 pozitivních izolátů). Nejčastější materiály opakovaného záchytu jsou moč (429 pozitivních izolátů) a dolní cesty dýchací (160 pozitivních izolátů).



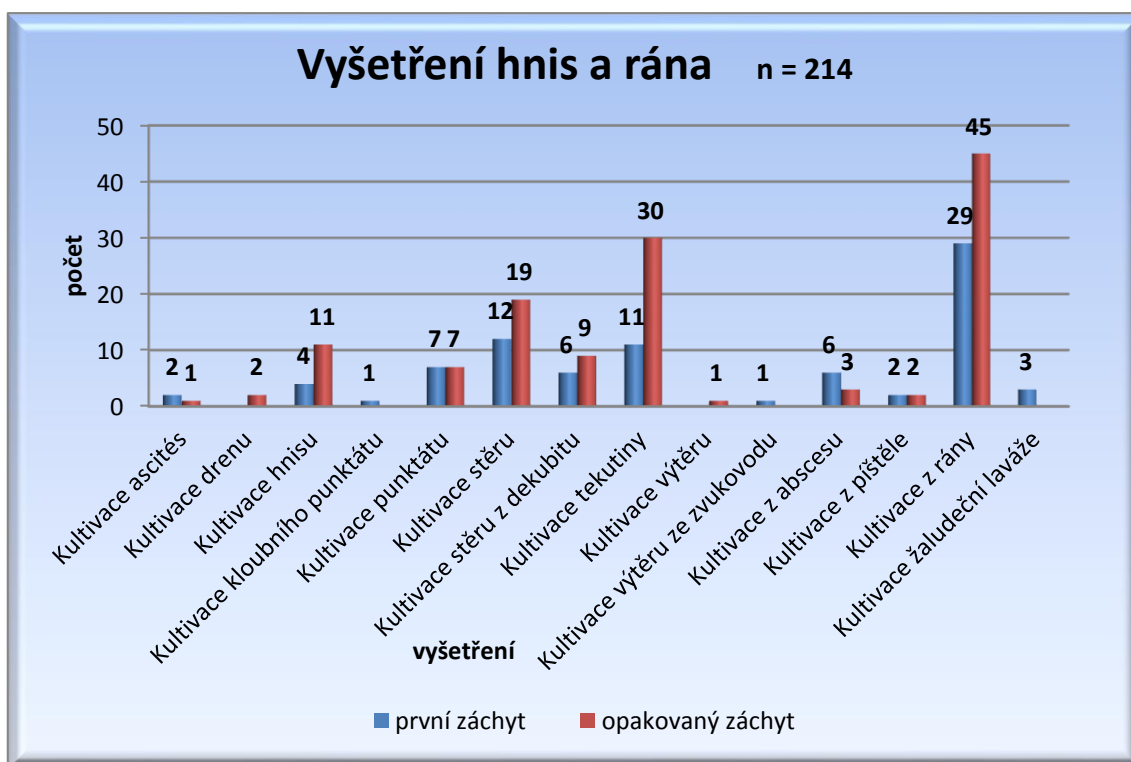
Graf 4 Přehled pozitivního klinického materiálu podle záchytu v letech 2008 – 2012

V močových cestách převažuje vyšetření z permanentní cévky (119 prvních pozitivních izolátů, 230 opakovaných pozitivních izolátů) a moče (134 prvních pozitivních izolátů, 111 opakovaných pozitivních izolátů) znázorněné v grafu č. 5.



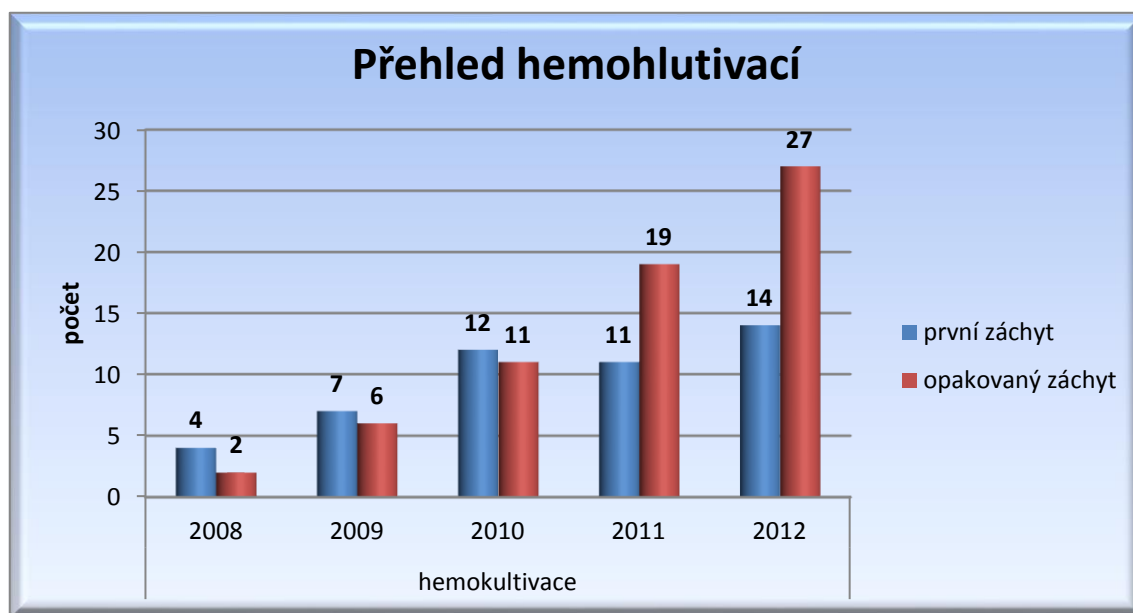
Graf 5 Přehled pozitivních vzorků moče podle záchytu za časové období 2008 - 2012

V materiálu hnis a rána převažuje kultivace z rány (29 prvních pozitivních izolátů, 45 opakovaných pozitivních izolátů) a kultivace stěru (12 prvních pozitivních izolátů, 19 opakovaných pozitivních izolátů) znázorněné v grafu č. 6.



Graf 6 Přehled pozitivních vzorků rány a hnisu podle záchytu v letech 2008 – 2012

V grafu č. 7 je zobrazen přehled výskytu pozitivních izoátů v hemokulturách za jednotlivá časová období. Z grafu č. 7 vyplývá vzrůstající tendence prvních i opakujících výskytů.



Graf 7 Přehled pozitivních vzorků hemokultur v letech 2008 – 2012

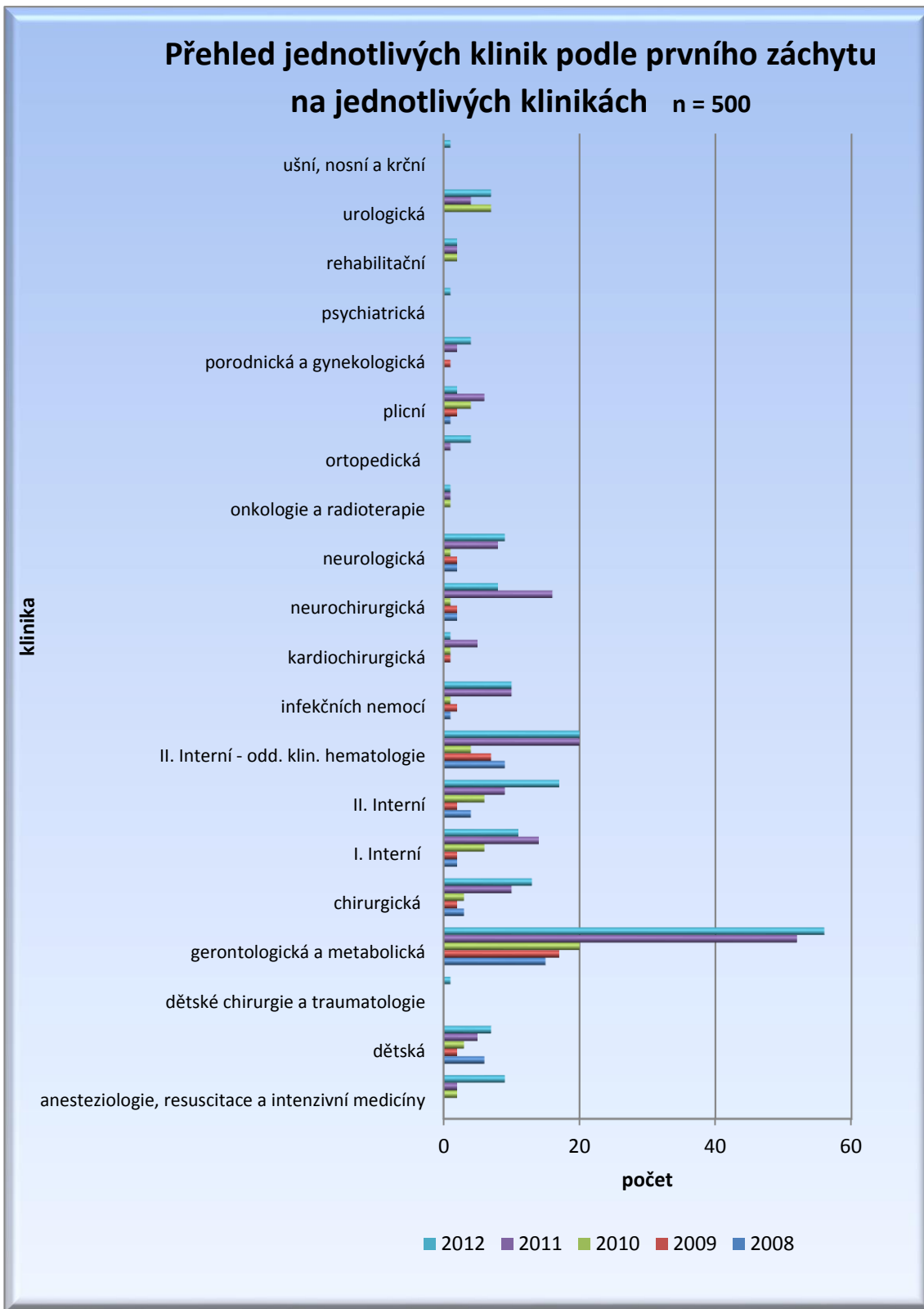
9.1.3 Výskyt pozitivních izolátů v jednotlivých klinikách

Výskyt pozitivních izolátů v jednotlivých klinikách je uveden v tabulce č. 14 a grafu č. 8. Nejvyšší počet prvních pozitivních záchytů byl zaznamenán na Klinice gerontologické a metabolické (160 pozitivních izolátů). Nejvyšší nárůst prvního pozitivního záchytu byl v roce 2011 zachycen na Klinice gerontologické a metabolické (nových 32 pozitivních záchytů) a na IV. Interní klinice – oddělení klinické hematologie (nových 16 pozitivních záchytů). Pokles byl zaznamenán v roce 2012 na Neurochirurgické klinice (pokles o 8 pozitivních záchytů) a na Plicní klinice (pokles o 4 pozitivní záchyty). Poprvé se výskyt prvních pozitivních izolátů po jednom izolátu vyskytl v roce 2012 na Klinice dětské chirurgie a traumatologie, psychiatrické a ušní, nosní a krční.

V tabulce jsou uvedeny pouze první záchyty a materiály z nemocnic (pouze hospitalizovaní pacienti) z důvodu srovnání (jednotlivých klinik) a přepočtu na 1000 hospitalizovaných pacientů.

Tabulka 14 Srovnání jednotlivých klinik FN HK v letech 2008 - 2012 podle četnosti prvního pozitivního záchytu

klinika	2008	2009	2010	2011	2012	celkový součet
anesteziologie, resuscitace a interní med.			2	2	9	13
dětská	6	2	3	5	7	23
dětské chirurgie a traumatologie					1	1
gerontologická a metabolická	15	17	20	52	56	160
chirurgická	3	2	3	10	13	31
I. Interní	2	2	6	14	11	35
II. Interní	4	2	6	9	17	38
II. Interní - oddělení klinické hematologie infekčních nemocí	9	7	4	20	20	60
infekčních nemocí	1	2	1	10	10	24
kardiochirurgická		1	1	5	1	8
neurochirurgická	2	2	1	16	8	29
neurologická	2	2	1	8	9	22
onkologie a radioterapie			1	1	1	3
ortopedická				1	4	5
plicní	1	2	4	6	2	15
porodnická a gynekologická		1		2	4	7
psychiatrická					1	1
rehabilitační			2	2	2	6
urologická			7	4	7	18
ušní, nosní a krční					1	1
celkový součet	45	42	62	167	184	500



Graf 8 Srovnání klinik FNHK v letech 2008 - 2012 podle četnosti prvního pozitivního záchytu

V tabulce č. 15 je uveden přepočtený první pozitivní záchyt na 1000 hospitalizovaných pacientů za jednotlivá časová období. Počty hospitalizovaných pacientů jsou uvedeny v tabulce č. 7.

Mezi kliniky s nejvíce zaznamenaným výskytem pozitivních izolátů patří Klinika gerontologická a metabolická.

Tabulka 15 Přepočtený počet pozitivních izolátů na jednotlivých klinikách přepočítaných na 1000 hospitalizovaných pacientů v letech 2008 - 2012

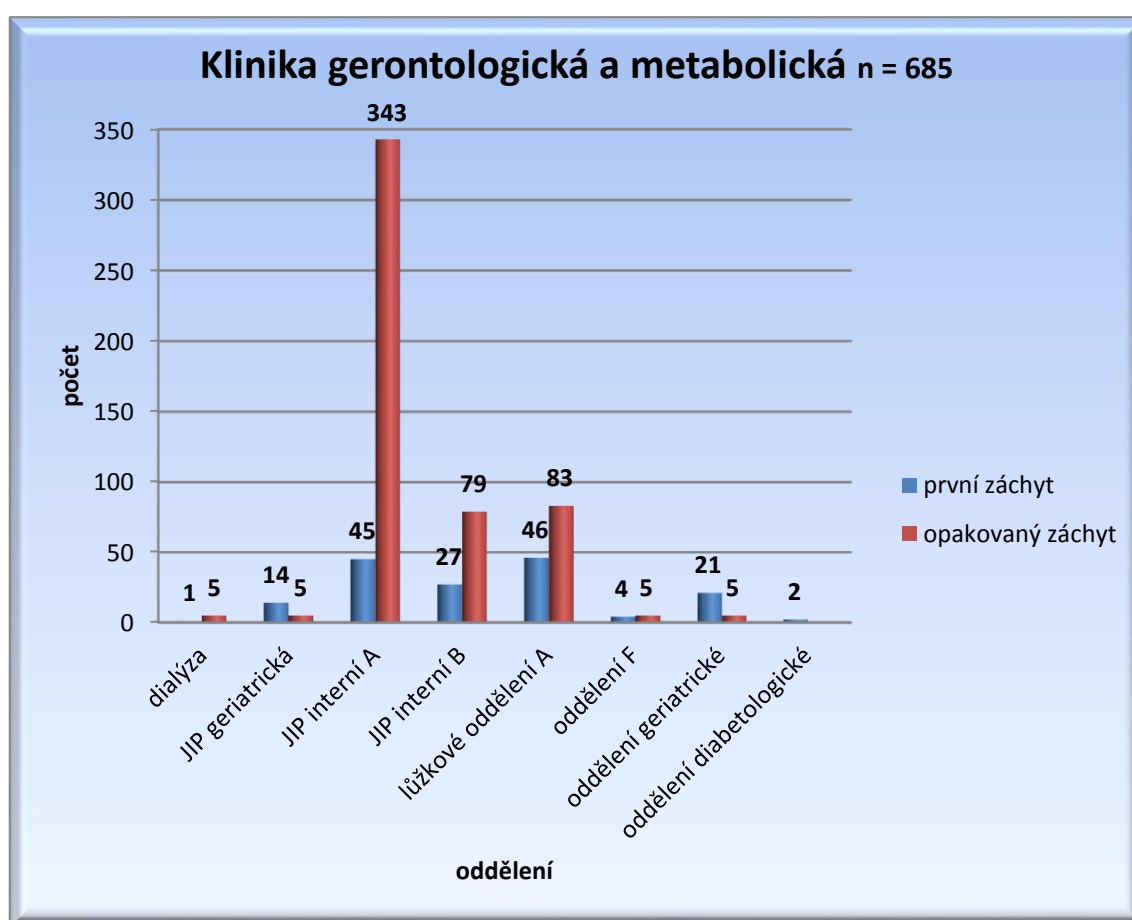
klinika	2008	2009	2010	2011	2012
anesteziologie, resuscitace a interní medicíny			2,76	2,71	12,03
dětská	1,53	0,51	0,75	1,39	1,95
dětské chirurgie a traumatologie					0,80
gerontologická a metabolická	6,24	6,97	8,27	21,00	22,59
chirurgická	0,70	0,52	0,75	2,66	3,08
I. Interní	0,61	0,64	1,89	4,48	3,28
II. Interní	1,04	0,57	1,77	2,52	10,13
IV. Interní - oddělení klinické hematologie				11,32	10,60
infekčních nemocí	0,61	1,36	0,70	7,19	7,05
kardiochirurgická		0,70	0,65	3,35	0,62
neurochirurgická	0,84	0,87	0,44	7,13	3,62
neurologická	1,15	1,07	0,50	4,28	4,40
onkologie a radioterapie			0,51	0,56	0,58
ortopedická				0,42	1,76
plicní	0,40	1,63	3,40	4,99	1,48
porodnická a gynekologická		0,22		0,48	0,91
psychiatrická					0,96
rehabilitační			2,57	2,51	2,55
urologická			3,61	1,92	3,18
ušní, nosní a krční					0,43

N = údaj nebyl k dispozici

Výskyt pozitivních izolátů (první a opakovaný pozitivní záchyt) na jednotlivých odděleních Kliniky gerontologické a metabolické je uveden v tabulce č. 16. Četnost jednotlivých oddělení této kliniky je znázorněna v grafu č. 9. Nejvyšší první záchyt byl zjištěn na Lůžkovém oddělení A (46 pozitivních izolátů) a opakovaný záchyt na Jednotce intenzivní péče A (343 pozitivních izolátů).

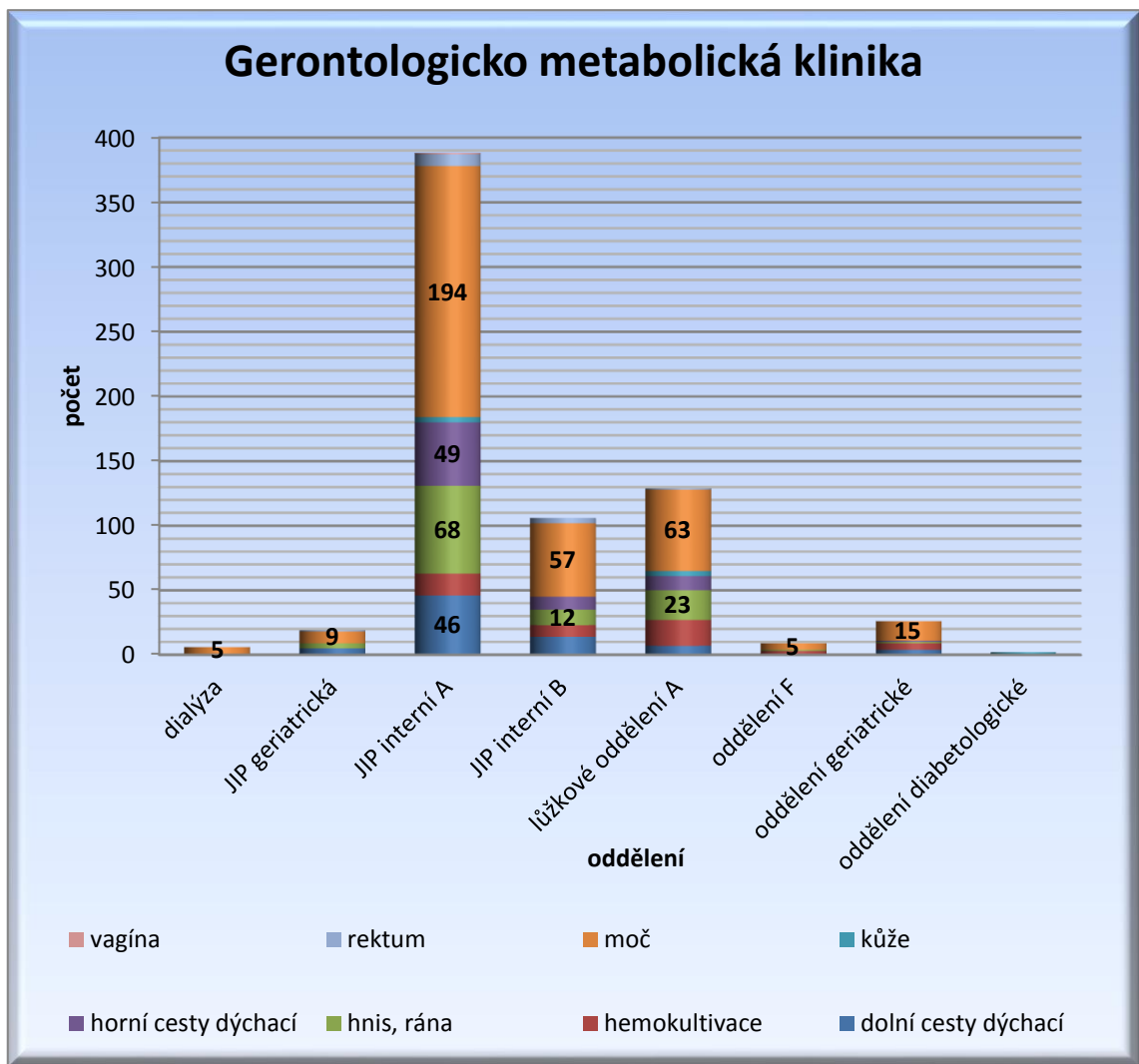
Tabulka 16 Výskyt pozitivních izolátů na odděleních gerontologické a metabolické kliniky

oddělení	první záchyt	opakovaný záchyt	celkový součet
dialýza	1	5	6
JIP geriatrická	14	5	19
JIP interní A	45	343	388
JIP interní B	27	79	106
lůžkové oddělení A	46	83	129
oddělení diabetologické	2		2
oddělení F	4	5	9
oddělení geriatrické	21	5	26
celkový součet	160	525	685



Graf 9 Výskyt pozitivních izolátů na jednotlivých odděleních Kliniky gerontologické a metabolické v letech 2008 - 2012

V grafu č. 10 je uveden výskyt pozitivních izolátů na Klinice gerontologické a metabolické podle materiálu. Nejvíce zastoupeným materiálem je moč (348 pozitivních izolátů), hnís a rána (110 pozitivních izolátů).



Graf 10 Výskyt pozitivních izolátů na oddělení gerontologické a metabolické kliniky podle materiálu v letech 2008 - 2012

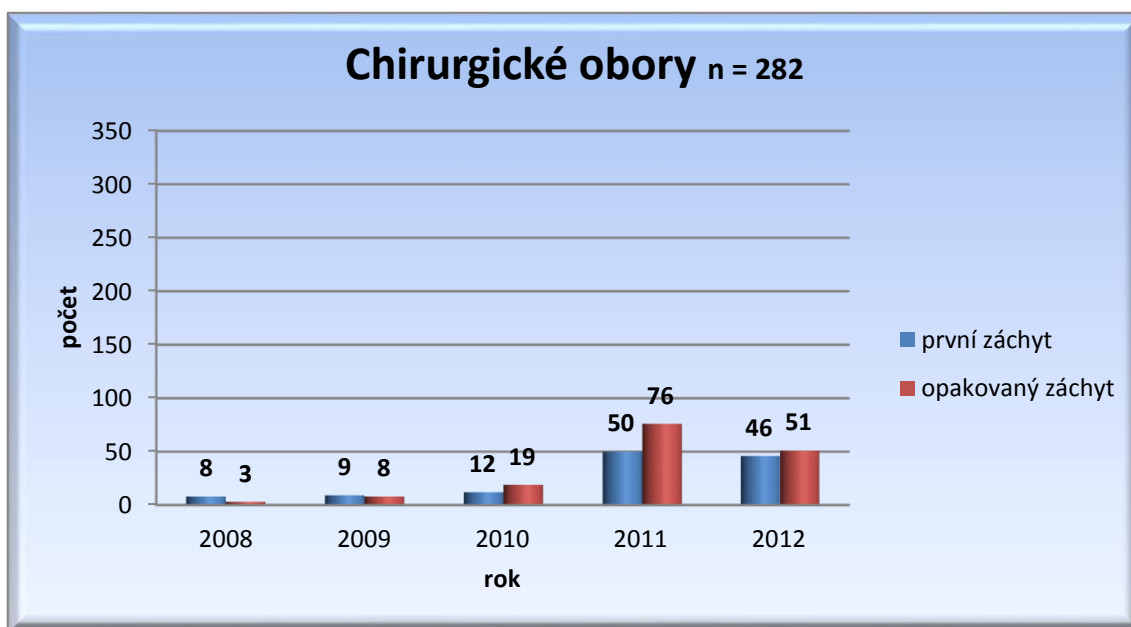
9.1.4 Výskyt pozitivních izolátů na chirurgických a nechirurgických oborech

Srovnání výskytu pozitivních izolátů na chirurgických a nechirurgických oborech v letech 2008 - 2012 je uvedeno v tabulce č. 17 a grafech č. 11 a 12. Vyšší zastoupení pozitivních izolátů je zaznamenáno na nechirurgických oborech.

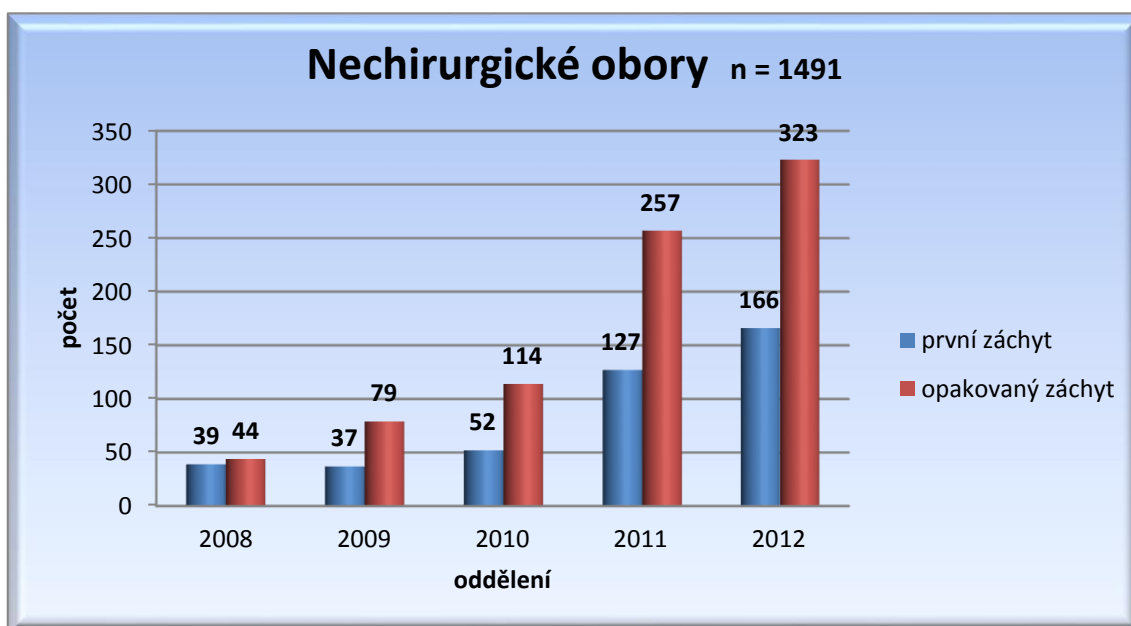
V tabulce jsou uvedeny pouze pozitivní záchyty z nemocnic (pouze hospitalizovaní pacienti) z důvodu srovnání a přepočtu na 1000 hospitalizovaných pacientů.

Tabulka 17 Srovnání výskytu na chirurgických a nechirurgických oborech v letech 2008 - 2012

obor	2008	2009	2010	2011	2012	celkový součet
chirurgický	11	17	31	126	97	282
první záchyt	8	9	12	50	46	125
opakovaný záchyt	3	8	19	76	51	157
nechirurgický	80	112	165	368	484	1209
první záchyt	37	33	51	118	162	401
opakovaný záchyt	43	79	114	250	322	808
celkový součet	91	129	196	494	581	1491



Graf 11 Srovnání výskytu na chirurgických oborech v letech 2008 – 2012



Graf 12 Srovnání výskytu na nechirurgických oborech v letech 2008 - 2012

V tabulce č. 18 je uveden přepočet pozitivních záchytů na 1000 hospitalizovaných pacientů chirurgických a nechirurgických oborů. Celkové počty hospitalizovaných pacientů jsou uvedeny v tabulce č. 8.

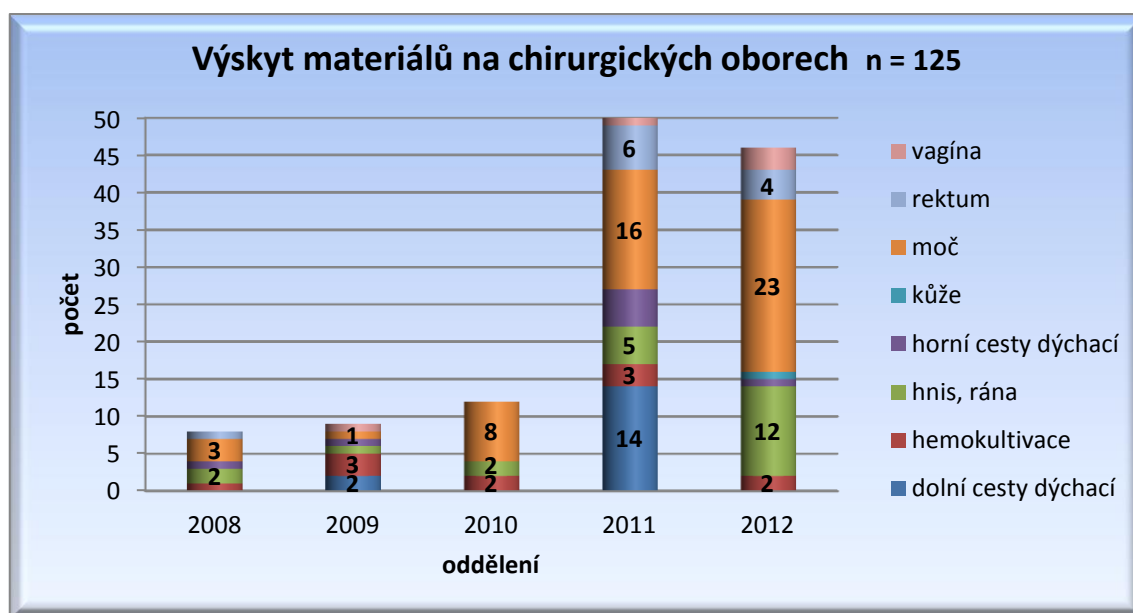
Za rizikovější oddělení lze považovat nechirurgická oddělení, kde se multirezistentní kmeny *Escherichia coli* vyskytuje více.

Tabulka 18 Přepočet pozitivních izolátů přepočítaných na 1000 hospitalizovaných pacientů v letech 2008 - 2011

obory	2008	2009	2010	2011
chirurgické	0,42	0,68	1,22	5,05
první záchyt	0,30	0,36	0,47	2,00
opakovaný záchyt	0,11	0,32	0,75	3,05
nechirurgické	5,02	6,83	10,26	23,63
první záchyt	2,32	0,18	3,17	7,58
opakovaný záchyt	2,70	4,81	7,09	16,05

V grafu č. 13 je zobrazeno zastoupení jednotlivých klinických materiálů na chirurgických oborech v letech 2008 – 2012. V grafu jsou uvedeny pouze první záchyty a materiály z nemocnic (od hospitalizovaných pacientů).

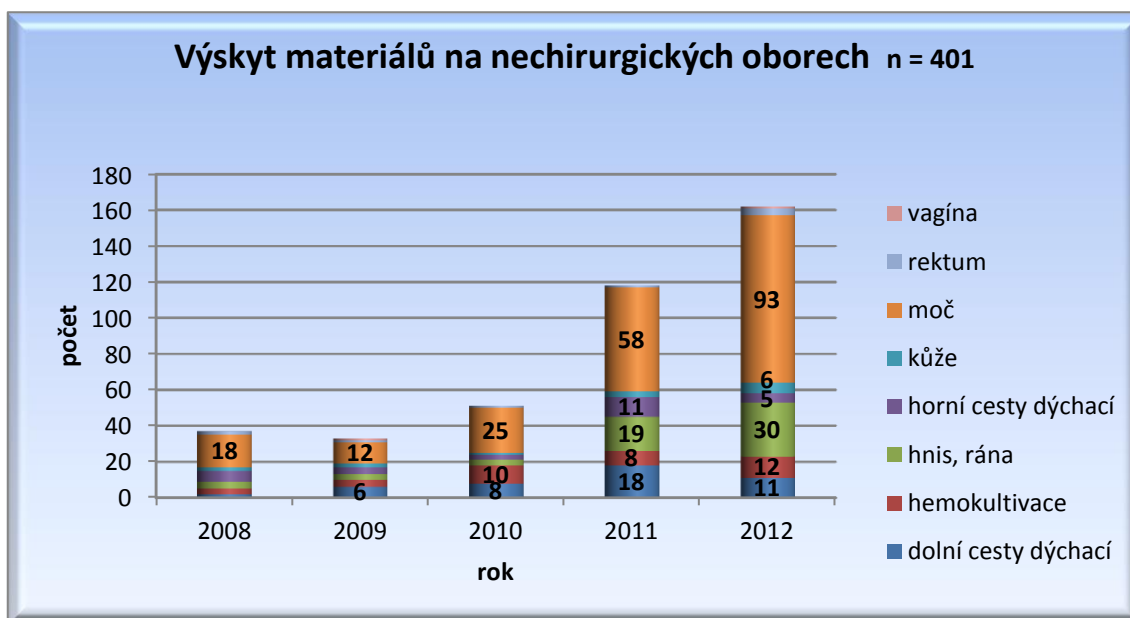
Nejvíce zastoupeným materiálem je moč. Na druhém místě je významně zastoupen materiál hnis a rána. V roce 2011 je významně zastoupení materiálu z dolních cest dýchacích.



Graf 13 Zastoupení jednotlivých klinických materiálů na chirurgických oborech v letech 2008 – 2012

V grafu č. 14 je zobrazeno zastoupení jednotlivých klinických materiálů na nechirurgických oborech v letech 2008 – 2012. V grafu jsou uvedeny pouze první záchyty a materiály z nemocnic (od hospitalizovaných pacientů).

Nejvíce zastoupeným materiálem je moč. Na druhém místě je zastoupen materiál hnis a rána.



Graf 14 Zastoupení jednotlivých klinických materiálů na nechirurgických oborech v letech 2008 - 2012

9.1.5 Výskyt pozitivních izolátů na intenzivních jednotkách a standardních jednotkách

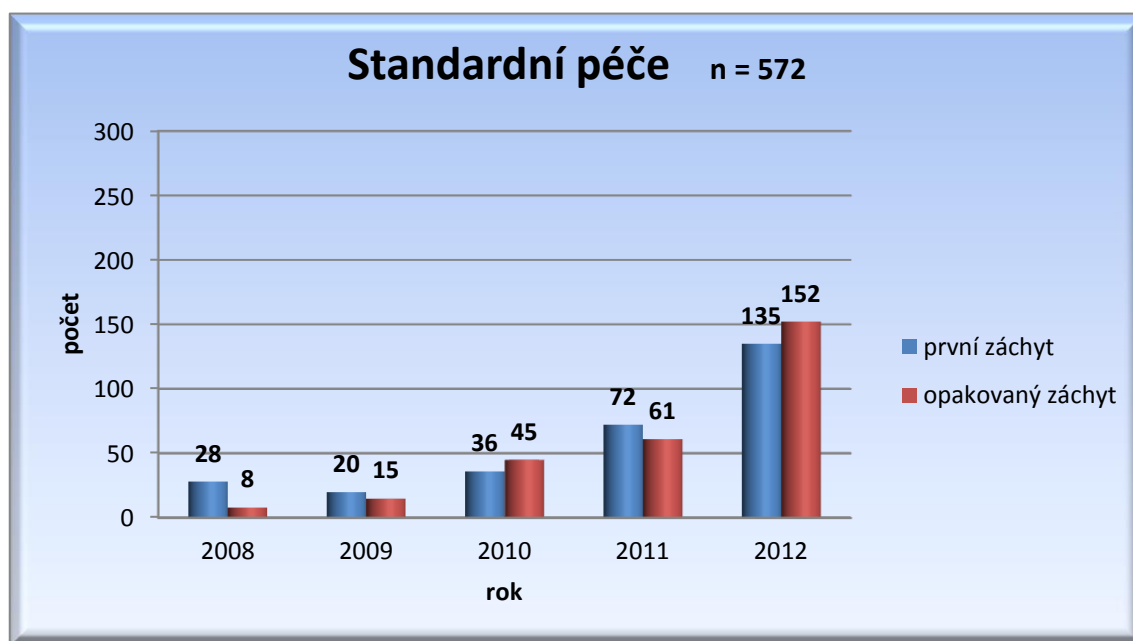
V tabulce č. 19 je zobrazen výskyt pozitivních izolátů na jednotkách intenzivní péče a standardních odděleních rozdělených na první a opakovaný záchyt. Vyšší četnost výskytu (prvního i opakovaného pozitivního záchytu) je na jednotkách intenzivní péče.

Výskyt pozitivních izolátů (prvních a opakovaných) na jednotkách intenzivní péče je zobrazen v tabulce č. 19 a grafu č. 15. Nejvyšší četnost prvního pozitivního záchytu byl v roce 2011 (96 pozitivních izolátů). Nejvyšší četnost opakovaného záchytu byla v roce 2011 (265 pozitivních záchytů).

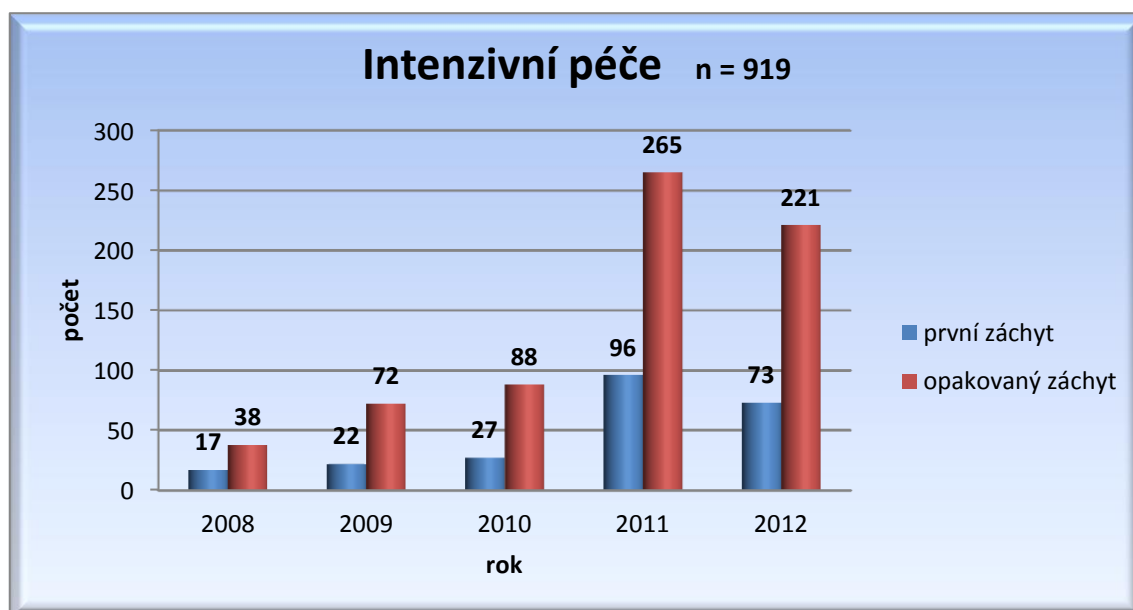
Srovnání prvního a opakovaného pozitivního záchytu na standardních odděleních je uvedeno v tabulce č. 19 a grafu č. 16. Nejvyšší četnost prvního pozitivního záchytu byla v roce 2012 (135 pozitivních izolátů). Nejvyšší četnost opakovaného záchytu byla v roce 2012 (152 pozitivních záchytů).

Tabulka 19 Srovnání výskytu pozitivních izolátů na intenzivních a standardních odděleních v letech 2008 - 2012

oddělení	2008	2009	2010	2011	2012	celkový součet
intenzivní péče	55	94	115	361	294	919
první záchyt	17	22	27	96	73	235
opakovaný záchyt	38	72	88	265	221	684
standardní péče	36	35	81	133	287	572
první záchyt	28	20	36	72	135	291
opakovaný záchyt	8	15	45	61	152	281
celkový součet	91	129	196	494	581	1491



Graf 15 Srovnání výskytu na standardních odděleních v letech 2008 – 2012



Graf 16 Srovnání výskytu na intenzivních odděleních v letech 2008 – 2012

V grafu č. 17 je zobrazeno zastoupení jednotlivých klinických materiálů ve standardní péči v letech 2008 – 2012. V grafu jsou uvedeny pouze první záchyty a materiály z nemocnic (od hospitalizovaných pacientů).

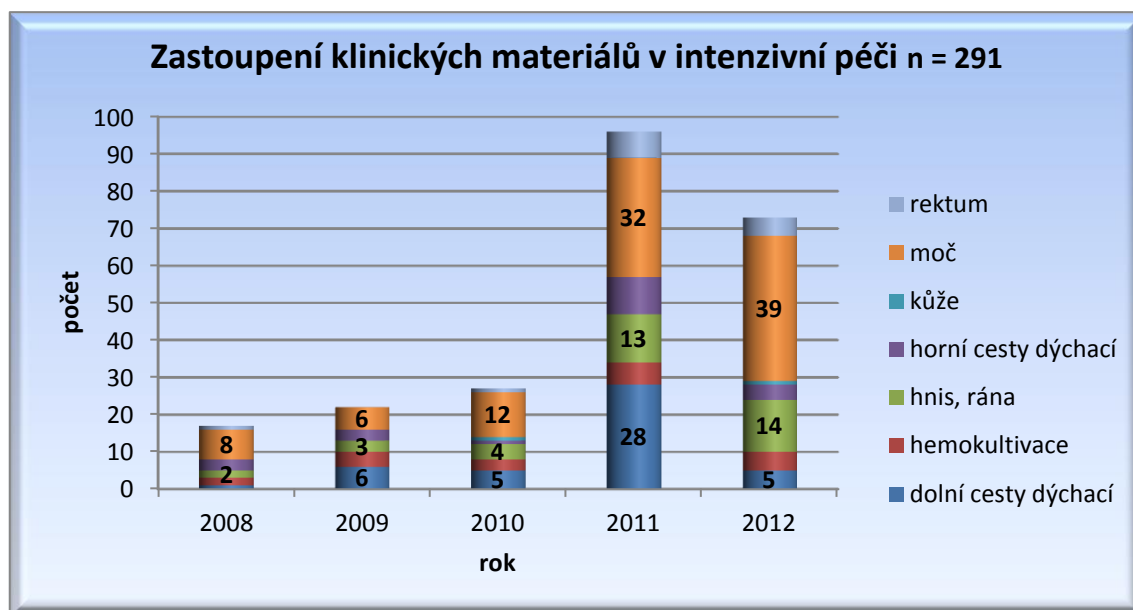
Nejvíce zastoupeným materiálem je moč. Na druhém místě je zastoupen materiál hnis a rána.



Graf 17 Zastoupení klinických materiálů ve standardní péči v letech 2008 - 2012

V grafu č. 18 je zobrazeno zastoupení jednotlivých klinických materiálů v intenzivní péči v letech 2008 – 2012. V grafu jsou uvedeny pouze první záchyty a materiály z nemocnic (od hospitalizovaných pacientů).

Nejvíce zastoupeným materiálem je moč. Na druhém místě je zastoupen materiál z dolních cest dýchacích.



Graf 18 Zastoupení klinických materiálů v intenzivní péči v letech 2008 - 2012

V tabulce č. 20 je uveden přepočtený počet pozitivních izolátů na 1000 hospitalizovaných pacientů intenzivních a standardních oddělení za jednotlivá časová období. Celkové počty hospitalizovaných pacientů jsou uvedeny v tabulce č. 9.

Za rizikovější oddělení lze považovat intenzivní oddělení, kde se multirezistentní kmeny *Escherichia coli* vyskytují více. Nejvíce byla zaznamenána v roce 2011.

Tabulka 20 Přepočtený počet pozitivních izolátů přepočítaný na 1000 hospitalizovaných pacientů v letech 2012 - 2012

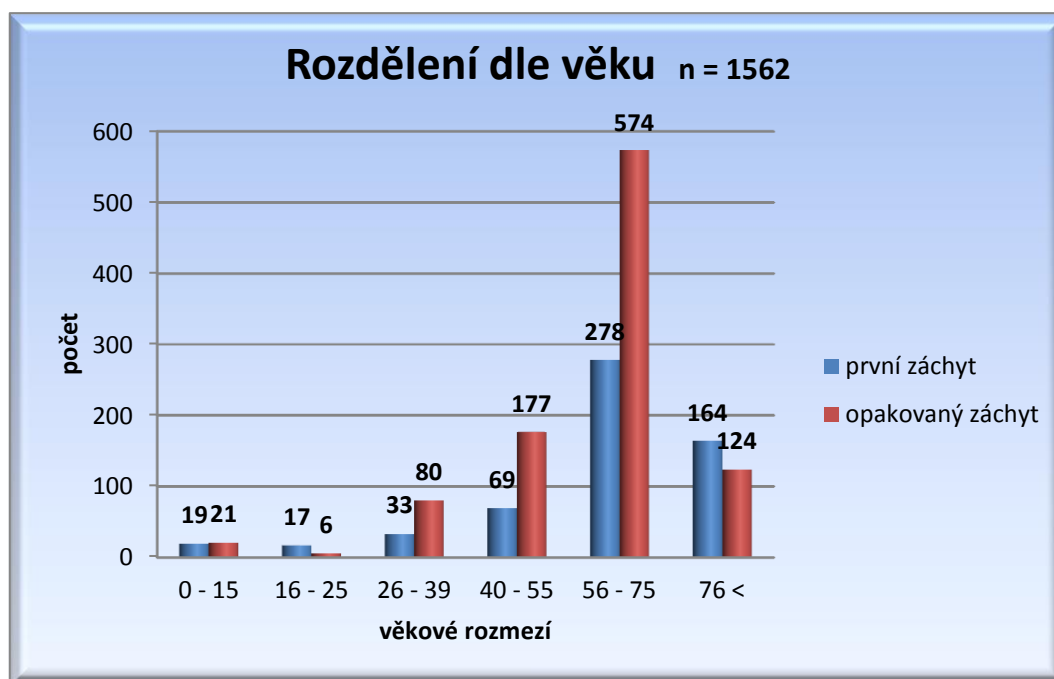
oddělení	2010	2011	2012
intenzivní péče	13,10	40,32	32,11
první záchyt	3,08	10,72	7,97
opakovaný záchyt	10,03	29,60	24,14
standardní péče	2,49	4,22	8,91
první záchyt	1,11	2,28	14,74
opakovaný záchyt	1,38	1,93	4,67

9.1.6 Výskyt podle věku

Tabulka č. 21 a graf č. 19 zobrazují věkové rozložení pozitivních izolátů v letech 2008 - 2012 prvního a opakovaného pozitivního záchytu. S vyšším věkem četnost pozitivitivity narůstá a nejvyšší počet pozitivních pacientů (prvních a opakovaných pozitivních záchytů) je ve věkovém rozmezí 56 – 75 let.

Tabulka 21 První a opakovaný záchyt podle věkového rozmezí v letech 2008 - 2012

věkové rozmezí	první záchyt	opakovaný záchyt	celkový součet
0 - 15	19	21	40
16 - 25	17	6	23
26 - 39	33	80	113
40 - 55	69	177	246
56 - 75	278	574	852
76 <	164	124	288
celkový součet	580	982	1562



Graf 19 Četnost prvního a opakovaného pozitivního záchytu podle věkového rozmezí pacientů v letech 2008 – 2012

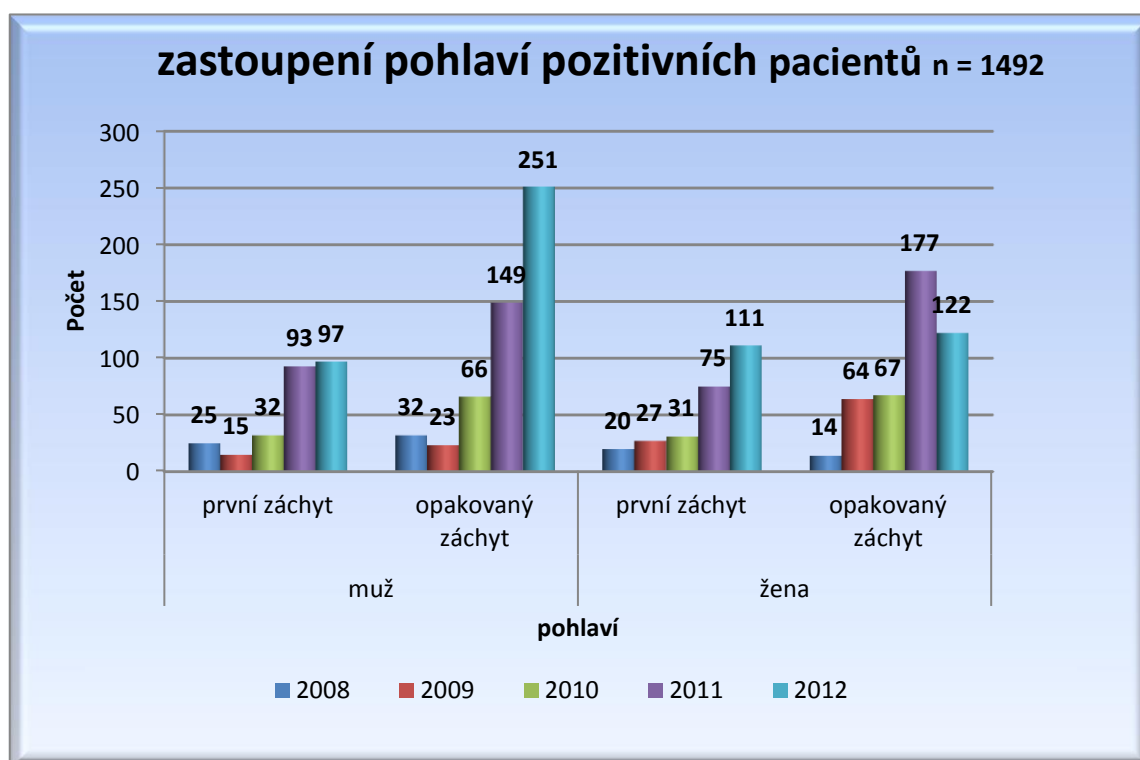
9.1.7 Výskyt pozitivních izolátů podle pohlaví

Tabulka č. 22 a graf č. 20 zobrazují výskyt prvních a opakovaných pozitivních záchytů podle pohlaví v letech 2008 - 2012. Převažuje mužské pohlaví.

V tabulce jsou uvedeny pouze pozitivní záchyty z nemocnic (pouze hospitalizovaní pacienti) z důvodu srovnání a přepočtu na 1000 hospitalizovaných pacientů.

Tabulka 22 Srovnání zastoupení pohlaví pozitivních pacientů v letech 2008 – 2012

pohlaví	2008	2009	2010	2011	2012	celkový součet
muž	57	38	98	242	348	783
první záchyt	25	15	32	93	97	262
opakovaný záchyt	32	23	66	149	251	521
žena	34	91	98	252	233	708
první záchyt	20	27	31	75	111	264
opakovaný záchyt	14	64	67	177	122	444
celkový součet	91	129	196	494	581	1492



Graf 20 Srovnání zastoupení pohlaví pozitivních pacientů v letech 2008 - 2012

V tabulce č. 23 je uveden přepočtený počet pozitivních záchytů na 1000 hospitalizovaných pacientů rozdělených podle pohlaví za jednotlivá časová období. Celkové počty hospitalizovaných pacientů v jednotlivých letech jsou uvedeny v tabulce č. 10.

Za rizikovější pohlaví lze považovat mužské pohlaví, kde se multirezistentní kmeny *Escherichia coli* vyskytuje více.

Tabulka 23 Přepočet pozitivních izolátů podle pohlaví na 1000 hospitalizovaných pacientů v letech 2012 - 2012

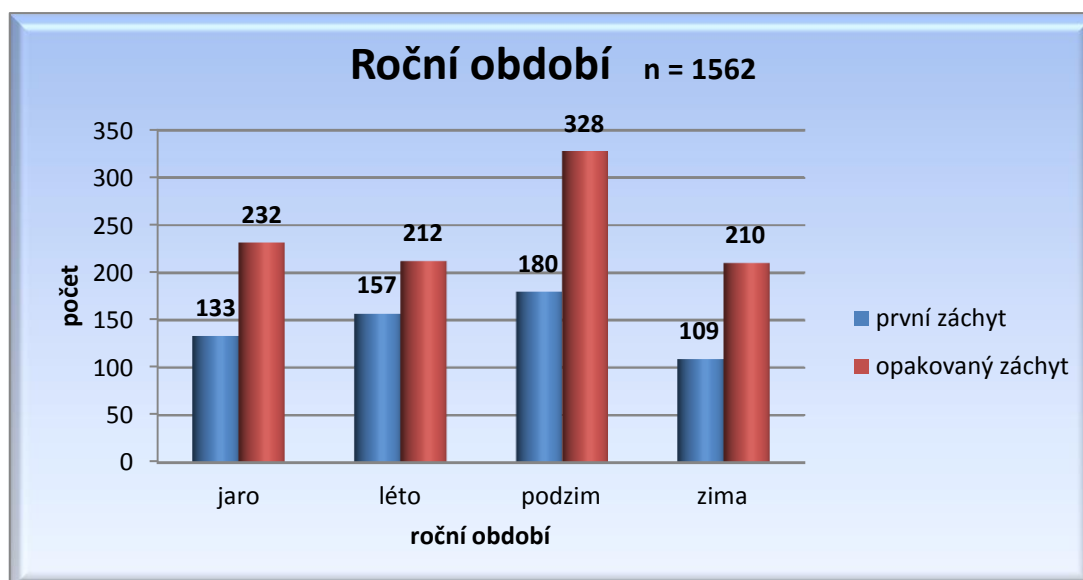
pohlaví	2010	2011	2012
muž	4,79	11,99	17,05
první záchyt	1,56	4,61	4,75
opakovaný záchyt	3,23	7,38	12,30
žena	4,70	12,40	11,11
první záchyt	1,49	3,69	5,29
opakovaný záchyt	3,21	8,71	5,82

9.1.8 Výskyt pozitivních izolátů v ročních obdobích

První a opakovaný pozitivní záchyt v jednotlivých ročních obdobích v letech 2008 - 2012 je zobrazen v tabulce č. 24 a grafu č. 21. Nejvyšší počet prvních pozitivních záchytů byl zjištěn na podzim.

Tabulka 24 Záchyt pozitivních izolátů v letech 2008 - 2012 v závislosti na ročním období

roční období	první záchyt	opakovaný záchyt	celkový součet
jaro	133	232	365
léto	157	212	370
podzim	180	328	508
zima	109	210	319
celkový součet	579	982	1562



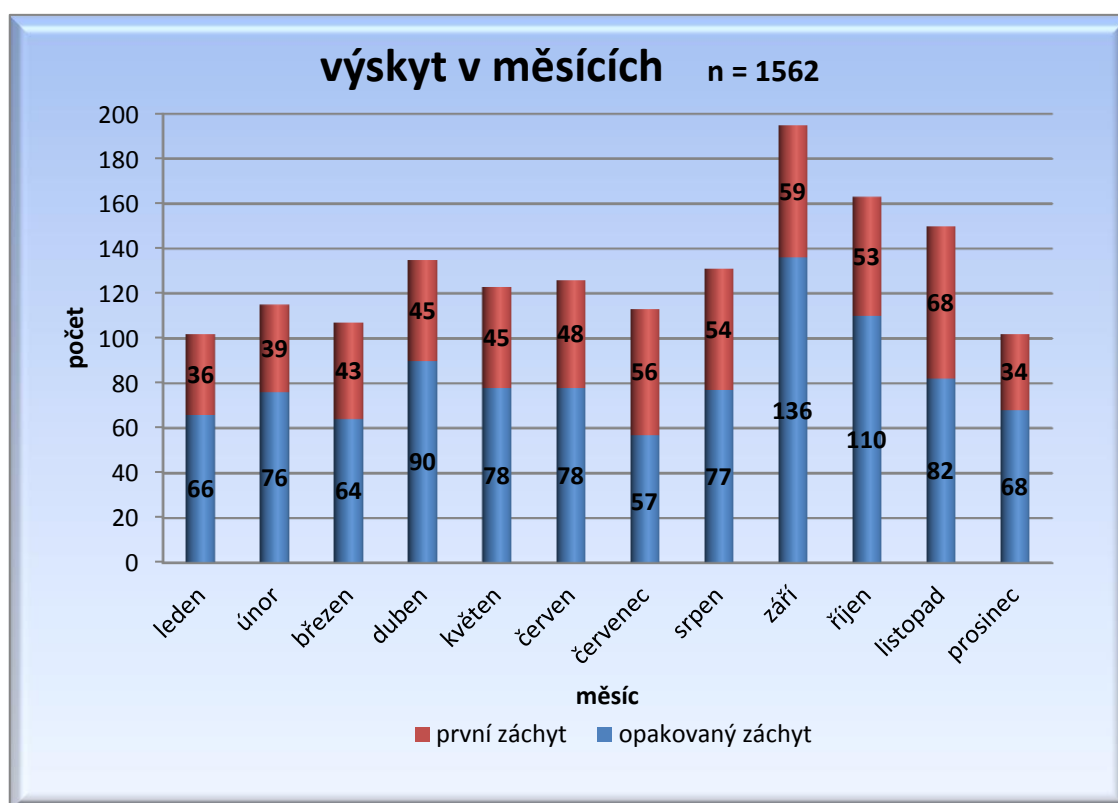
Graf 21 Srovnání pozitivních izolátů v letech 2008 - 2012 v závislosti na ročním období

9.1.9 Výskyt pozitivních izolátů v měsících

První a opakovaný záchyt pozitivních izolátů v jednotlivých měsících časového období 2008 – 2012 je zobrazen v tabulce č. 25 a grafu č. 22. Nejvyšší první pozitivní záchyt byl zaznamenán v měsíci listopad (68 pozitivních materiálů). Nejvyšší opakovaný pozitivní záchyt byl zaznamenán v měsíci září (136 pozitivních materiálů).

Tabulka 25 Výskyt pozitivních vzorků v jednotlivých měsících v letech 2008 – 2012

měsíc	2008	2009	2010	2011	2012	celkový součet
leden	8	8	10	21	55	102
únor	5	13	8	23	66	115
březen	3	11	9	30	54	107
duben	2	19	9	40	65	135
květen	4	12	10	50	47	123
červen	5	13	9	44	55	126
červenec	14	9	9	41	40	113
srpen	16	8	9	62	36	131
září	8	14	38	61	74	195
říjen	10	15	34	60	44	163
listopad	13	12	36	49	40	150
prosinec	8		18	45	31	102
celkový součet	96	134	199	526	607	1562



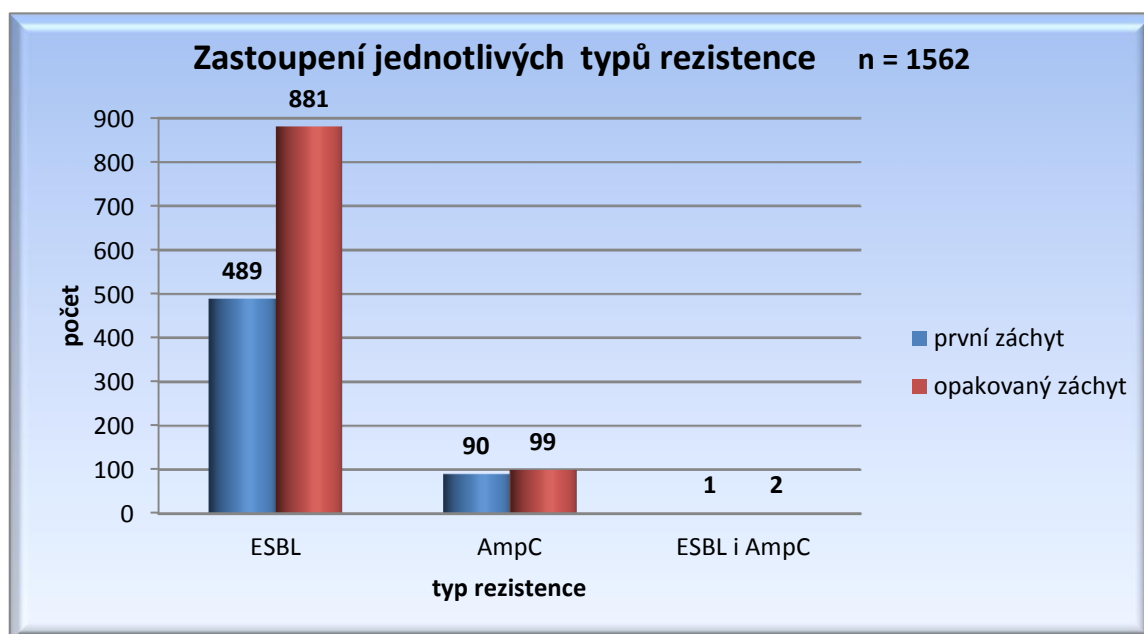
Graf 22 Výskyt pozitivních vzorků v jednotlivých měsících v letech 2008 – 2012

9.1.10 Výskyt rezistence

V tabulce č. 26 a grafu č. 23 je zaznamenáno srovnání typů rezistence u *Escherichia coli*. Převládá ESBL typ rezistence (1370 pozitivních izolátů), z toho je 489 prvních pozitivních izolátů a 881 opakovaných pozitivních izolátů.

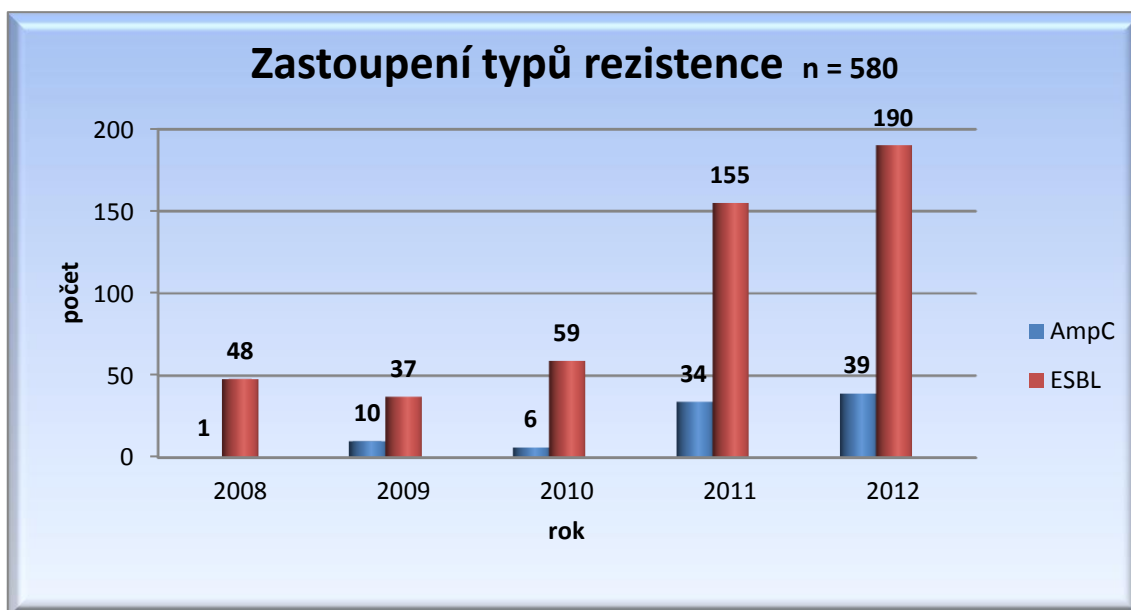
Tabulka 26 Srovnání typů rezistence v letech 2008 - 2012

typ rezistence	první záchyt	opakovaný záchyt	celkový součet
ESBL	489	881	1370
AmpC	90	99	189
ESBL i AmpC	1	2	3
celkový součet	580	982	1562



Graf 23 Zastoupení jednotlivých typů rezistence ve FNHK

V grafu č. 24 je zobrazen výskyt jednotlivých typů rezistence v letech 2008 – 2012. Nejvyšší zastoupení ESBL typu je v roce 2012 (190 prvních pozitivních izolátů) a nejvyšší zastoupení AmpC typu je také v roce 2012 (39 prvních pozitivních izolátů). S dalším rokem vzrůstá výskyt ESBL a Ampc typu rezistence.



Graf 24 Zastoupení jednotlivých typů rezistence v letech 2008 – 2012

9.1.11 Citlivost pozitivních izolátů k antibiotikům

V tabulce č. 27 je uvedeno srovnání výskytu rezistence k antibiotikům v letech 2008 - 2012 podle prvního pozitivního záchytu.

Tabulka 27 Srovnání výskytu rezistence k antibiotikům v letech 2008 - 2012

ATB	
amikacin	54
ciprofloxacin	375
gentamicin	137
trimethoprim+sulfonamid	369
nitrofurantoin	25

10 Diskuse

Rychlé a nekontrolovatelné zvýšení antimikrobiální rezistence patogenních bakterií (zejména ESBL proti β -laktamovým antibiotikům), které bylo naměřené v posledních dvou desetiletích, je dnes široce považováno za jeden z hlavních problémů v humánní medicíně. Organismy produkující ESBL představují výzvu pro klinické mikrobiology, lékaře a hygienické odborníky.

Za časové období 2008 – 2012 bylo zaznamenáno 1562 pozitivních izolátů. Celkový počet pozitivních výsledků s každým dalším rokem roste. Největší vzestup celkového výskytu je zaznamenán v roce 2011 (327 nových pozitivních izolátů). Největší vzestup prvního záchytu je zaznamenán také v roce 2011 (203 nových pozitivních izolátů). Ve srovnání s Přehledem rezistencí bakterií na antibiotika publikované ve Fakultní nemocnici Hradec Králové je opět vidět postupné zvýšení pozitivních izolátů v letech 2009 – 2012. Ve srovnání se situací v Evropě dochází k nárůstu pozitivních izolátů též, i když jsou do studie EARSS zařazeny pouze klinické kmeny izolované z hemokultur. Multirezistentní kmeny *Escherichia coli* jsou převážně nemocniční patogeny, avšak už v roce 2008 byly nalezeny ojedinělé izoláty od ambulantních pacientů. S dalším rokem stoupá výskyt pozitivních izolátů ambulantních pacientů. (EARSS – Net, 2011)

Nejčastějším klinickým materiálem výskytu pozitivních izolátů je moč (47,6 %) a dolní cesty dýchací (14,3 %). Oproti dolním cestám dýchacím je moč zastoupena až trojnásobně. Z hlediska prvního pozitivního záchytu je nejčastějším klinickým materiálem moč (52,2 %), hnis a rána (14,5 %) a teprve na třetím místě dolní cesty dýchací (10,5 %). K těmto závěrům došel i Caselli (Caselli et al., 2001), který uvádí nejčastějším klinickým materiálem moč. Na druhém místě však byly dolní cesty dýchací. Pravděpodobně důvodem rozdílu mohlo být, že studie byla provedena v roce 2001, kdy byly multirezistentní kmeny *Escherichia coli* považovány za dominantní nozokomiální patogeny a způsobovaly přednostně močové infekce a HAP (hospital-acquired pneumonia).

V močových cestách převažuje vyšetření z permanentní cévky (119 prvních pozitivních izolátů, 230 opakovaných pozitivních izolátů) a moče (134 prvních pozitivních izolátů, 111 opakovaných pozitivních izolátů). *Escherichia coli* patří mezi nejčastější původce močových infekcí. Permanentní cévka je důležitým rizikovým

faktorem vzniku infekce. Bakterie mají během této doby možnost se dostat přes cévku do močové trubice a zde se začít rozmnožovat. Riziko stoupá s délkou zavedení a s úrovní ošetřování cévek. (Votava a kol., 2003) Dle Beharkovy studie (Beharka, 2004) se výskyt bakteriémie u jednorázově katetrizovaných pacientů pohybuje od 1 % do 20 %, avšak dlouhodobě katetrizovaní pacienti mají permanentní bakteriurii. Bakterie mohou kolonizovat povrch katétru a zpětně kolonizovat močový měchýř.

U starších pacientů je frekvence rizikových faktorů přidružených se zánětem močových cest výrazně zvýšena. Jedním z rizikových faktorů je kolonizace gramnegativních bakterií v distální části močové trubice. U postmenopauzálních žen dochází v souvislosti s deficitem estrogenů k suchosti vaginy, zvýšení úrovně pH a snížení množství glykogenu, což přispívá k nárůstu rizika kolonizace koliformními bakteriemi. Nejběžnějším zdrojem infekce je *Escherichia coli*, která pochází z vlastní fekální flóry pacientů. Dalším faktorem bývá rychlost výtoku moče. Za normálních podmínek, kdy dochází k plynulému vyprazdňování, bakterie nemohou invadovat do stěny močového měchýře. (Beharka, 2004)

Ojedinelá vyšetření z rektu jsou zastoupena screeningem pacientů, který se provádí v závažném stavu na jednotkách intenzivní péče nebo u pacientů přeložených z jiných nemocnic. Podle charakteru nosičství v gastrointestinálním traktu lze populaci rozdělit na osoby s přechodným nebo trvalým nosičstvím. Osoby s přechodným nosičstvím jsou kolonizovány občasně. U osob s trvalým nosičstvím zůstávají geny adaptivní rezistence, kdy je ESBL produkována pouze v přítomnosti selekce při podávání antibiotik.

V dalších materiálech byly multirezistentní kmeny *Escherichia coli* zachyceny v nevýznamných počtech.

Nejvyšší počet prvních pozitivních záchytů byl zaznamenán na Klinice gerontologické a metabolické (160 pozitivních izolátů). Nejvyšší vzestup prvního pozitivního záchytu byl v roce 2011 zachycen též na Klinice gerontologické a metabolické i na IV. Interní klinice – oddělení klinické hematologie. Na IV. Interní klinice – oddělení klinické hematologie je každý záchyt od těchto pacientů vzhledem k jejich imunopresi alarmující a velmi často může kolonizace vést k infekci. Pokles byl zaznamenán v roce 2012 na Neurochirurgické klinice (pokles o 8 pozitivních záchytů) a na Plicní klinice (pokles o 4 pozitivní záchyty). V roce 2008 byl největší první pozitivní záchyt na Klinice gerontologické a metabolické a s každým dalším

rokem dochází k nárůstu prvních pozitivních záchytů a k zaznamenání na dalších klinikách, kde dosud nebyly pozitivní izoláty zachyceny. Poprvé se objevil výskyt prvních pozitivních izolátů v roce 2012 na Klinice dětské chirurgie a traumatologie, psychiatrické a ušní, nosní a krční.

Protože byl nejvyšší výskyt pozitivních izolátů zaznamenán na Klinice gerontologické a metabolické, jsem pro lepší názornost rozdělila celkový výskyt na jednotlivá oddělení. Nejvyšší první záchyt byl zjištěn na Lůžkovém oddělení A (46 pozitivních izolátů) a opakovaný záchyt na Jednotce intenzivní péče A (343 pozitivních izolátů). Nejčastějším pozitivním materiálem této kliniky shodně s celkovým záchytem je moč (348 pozitivních izolátů), hnis a rána (110 pozitivních izolátů). Důvodem nejvyššího výskytu jsou chroničtí nemocní s přidruženými komplikacemi, chronické rány, časté močové katetry, zavedené umělé materiály, centrální katetry nebo žilní katetry.

Vyšší věk je dalším rizikovým faktorem. S vyšším věkem četnost pozitivivity narůstá. Nejvyšší počet pozitivních pacientů (prvních i opakovaných pozitivních záchytů) je ve věkovém rozmezí 56 – 75 let. Je to z důvodu stoupajícího výskytu onemocnění způsobujících stagnaci moči a funkčními a anatomickými změnami močového systému. Graf prvních pozitivních výskytů má tvar Gaussovy křivky. Jedinou menší výchytkou je věkové rozmezí 0 – 15, kde je výskyt nepatrně vyšší. Jedná se o neonatologickou péči a výskyt neonatologických meningitid.

Přestože chirurgické výkony bývají velkým rizikem nemocničních nákaz (vyšší riziko souvisí se ztrátou kožní bariéry proti mikrobům), v mé práci bylo zaznamenáno vyšší zastoupení pozitivních izolátů na nechirurgických klinikách. Je to z důvodu krátkodobé hospitalizace všech věkových skupin.

Vyšší četnost výskytu (prvního i opakovaného pozitivního záchytu) je na jednotkách intenzivní péče (919 pozitivních izolátů) než na standardních odděleních (572 pozitivních izolátů). Výskyt multirezistentních kmenů *Escherichia coli* je na jednotkách intenzivní péče vážný problém. Výskyt je stále stoupající díky dvěma klíčovými faktorům: snížené obranyschopnosti pacienta a jeho kolonizace patogenními nebo potenciálně patogenními mikroby. Na jednotkách intenzivní péče se provádí pravidelný screening osídlení ventilací, aby se rychle a lépe reagovalo na infekci.

Výskyt multirezistentních kmenů *Escherichia coli* byl zaznamenán nejvíce na podzim (180 prvních a 328 opakovaných pozitivních záchytů), ať už se jedná o první

nebo opakovaný pozitivní záchyt. Jedním z důvodů se může stát návrat z dovolených a letních prázdnin, kdy je největší výskyt opakovaných pozitivních záchytů zaznamenán právě v měsíci září (136 opakovaných pozitivních záchytů), který postupně klesá. Zajímavý údaj je v měsíci listopad, kdy byl zaznamenán největší výskyt prvních pozitivních záchytů (68 prvních pozitivních izolátů).

Za důležité zastoupení rezistencí na antibiotika v mé práci je rezistence na amikacin (54 prvních pozitivních izolátů), ciprofloxacin (375 prvních pozitivních izolátů), gentamycin (137 prvních pozitivních izolátů) a trimethoprim + sulfonamid (369 prvních pozitivních izolátů).

V Evropě nadále dochází k trendu zvyšování rezistence. Zvláště znepokojující je nárůst rezistence na cefalosporiny třetí generace a kombinované rezistence vůči nejméně dalším třem antimikrobiálním látkám, které se v mnoha zemích významně zvyšovaly za období 2008 - 2011. Přítomnost *Escherichia coli* produkující ESBL a kombinovaná rezistence je vážným problémem veřejného zdraví, protože výrazně omezuje počet léčebných alternativ pro pacienty s život ohrožujícími infekcemi. Další znepokojující jsou aminopeniciliny, v roce 2011 oznámilo 28 zemí 57 920 izolátů. Ve sledovaných zemích se pohybovalo procento rezistentních izolátů mezi 25 – 50 % v sedmi zemích, zatímco zbývajících 21 zemí uvedlo jako procenta rezistentní izolátů vyšší než 50 %. (EARSS – Net, 2011)

Nejvíce zastoupený typ rezistence ve FN HK je ESBL typ a po té v mnohem menší míře AmpC typ rezistence. Nejvyšší vzestup byl v roce 2011 u obou typů, u ESBL o 96 prvních pozitivních izolátů a u AmpC 28 prvních pozitivních izolátů. Produkce ESBL a AmpC je často spojena s rezistencí k dalším antibiotikům.

Rizikové faktory jsou považovány za důležité z toho důvodu, protože pomáhají určit, kteří pacienti mohou potřebovat empirickou antibiotickou léčbu cílenou na bakterie produkující ESBL.

Za rizikový je považován takový faktor, jehož přítomnost zvyšuje pravděpodobně rozsah a závažnost s ním spojených zdravotních komplikací. Za rizikový faktor je potvrzen vzrůstající trend výskytu prvních pozitivních záchytů u pacientů v nemocniční péči. Za konkrétní rizikové faktory vyplývající z mé diplomové práce můžeme považovat prostředí Kliniky gerontologické a metabolické a její Lůžkové oddělení A. Dalším rizikovým faktorem je prostředí jednotky intenzivní péče či nechirurgické kliniky. Významným rizikovým faktorem je také věk. Infekce těmito multirezistentními kmeny nadále zůstávají problémem starších pacientů, nejvíce v rozmezí 56 – 75 roky.

Důležitým předpokladem v prevenci šíření je správná lékařská a ošetrovatelská péče.

Důležité pro prevenci rezistencí je dodržování předepsaných pokynů v rámci prevence nebo již ve vzniklém ohnisku infekce. Dát co největší prostor pro cílenou léčbu úzkospektrými ATB, důsledně dodržovat bariérové ošetřování a izolace pozitivních pacientů.

Antibiotika ztrácejí svou klinickou účinnost v důsledku narůstající a rychle se šířící rezistence mikrobů, jejíž příčinou vzestupu je časté nadužívání a nesprávné používání antibiotik v humánní medicíně. K šíření rezistence přispívají i nedostatky v oblasti prevence a kontroly infekcí ve zdravotnických zařízeních i v běžné populaci. Na základě toho byl ustanoven Národní antibiotický program, který byl vládou schválen dne 4. května 2009. Cílem Národního antibiotického programu je zajištění dlouhodobě dostupné, účinné, bezpečné a nákladově efektivní antibiotické léčby infekčních onemocnění. Hlavní činností Národního antibiotického programu je formulace a průběžná aktualizace zásad národní antibiotické politiky, sledování a analýza ATB rezistence, sledování a analýza strukturované spotřeby a používání ATB nebo realizace opatření zaměřených na prevenci a kontrolu infekcí. (Šturma, 2010)

11 Závěr

Escherichia coli patří mezi nejběžnější patogeny vyskytující se v nemocnicích. V současné době představuje bakteriální rezistence vůči antibiotikům velký klinický problém na celém světě, který může vést potenciálně k selhání léčby nebo dokonce k smrti pacienta, kde rezistentní bakterie jsou etiologickou agens závažných onemocnění. Rezistence k antibiotikům je celosvětově diskutovaným problémem nejen u *Escherichia coli*, ale i jiných patogenů. Někdy bývá *Escherichia coli* zastíněna právě jinými patogeny jako Methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*, Vancomycin rezistentní enterokoky nebo *Klebsiella pneumoniae* a dalšími. Multirezistence bývá spojena především s nadužíváním antibiotik. Proto přísná indikace antibiotik a dodržování správné antibiotické praxe je prvním krokem v boji proti infekcím způsobené multirezistentními kmeny.

12 Seznam literatury

AL-JASSER, A. M.. Extended spectrum beta-lactamases (ESBLs): A Global Problem. *Kuwait Medical Journal*. 2006. r. 38, č. 3, s. 171 - 185.

Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARSS-Net).

ARLET, G., BRAMI, G., DECRE, D. et al. Molecular characterisation by PCR-restriction fragment length polymorphism of TEM β -lactamases. *FEMS Microbiology Letters*, 1995, roč. 134, č. 2 - 3, s. 203 – 208.

BEDNÁŘ, M. *Lékařská mikrobiologie – bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha, 1. vydání, Triton, 1996, 560 s., ISBN: 80-2380-297-6

BEHARKA, R., PACÍK, D. Infekce močových cest v gerontologii. *Česká geriatrická revue*. 2004, roč. 4, č. 3, s. 19 – 23.

BETRIU, C., RODRÍGUEZ-AVIAL, I. GÓMEZ, M. et al. Antimicrobial activity of tigecycline against clinical isolates from Spanish medical centers. Second multicenter study. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, roč. 56, č. 4, s. 437 – 444.

BONACORSI, S., BINGEN, E. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* causing neonatal meningitis. *International Journal of Medical Microbiology*, 2005, roč. 295, č. 6 – 7, s. 373 - 381.

BONACORSI, S., LEFÉVRE, S., CLERMONT, O. et al. *Escherichia Coli* strains causing urinary tract infection in uncircumcised infants resemble urosepsis-like adult strains. *Journal Urology*, 2005, roč. 173, č. 1, s. 195 - 197.

BORRIELLO, S., MURRAY, P. R., FUNKE, G. *Topley and Wilson Microbiology and microbial infections*. London, 2005, 10th ed. : Hodder Arnold, 3500 s., ISBN 978-0-470-68638-6.

BRANDFORD, P. A. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin. Microb. Rev.* 2001, roč. 14, č. 4, s. 933 - 951.

BUSH, K., JACOBY, G. A. and MEDEIROS, A. A functional Classification Scheme for β -Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995, roč. 39, č. 6, s 1211 - 1233.

CASELLI, E., POWERS, R. A., BLASCZAK, L. C. et al. Energetic, structural, and antimicrobial analyses of L-lactam side chain recognition by L-lactamases. *Chemistry & Biology*, 2001, roč. 8, č. 1, s. 17 – 31.

DRAWZ, S. M., BONOMO, R. A. Three Decades of β -Lactamase Inhibitors. *Clin Microbiol Rev.*, 2010, roč. 23, č. 1, s. 160 – 201.

FUJITA, K., SILVER, J. Single-strand conformational polymorphism. *Genome Research*, 1994, roč. 4, č. 3, s. 137 - 140.

GIDDEN, J., DENSON, J., LYIANAGE, R. et al. Lipid compositions in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* during growth as determined by MALDI-TOF and TOF/TOF mass spektrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*. 2009, roč. 283, č. 1 – 3, s. 178 - 184

GREENWOOD, D., SLACK, R., PEUTHERER, J. et al. *Medical microbiology*. Seventeenth edition, Churchill Livingstone elsevier, 2007, ISBN: 978-0-443-10209-7.

HOŘEJŠÍ, V., BARTUŇKOVÁ, J. *Základy imunologie*. Triton, Praha, 2009, 4. vydání, 316 s., ISBN: 978-80-7387-280-9

HRABÁK, J. Klinicky významné β -laktamázy gramnegativních bakterií: širokospektré β -laktamázy (ESBL). *Epidemiologie, Mikrobiologie, Imunologie*. 2007a, r. 56, č. 3, s. 13 - 111.

HRABÁK, J. Klinicky významné β -laktamázy gramnegativních bakterií: AmpC. *Epidemiologie, Mikrobiologie, Imunologie*. 2007b, r. 56, č. 4, s. 155 - 165.

HRABÁK, J., VANÍŠ, V., BERGEROVÁ, T. a kol. Průkaz beta-laktamáz širokého spektra (ESBL) a typu AmpC u enterobakterií. 2008. [cit. 13. 12. 2012] Dostupně na: <http://www.szu.cz/prukaz-beta-laktamaz-sirokeho-spektra-esbl-a-typu-ampc-u?highlightWords=beta-laktamaz>.

HRABÁK, J., BERGEROVÁ, T., ŽEMLIČKOVÁ, H. et al. Detekce širokospektrých β -laktamáz (ESBL), β -laktamáz AmpC, metalo- β -laktamáz (MBL) a karbapenemáz KPC u gramnegativních tyček. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie (SZÚ, Praha)*, 2009, roč. 18, č. 3, s. 100 - 106.

CHROMÁ, M., KOLÁŘ, M. Genetic methods for detection of antibiotic resistance: focus on extended – spectrum β -lactamases. *Department of Microbiology. Palacky University Olomouc*, 2010, roč. 154, č. 4, s. 289 – 296.

JINDRÁK, V. URBÁŠKOVÁ, P. NYČ, O. Fluorochinolony – kriticky ohrožená skupina antibiotik. *Practicus*. 2007, roč. 6, č. 1, s. 6 - 11.

JOHNSON, J. R., RUSSO, T. A. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. *International Journal of Medical Microbiology*, 2005, roč. 295, č. 6 - 7, s. 383 – 404.

KARLOWSKY, J. A. et al. Genetic relatedness of multidrug-resistant *Escherichia coli* cultured from geographically diverse outpatient, midstream urine specimen. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2007, roč. 58, č. 3, s. 283 - 287.

KHAN, A. S., DANCER, S. J., HUMPHREYS, H. Priorities in the prevention and control of multidrug-resistant Enterobacteriaceae in hospitals. *Journal of Hospital Infection*, 2012, roč. 82, č. 2, s. 85 - 93.

KIM, K. S. *Escherichia coli* translocation at the bloodbrain barrier. *Infect. Immun.* 2001, roč. 69, č. 9, s. 217 – 222.

KIRATISIN, P., TIENGRIM, S., YUNGYUEN, T. et al. In Vitro Activity of Colistin and Tigecycline Against Extended-Spectrum-Beta-Lactamase (ESBL)-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Patients in Siriraj Hospital. *J infect dis antimikrob agents*, 2006, roč. 23, č. 1, s. 21 - 24.

KOLÁŘ, I., URBÁNEK, K., ČEKANOVÁ, L. Podklady pro racionální antibiotickou léčbu komunitních bakteriálních infekcí. *Klinická farmakologická farmacie*, 2003, roč. 1, s. 22 – 24.

KOLÁŘ, M. Stoupající odolnost bakterií k antibiotikům – výzva pro farmakoterapii 21. století. *Farmakologie*, 2012, roč. 1, č. 6, s. 9 – 12.

KOLÁŘ, M., URBÁNEK, K., LOCHMANNOVÁ, J. Výchozí zdroje racionální antibiotické léčby bakteriálních infekcí. *Praktické lékárnictví*, 2006, roč. 1, č. 5, s. 20 - 23.

LI, J., NATION, R. L., TURNIDGE, J. D. et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *The Lancet Infectious Diseases*, 2006, roč. 6, č. 9, s. 589 – 601.

LITZMAN, J., FREIBERGER, T., KRŠL, V. et al. *Základy vyšetření v klinické imunologii*. Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, 2007, 59 s., ISBN: 978-80-210-4227-8

LIVERMORE, D. M. Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiol. Review*, 1995, roč. 8, č. 4, s. 557 - 584.

MACKAY, I. M. Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clinical Microbiology Infect*, 2004, roč. 10, s. 190 – 212.

MAJIDUDDIN, F. K., MATERON, I. C., PALZKILL, T. G. Molecular analysis of beta-lactamase structure and function. *International Journal of Medical Microbiology*, 2002, r. 292, č. 2, s. 127 – 137.

MAHON, C. R., LEHMAN, D. a MANUSELIS, G. *Textbook of diagnostic microbiology*. Fourth edition. Maryland, Saunders elsevier, 1995, 1080 s., ISBN: 978-1-4160-6165-6 .

MAREK, J. a kol. *Farmakoterapie vnitřních nemocí*. Grada, 4. vydání, Praha, 2010, 808 s., ISBN: 978-80-247-2639-7

Opatření k prevenci přenosu infekčních agens ve FNHK. Fakultní nemocnice Hradec Králové, 2012.

PATEROVÁ, P. Přehled rezistence bakterií na antibiotika. Fakultní nemocnice Hradec Králové, 2012.

PATERSON, D. L., BONOMO, R. A. Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. *Clinical Microbiology Reviews*. 2005, r. 18, č. 4, s. 657 - 686.

PITOUT, J. D. D., LAUPLAND, K. B. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *The Lancet Infectious Diseases*. 2008, roč. 8, č. 3, s. 159 - 166.

RODRIGÚEZ-BANO, J. NAVARRO, M. D., ROMERO, L. et al. Epidemiology and Clinical Features of Infections Caused by Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Nonhospitalized Patients *Journal of clinical microbiology*, 2004, roč. 42, č. 3, s. 1089 - 1094.

RODRIGÚEZ-BANO, J. NAVARRO, M. D., ROMERO, L. et al. Clinical and Molecular Epidemiology of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* as a Cause of Nosocomial Infection or Colonization: Implications for Control. *Clin Infect Dis.*, 2006, roč. 42, č. 1, s. 37 - 45.

RUPP, M. E., FEY, P. D. Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL)-Producing Enterobacteriaceae Considerations for Diagnosis, Prevention and Drug Treatment. *Drugs*, 2003, roč. 63, č. 4, s. 353 – 365.

SHAH, A. A., HASAN, F., AHMED, S. a kol. Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of Gram-negative bacilli producing extended-spectrum β -lactamases. *Research in Microbiology*. 2004, r. 155, č. 6, s. 409 – 421.

SCHINDLER, J. *Mikrobiologie pro studenty zdravotnických oborů*. Praha, 2010, Grada, první vydání, 248 s., ISBN: 978-80-247-3170-4.

SCHINDLER, J. *Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogenese, imunita, laboratorní diagnóza a epidemiologie*. Praha, 1999, Grada, první vydání, 686 s., ISBN: 80-7169-365-0.

ŠTERMA, J. Národní antibiotický program – ustavení a struktura. Sekretariát národního antibiotického programu (SNAP), 2010. [cit. 14. 4. 2013] Dostupné na:
<http://www.splm.cz/dokumenty/PS_ATB.pdf >

TALARO, K. P., COWAN, K. *Microbiology a systems approach*. Second edition. New York, Mc Graw–hill international edition, 2009, 785s., ISBN: 0071287779.

TOMANICEK, S. J. et al. The active site protonation states of perdeuterated Toho-1 b-lactamase determined by neutron diffraction support a role for Glu166 as the general base in acylation. *FEBS Letters*. 2011, r. 585, č. 2, s. 364 - 368.

TIMOTHY, J. A. DNA microarrays in medical practice. *BMJ*, 2001, roč. 323, s. 611 – 615.

VOTAVA, M. a kol. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno, 2003, Neptun, první vydání, 495 s., ISBN 80-902896-6-5.

VOTAVA, M. a kol. *Lékařská mikrobiologie vyšetřovací metody*. Brno, 2010, Neptun, první vydání, 495 s., ISBN 978-80-86850-04-8.

Výroční zpráva za rok 2008, Fakultní nemocnice Hradec Králové, [cit. 11. 3. 2013]
Dostupně na: <<http://fnhk.cz/o-fakultni-nemocnici/vyrocnizpravy>>.

Výroční zpráva za rok 2009, Fakultní nemocnice Hradec Králové, [cit. 11. 3. 2013]
Dostupně na: <<http://fnhk.cz/o-fakultni-nemocnici/vyrocnizpravy>>.

Výroční zpráva za rok 2010, Fakultní nemocnice Hradec Králové, [cit. 11. 3. 2013]
Dostupně na: <<http://fnhk.cz/o-fakultni-nemocnici/vyrocnizpravy>>.

Výroční zpráva za rok 2011, Fakultní nemocnice Hradec Králové, [cit. 11. 3. 2013]
Dostupně na: <<http://fnhk.cz/o-fakultni-nemocnici/vyrocní-zpravy>>.

WIEDMANN, M., WILSON, W. J., CZAJKA, J. Ligase chain reaction (LCR) – overview and applications. *PCR Methods Appl*, 1994, roč. 3, č. 4, s. 51 - 64.

WIESER, A., SCHNEIDER, L., JUNG, J. et al. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics – identification of microorganisms and beyond (mini review). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, roč. 93, č. 3, s. 965 – 974.

WILSON, B. A. et al. *Bacterial pathogenesis: a molecular approach*. Washington, 2002, American Society for Microbiology Press, third edition, 526 s., ISBN: 978-1-55581-418-2

ZALAGAS, M. E., KARAGEORGOPOULOS, D. E. Extended-spectrum b-lactamase-producing organisms. *Journal of Hospital Infection*. 2009, r. 73, č. 4, s. 345-354.

13 Seznam obrázků

Obrázek 1 <i>Escherichia coli</i> na krevním agaru	14
Obrázek 2 Biochemické testy pozitivní výsledek	16
Obrázek 3 Biochemické testy negativní výsledek	16
Obrázek 4 Působení patogenní <i>Escherichia coli</i> ve střevě	21
Obrázek 5 Chemické schéma penicilinů s označením štěpení β -laktamáz	24
Obrázek 6 Klasifikační schéma dle Bushe, dle Amblera	25
Obrázek 7 Diskový difúzní test	30
Obrázek 8 Mikrodiluční metoda	31
Obrázek 9 E - test pro průkaz širokospektrých β -laktamáz	32
Obrázek 10 Vyšetření produkce ESBL	33
Obrázek 11 Expres β -laktamázy AmpC za přítomnosti induktoru	34
Obrázek 12 Konstitutivní produkce ESBL a AmpC	35
Obrázek 13 Stupeň rozšíření izolátů <i>Escherichia coli</i> rezistentní k III. generaci cefalosporinů v roce 2011	43

14 Seznam tabulek

Tabulka 1 Přiřazení píků hmotnostních spekter <i>Escherichia coli</i>	38
Tabulka 2 Rozdělení materiálů dle klinických systémů.....	50
Tabulka 3 Přehled jednotlivých klinik ve FNHK.....	52
Tabulka 4 Rozdělení klinik ve FNHK na chirurgické a nechirurgické obory.....	52
Tabulka 5 Přehled oddělení intenzivní péče ve FNHK.....	53
Tabulka 6 Počet hospitalizovaných pacientů v jednotlivých letech	53
Tabulka 7 Počet hospitalizovaných pacientů na jednotlivých klinikách	53
Tabulka 8 Počet operovaných a neoperovaných pacientů ve FNHK v jednotlivých letech	54
Tabulka 9 Počet pacientů hospitalizovaných na intenzivním nebo standardním oddělení ve FNHK v jednotlivých letech	54
Tabulka 10 Počet hospitalizovaných mužů a žen ve FNHK v jednotlivých letech	54
Tabulka 11 Výskyt pozitivních izolátů v letech 2008 - 2012.....	55
Tabulka 12 Přepočet výskytu pozitivních izolátů na 1000 hospitalizovaných pacientů v letech 2008 - 2012	56
Tabulka 13 Celkový přehled pozitivního materiálu v letech 2008 - 2012	57
Tabulka 14 Srovnání jednotlivých klinik FN HK v letech 2008 - 2012 podle četnosti prvního pozitivního záchytu	61
Tabulka 15 Přepočet pozitivních izolátů na jednotlivých klinikách přepočítaných na 1000 hospitalizovaných pacientů v letech 2008 - 2012	63
Tabulka 16 Výskyt pozitivních izolátů na odděleních gerontologické a metabolické kliniky.....	64
Tabulka 17 Srovnání výskytu na chirurgických a nechirurgických oborech v letech 2008 - 2012	66
Tabulka 18 Přepočet pozitivních izolátů přepočítaných na 1000 hospitalizovaných pacientů v letech 2008 - 2011.....	67
Tabulka 19 Srovnání výskytu pozitivních izolátů na intenzivních a standardních odděleních v letech 2008 - 2012.....	69
Tabulka 20 Přepočet pozitivních izolátů přepočítaný na 1000 hospitalizovaných pacientů v letech 2012 - 2012.....	71
Tabulka 21 První a opakovaný záchyt podle věkového rozmezí v letech 2008 - 2012	72
Tabulka 22 Srovnání zastoupení pohlaví pozitivních pacientů v letech 2008 – 2012.....	73
Tabulka 23 Přepočet pozitivních izolátů podle pohlaví na 1000 hospitalizovaných pacientů v letech 2012 - 2012.....	74
Tabulka 24 Záchyt pozitivních izolátů v letech 2008 - 2012 v závislosti na ročním období.....	74

Tabulka 25 Výskyt pozitivních vzorků v jednotlivých měsících v letech 2008 – 2012.....	75
Tabulka 26 Srovnání typů rezistence v letech 2008 - 2012.....	76
Tabulka 27 Srovnání výskytu rezistence k antibiotikům v letech 2008 - 2012	77

15 Seznam grafů

Graf 1 Zastoupení pozitivních izolátů ve FNHK v letech 2008 – 2012.....	55
Graf 2 Přehled výskytu pozitivních izolátů <i>Escherichia coli</i> ve FNHK v letech 2008 – 2012.....	56
Graf 3 Přehled výskytu pozitivních izolátů <i>Escherichia coli</i> ve FNHK v letech 2008 – 2012.....	57
Graf 4 Přehled pozitivního klinického materiálu podle záchytu v letech 2008 – 2012.....	58
Graf 5 Přehled pozitivních vzorků moče podle záchytu za časové období 2008 - 2012	59
Graf 6 Přehled pozitivních vzorků rány a hnisu podle záchytu v letech 2008 – 2012.....	59
Graf 7 Přehled pozitivních vzorků hemokultur v letech 2008 – 2012.....	60
Graf 8 Srovnání klinik FNHK v letech 2008 - 2012 podle četnosti prvního pozitivního záchytu .	62
Graf 9 Výskyt pozitivních izolátů na jednotlivých odděleních Kliniky gerontologické a metabolické v letech 2008 - 2012	64
Graf 10 Výskyt pozitivních izolátů na oddělení gerontologické a metabolické kliniky podle materiálu v letech 2008 - 2012	65
Graf 11 Srovnání výskytu na chirurgických oborech v letech 2008 – 2012	66
Graf 12 Srovnání výskytu na nechirurgických oborech v letech 2008 - 2012	66
Graf 13 Zastoupení jednotlivých klinických materiálů na chirurgických oborech v letech 2008 – 2012.....	67
Graf 14 Zastoupení jednotlivých klinických materiálů na nechirurgických oborech v letech 2008 - 2012	68
Graf 15 Srovnání výskytu na standardních odděleních v letech 2008 – 2012	69
Graf 16 Srovnání výskytu na intenzivních odděleních v letech 2008 – 2012.....	69
Graf 17 Zastoupení klinických materiálů ve standardní péči v letech 2008 - 2012	70
Graf 18 Zastoupení klinických materiálů v intenzivní péči v letech 2008 - 2012	71
Graf 19 Četnost prvního a opakovaného pozitivního záchytu podle věkového rozmezí pacientů v letech 2008 – 2012	72
Graf 20 Srovnání zastoupení pohlaví pozitivních pacientů v letech 2008 - 2012	73
Graf 21 Srovnání pozitivních izolátů v letech 2008 - 2012 v závislosti na ročním období	74
Graf 22 Výskyt pozitivních vzorků v jednotlivých měsících v letech 2008 – 2012	75
Graf 23 Zastoupení jednotlivých typů rezistence ve FNHK.....	76
Graf 24 Zastoupení jednotlivých typů rezistence v letech 2008 – 2012	77