

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta

**Charakteristika a výskyt methicilin rezistentních izolátů
bakteriálního druhu *Staphylococcus aureus* (MRSA) z krve
pacientů nemocnic ČR a Evropy**

Bakalářská práce

Autorka: Renata Vobrová

Vedoucí práce: MUDr. Magdalena Horníková

2008

The Characteristics and the Occurrence of Methicillin Resistant Staphylococcus (MRSA) from the Blood of Patients of Hospitals in the CR and Europe

The thesis called The Characteristics and the Occurrence of Methicillin Resistant Staphylococcus (MRSA) from the Blood of Patients of Hospitals in the CR and Europe is divided into a theoretical and a practical part. In the practical part the methodology at detection and identification of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is specified in detail – exact procedures and principles of particular methods. Further there are the graphically and statistically processed data on MRSA capture in 2007, 2008 (The regions of České Budějovice and Český Krumlov). By the help of these data I was supposed to prove or disprove the stated hypotheses.

Hypothesis no. 1: The capture of increased occurrence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the course of period of time (2007-2008). The hypothesis was unambiguously disproved.

Hypothesis no. 2: The connection of bloodstream infections caused by MRSA to the cannulation of patients. The hypothesis was proved.

Hypothesis no. 3: The increased occurrence of bloodstream infections caused by MRSA in connection to the higher number of infections caused by MRSA generally (with higher capture of MRSA generally). It is not possible to say if the hypothesis was proved or disproved. In case of the total number the hypothesis was proved. In case of age groups it was not proved.

The main objective was to tip the risky departments, risky age groups and so on. I referred to the situation in chosen European states. I achieved the objective thanks to the graphical processing of the gained data.

Na tomto místě bych chtěla poděkovat MUDr. Magdaleně Horníkové za trpělivost, vstřícnost a cenné rady při vedení mé bakalářské práce. Dále paní Libuši Lagronové za její čas a ochotu. V neposlední řadě také mé rodině, která mě podporovala.

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Charakteristika a výskyt methicilin rezistentních izolátů bakteriálního druhu *Staphylococcus aureus* (MRSA) z krve pacientů nemocnic ČR a Evropy vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě/v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zdravotně sociální fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 4.5. 2009

Vobrová Renata

OBSAH

Úvod.....	7
1. Současný stav.....	8
1.1. Charakteristika Rodu Staphylococcus	8
1.1.1. Morfologie	8
1.1.2. Metabolizmus.....	9
1.1.3. Rezistence	9
1.1.4. Kultivace	9
1.1.5. Lokalizace <i>S. aureus</i> na těle	10
1.2. Koaguláza-pozitivní stafylokoky	10
1.2.1. Mikroskopie	11
1.2.2. Antigenní stavba	11
1.2.3. Genetika	11
1.2.4. Patogenita.....	12
1.2.5. Patogeneze	13
1.2.6. Faktory virulence	13
1.2.7. Léčba.....	14
1.3. Hygienická opatření.....	16
1.3.1. Epidemiologická charakteristika MRSA	16
1.3.2. Rizikový pacient	16
1.3.3. Zjištění přítomnosti MRSA	17
1.3.3.1. Izolace	17
1.3.3.2. Režimová opatření.....	18
1.3.3.3. Personální problematika	19
1.4. Infekce krevního řečiště.....	19
1.4.1. Sepse	21
1.5. Nosokomiální nákazy	22
1.5.1. Dělení nosokomiálních nákaz podle původu vyvolávajícího agens	22
1.5.2. Dělení nosokomiálních nákaz podle epidemiologického hlediska.....	23
1.5.3. Zdroje nosokomiálních nákaz	23

1.5.4.	Cesty přenosu původců nosokomiálních nákaz	24
1.5.5.	Nosičství MRSA	25
1.5.6.	Terapie MRSA	25
2.	Cíl práce a hypotézy	27
2.1.	Cíl práce	27
2.2.	Hypotézy	27
3.	Metodika kultivace z klinického materiálu	27
3.1.	Transport klinického materiálu	27
3.2.	Kultivační půdy, kultivace	28
3.3.	Mikroskopie	28
3.4.	Vyhledávací testy	28
3.5.	Kvalitativní latexová aglutinace	30
3.6.	Hemokultivace	31
3.6.1.	Kultivační media	32
3.6.2.	Používané systémy, podmínky kultivace	32
3.6.3.	Zpracování pozitivních hemokultur	32
4.	Vlastní výzkum	34
4.1.	Charakteristika sledovaného souboru	34
4.2.	Grafické znázornění	35
4.3.	Situace ve vybraných Evropských státech	43
5.	Diskuze	49
6.	Závěr	51
7.	Seznam použité literatury	53
8.	Klíčová slova	54
9.	Přílohy	55

Úvod

Jeden z důvodů, proč jsem si vybrala téma zabývající se problematikou MRSA, tedy methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus* je, že mikrobiologie jako taková mne zajímala již na střední škole. Myslím, že hlavně díky kvalitně vedené výuce. Dalším důvodem, proč jsem si vybrala problematiku MRSA, je i určitá osobní zkušenost s tímto bakteriálním druhem a problémy souvisejícími s jeho léčbou. V neposlední řadě pak výskyt MRSA jako ukazatel kvality současné zdravotnické péče.

Bakteriální druh methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus* je charakterizován jako hloučky gram-pozitivních sférických koků. Jejich průměr se pohybuje okolo 1 μm . Jsou nepohyblivé, nesporulující a většinou neopouzdřené. Objevují se buď jednotlivě, ve dvojicích či nepravidelných shlucích, nebo v hrozníčcích. Rezistence je způsobena produkcí alterovaného enzymu s názvem penicilin binding protein 2a, který má nízkou afinitu ke všem β -laktamovým antibiotikům. (1,5)

Má práce je rozdělena do dvou částí. První je část teoretická, ve které se zabývám podrobnou charakteristikou rodu *Staphylococcus aureus*. Součástí teoretické části je i popis hygienických opatření, která zahrnují epidemiologickou charakteristiku MRSA, rizikové pacienty, režimová opatření atd. Druhá část je část praktická. V té se zabývám jednotlivými metodami pro vyhledávání a identifikaci MRSA a jejich principy. V této části jsem také graficky a statisticky zpracovala data související s výskytem MRSA nasbíraná v časovém rozmezí let 2007 až 2008.

Cílem mé práce je seznámit se s problematikou MRSA, získat znalosti o mikrobiologických vyšetřovacích metodách a způsobu monitorování. Dále se seznámit s opatřeními, která se z hlediska epidemiologického podnikají, vytipovat riziková pracoviště, rizikové pacienty a další rizikové faktory související s kolonizací ev. infekcí MRSA.

1. Současný stav

Bakterie rodu *Staphylococcus aureus* (resp. MRSA) provázejí lidstvo již dlouhý čas. Komplikují hojení ran a jejich léčba může být zdlouhavá. Izolace prvních kmenů proběhla již v šedesátých letech ve Velké Británii. Stalo se tak po zavedení penicilinů rezistentních k penicilináze. Jsou to methicilin, oxacilin a další. Kmenů produkujících penicilinázu je dnes většina (cca. 90%). Pro získání užitečnějších farmakologických vlastností a hlavně širšího spektra účinnosti docházelo k postupné modifikaci původní penicilinové molekuly. (1)

U kmenů je také častý výskyt multirezistence tzn. současné rezistence i k jiným ATB skupinám. Jejich výskyt je častý převážně v nemocnicích, ale i u nosičů mimo zdravotnická zařízení.

V České republice je nyní výskyt rezistence k oxacilinu cca. 10% u *Staphylococcus aureus* (MRSA) a 30% u stafylokoků s negativní plasmakoagulázou (MRSE). (1)

1.1. Charakteristika Rodu *Staphylococcus*

Do rodu *Staphylococcus* bylo doposud zařazeno kolem 40 druhů a poddruhů, z nichž jen některé se uplatňují v humánní medicíně. Z hlediska patogenity mají pro člověka největší význam koaguláza-pozitivní druh *S.aureus* a koaguláza-negativní druhy *S.epidermidis* a *S.saprophyticus*. (1)

1.1.1. Morfologie

Stafylokoky jsou charakterizovány jako gram-pozitivní, nesporulující, nepohyblivé a většinou neopouzdržené sférické koky o průměru asi 1µm. Vyskytují se jednotlivě, ve dvojicích a v nepravidelných shlucích (především v klinickém materiálu), nebo v hrozníčcích (spíše v kulturách z kultivačních půd). (1)

1.1.2. Metabolismus

Stafylokoky mají většinou fermentační (anaerobní proces) i respirační (aerobní proces) typ metabolismu. Na rozdíl od streptokoků produkují katalázu. Při zkvašování řady cukrů tvoří kyseliny nikoli však plyn. Produkce D nebo L izoméru kyseliny mléčné při anaerobní utilizaci glukózy je užitečným taxonomickým kritériem. (1,12)

1.1.3. Rezistence

Stafylokoky jsou do značné míry rezistentní k nepříznivým vlivům zevního prostředí. Odolávají zahřátí na 55 °C po dobu 30 minut, vysychání (zvláště za přítomnosti bílkovin přežívají až několik týdnů, např. v zaschlém hnisu) a odolávají vyšším koncentracím NaCl. Tyto vlastnosti zřejmě umožňují přechodné (transrezidentní) nebo i trvalé (rezidentní) osídlení určitých kožních oblastí některými stafylokokovými druhy. Tolerance k 10% koncentraci NaCl v kultivačním médiu lze využít pro selektivní izolaci stafylokoků ze silně kontaminovaného materiálu, jakým jsou některé potraviny, výkaly nebo také sliznice a povrch těla zvířat. V selektivních půdách odolávají přítomnosti lithia, glycinu a telluricitanu. Naopak jsou citlivější než gramnegativní mikrobi vůči nenasyceným mastným kyselinám a bazickým barvivům. Pomnožují se i na půdách obsahujících až 40% žluči. Z dezinfekčních prostředků jsou poměrně odolné vůči fenolu a sloučeninám rtuti. Alkohol, zvláště ve vyšších koncentracích, je spíše konzervuje než hubí. (1,13)

1.1.4. Kultivace

Fakultativně anaerobní stafylokoky jsou poměrně nenáročné na kultivační podmínky. Rostou dobře na obyčejném živném agaru, stejně jako na agaru se srdečnou a mozkovou infuzí, případně s ovčí krví. Na pevných pomnožovacích půdách vyrůstají do 24 hod. inkubace při 37 °C v okrouhlých, hladkých, lesklých, lehce konvexních a mazlavých koloniích o průměru 1–3 mm. V bujónu vytvářejí bohatý zákal a sediment.

Některé druhy produkují ve vodě nerozpustné pigmenty karotenového typu, které zabarvují kolonie krémově, žlutě až oranžově. Nepigmentující stafylokoky se pomnožují v šedých nebo bílých koloniích. (1)

1.1.5. Lokalizace *S. aureus* na těle

S. aureus je považován za normální mikroflóru. Patří tedy mezi mikroby, které běžně nacházíme u zdravých jedinců. Člověk je od prvních dnů života kolonizován stafylokoky, poněkud více na kůži rukou, perinea, vlasů a na sliznici dýchacího a zažívacího traktu. Při rutinním vyšetření lze *S. aureus* prokázat v horních dýchacích cestách u 20 až 50 % osob. Asi třetina této pozitivní populace patří k trvalým nosičům a zbývající dvě třetiny k nosičům občasným. Pokud se ovšem využije speciální odběrové techniky, selektivních půd a opakovaných odběrů z různých míst organismu, stoupá záchyt tohoto druhu vysoko až k 100 % (zvláště u zdravotníků). (1,12)

Nosičství stafylokoků zdravý organismus nepoškozuje, ale naopak působí jako imunizační stimul, který vede k poměrně dobré odolnosti vůči infekci. K onemocnění dochází jen při oslabení obranných schopností a při porušení integrity kůže a sliznic. Zdrojem infekce je člověk, zdravý nosič nebo nemocný s otevřenou zánětlivou lézí. Přenos se děje vzdušnou cestou, přímým stykem i nepřímo. Možná je také endogenní infekce vlastním kmenem. (1)

1.2. Koaguláza-pozitivní stafylokoky

Podle produkce koagulázy-enzymu, který mění fibrinogen na fibrin, se rod rozlišuje na dvě velké skupiny: koaguláza-pozitivní a koaguláza-negativní stafylokoky. *Staphylococcus aureus* se řadí do koaguláza pozitivní skupiny. Je to biochemicky velice aktivní bakteriální druh. Produkuje řadu komplexních látek buněčné stěny, exoenzymů a toxinů, z nichž se mnohé uplatňují jako faktory virulence. Je dobře adaptovaný ke

kolonizaci kůže a sliznic a spolu se streptokoky patří mezi nejčastější původce pyogenních infekcí nebo intoxikací člověka a zvířat. (1,16)

1.2.1. Mikroskopie

Mikroskopicky nelze jednoznačně odlišit *S. aureus* od ostatních stafylokoků. Podrobněji se dourčuje stafyfenotypová morfologie. (13)

1.2.2. Antigenní stavba

Buněčná stěna stafylokoků obsahuje peptidoglykan, kyselinu teichoovou a protein A. Stafylokokový peptidoglykan (murein) má na všech zbytcích kyseliny N-acetyl muramové tetrapeptidy, které jsou napříč pospojované pentaglycinovými můstky. Peptidoglykan účinkuje podobně jako endotoxin, podněcuje uvolňování cytokinů z makrofágů, aktivaci komplementu a shlukování krevních destiček. Hlavní determinantou všech kmenů *S. aureus* je skupinově specifický polysacharid A složený hlavně z ribitolových podjednotek kyseliny teichoové. Uplatňuje se v adhezi na sliznice a rány, kde se kyselina teichoová váže na fibronektin. Protein A je hlavní bílkovinnou součástí buněčné stěny a společným skupinovým antigenem většiny kmenů. Důležitá je jeho schopnost nespecificky reagovat s Fc-fragmentem imunoglobulinů, čímž chrání stafylokoka před opsonizací protilátkami, jakož i jeho schopnost působit proti účinku komplementu a fagocytů. U některých, zejména mukoidních kmenů, lze prokázat i kapsulární antigeny. Brání fagocytóze, existují v 11 antigenních typech a většina klinicky významných izolátů náleží typu 5 nebo 8. (13)

1.2.3. Genetika

Genom *S. aureus* obsahuje řadu profágů, transpozonů a inzerčních sekvencí. Pro *S. aureus* je typické, že přenos genů mezi kmeny se děje pomocí transdukce, čili

přenosem genetického materiálu z jedné bakteriální buňky do druhé pomocí virové částice. Uplatňují se zde temperované bakteriofágy, kde se virová částice množí. To se týká i genů rezistence na antibiotika umístěných na plasmidech. Genetická regulace exprese determinant virulence spočívá v tom, že během exponenciální fáze růstu jsou exprimovány především povrchové proteiny stafylokokoka, během fáze stacionární pak proteiny sekreční. (11,13,17)

1.2.4. Patogenita

Patogenita je schopnost mikrobiálního druhu vyvolat onemocnění konkrétního druhu hostitele. Asi třetina populace je bezpříznakovými nosiči *S. aureus*. Nejčastějšími stafylokokovými infekcemi jsou hnisavá (purulentní, suppurativní) onemocnění kůže a jejích adnex, tedy pyodermie. Zlatý stafylokok je nejčastějším původcem hnisání ran, ať se jedná o běžná povrchová zranění, popáleniny, nebo operační rány. Sám o sobě toho v čisté ráně schopen není, ke vzniku infekce je třeba, aby v ráně zůstalo cizí těleso – tříska, špína, stehy. Infikovaná rána bývá pro stafylokoky častou vstupní branou, odkud se dostávají do oblastí mizních uzlin, které se zanítí. Z nich do krevního oběhu. Dochází k bakteriémii, která může vést až k sepsi. Původní infekční ložisko u stafylokokových septik často nebývá prokázáno, většinou se totiž jedná o neškodnou ranku na kůži. Krví se *S. aureus* může zanést do vnitřních orgánů, kde může dojít ke vzniku abscesů. (1,13)

Nebezpečná je stafylokoková endokarditida, při níž na srdečních chlopních narůstají tzv. vegetace, skládající se ze stafylokoků obklopených mezibuněčnou hmotou. Jde tedy o zvláštní typ biofilmu, z něhož se uvolňují stafylokoky a jako septické vmetky (emboly) se roznášejí po těle a vyvolávají vznik metastatických abscesů v kůži, plicích, mozku či ledvinách. Stafylokokový zánět kostní dřene může vzniknout jak hematogenně, tak po úrazu. V blízkosti kloubů se komplikuje hnisavou artritidou. (13)

Ze stafylokokových infekcí respiračního traktu jsou běžné akutní záněty vedlejších dutin nosních. *S. aureus* vyvolává vzácně závažné sekundární pneumonie a

bronchopneumonie, nasedající na infekci virem chřipky. Příznaky dalších onemocnění jsou způsobeny vlivem stafylokokových toxinů. (13)

1.2.5. Patogeneze

Onemocnění, která zlatý stafylokok nejčastěji vyvolává, jsou hnisavá, případně s celkovými toxickými příznaky, nebo jde o otravy z potravin. Ke vzniku stafylokokových infekcí predisponují některá poranění (včetně popálenin a operačních ran, zvláště po dlouho trvajících břišních zákrocích), cizí tělesa (implantované pomůcky, ale i stehy), virové infekce (stafylokokové bronchopneumonie po chřipce), diabetes mellitus a malignity (z důvodu poruchy funkce fagocytů), imunodeficity. Zatímco benigní kožní infekce jsou časté, závažné stavy s postižením vnitřních orgánů a sepsí se obvykle vyskytují jen u predisponovaných jedinců. Charakteristickým rysem stafylokokových infekcí je sklon k tvorbě ohraničených zánětlivých ložisek - abscesů. Hnis uvnitř abscesu je tvořen rozpadajícími se leukocyty a bakteriemi. Stafylokokový hnis je smetanově žlutý a nepáchne. Nekrotické centrum abscesu je obklopeno relativně bezcévnou stěnou z fibrinu a fibroblastů, okolní tkáň je zanícená. U chronických stafylokokových infekcí se na vzniku příznaků podílí i pozdní přecitlivělost vůči stafylokokovým antigenům. (13)

1.2.6. Faktory virulence

Virulence je individuální schopnost patogenu (tedy viru či bakterie), která vyjadřuje stupeň patogenity určitého mikrobiálního kmene ve srovnání s ostatními kmeny daného druhu. Buňky *S. aureus* jsou vybaveny mnoha faktory virulence, které lze zhruba dělit na celulární a extracelulární. (13,18)

Z povrchových faktorů již byla řeč o účincích peptidoglykanu a proteinu A. Z dalších povrchových proteinů je to koagulasa neboli clumping factor, která váže fibrinogen a mění ho na fibrin, čímž vyvolává shlukování stafylokoků. Jedna teorie

praví, že fibrin uložený na povrchu stafylokoků působí jako účinná kamufláž jejich cizorodosti. Další povrchové proteiny se vážou např. na kolagen, elastin nebo fibronektin a umožňují tak stafylokokům adherovat na tkáň hostitele. (13)

Extracelulární faktory lze dělit na enzymy a toxiny. K enzymům patří koagulasa, katalasa, hyaluronidasa, lipasy, nukleasy, fibrinolysin a penicilinas. Mezi stafylokokové toxiny patří cytolyziny (hemolyziny), enterotoxiny, toxin syndromu toxického šoku, exfoliativní toxiny a Pantonův-Valentinův leukocidin (PVL). PVL tento dvousložkový toxin je spojován především se závažnými kožními a systémovými infekcemi a letální nekrotizující pneumonií. (4,13)

Koagulasa reaguje s plasmatickým faktorem za vzniku stafylothrombinu, který katalyzuje změnu fibrinogenu na fibrin. Snad jsou stafylokoky povlečené fibrinem neviditelné pro fagocyty, prokázáno to ale není. Rozhodně je tvorba fibrinu příčinou, proč stafylokokové infekce obvykle probíhají formou ohraničených ložisek a abscesů. Katalasa štěpí toxický peroxid vodíku. (13)

Hyalurodinasa štěpí kyselinu hyaluronovou v mezibuněčném tmelu a usnadňuje tak šíření stafylokoků ve tkáních. Lipasy pomáhají stafylokokům invadovat mazové žlázy a podkožní tkáň. Nukleasy jsou snad schopny napadat jádra leukocytů. Fibrinolysin zase fibrinové sraženiny rozpouští. Penicilinas (beta-laktamas) rozkládá čtyřčlenný beta-laktamový kruh a inaktivuje tak některá beta-laktamová antibiotika. (13)

Stafylokokové cytolyziny poškozují povrchovou membránu buněk. Patří k nim čtyři hemolyziny a leukocidin. Alfa-hemolyzin tvoří většina kmenů *S.aureus*. (13)

1.2.7. Léčba

U lokalizovaných stafylokokových infekcí stojí na prvním místě léčba chirurgická. Podle staré zásady *ubi pus, ibi evacua* (kde je hnis, tam jej vyprázdní) je třeba absces incidovat, hnis vypustit, odstranit případné cizí těleso a postarat se o řádnou drenáž, aby hnis mohl i nadále volně odtékat. (13)

Přes 90% kmenů *S.aureus* je dnes na penicilin rezistentních, protože získaly plasmid kódující schopnost tvořit penicilinasu, tedy beta-laktamasu specificky štěpící molekulu

penicilinu. Většina komunitních kmenů je u nás ještě stále citlivá na polosyntetické peniciliny, do jejichž molekuly byla vnesena vhodná skupina, která brání přístupu beta-laktamasy k citlivému místu na beta-laktamovém kruhu. Z těchto penicilinasorezistentních penicilinů máme k dispozici oxacilin. Většina kmenů zůstává citlivých i na linkosamidy, cotrimoxazol, aminoglykosidy. K léčbě ohraničených kožních infekcí a k odstranění nosního nosičství *S. aureus* slouží lokální antibiotikum ze zcela odlišné skupiny – mupirocin, event. antiseptické masti (př. Bactroban). (13)

Stejně jako v případě klasického penicilinu i u polosyntetických penicilinů se záhy objevily kmeny *S.aureus* na tato antibiotika rezistentní. Označují se zkratkou MRSA (*methicilin-resistant S.aureus*) a ve světě k nim patří asi polovina nemocničních kmenů. MRSA se čím dále častěji vyskytují i v našich velkých nemocnicích. Podstatou rezistence k oxacilinu je nejčastěji přítomnost genu *mecA*, jež kóduje pozměněný druh penicilinvázajícího proteinu PBP 2a. PBP jsou transpeptidasy účastníci se na výstavbě buněčné stěny a peniciliny inhibují jejich účinek, takže v důsledku narušené buněčné stěny se mikrobi rozpadají. Modifikovaný PBP 2a si zachovává svoji enzymatickou schopnost, ale peniciliny se na něj neváží. MRSA jsou od samého počátku rezistentní vůči všem beta-laktámům, včetně jejich kombinací s inhibitory beta-laktamas, tedy i ke karbapenemům a monobaktámům. Gen *mecA* však nemusí být exprimován, takže standardní diskový test citlivosti nemusí rezistenci k oxacilinu někdy odhalit. Platí to zejména pro tzv. heterorezistentní kmeny, které někdy obsahují extrémně nízký počet rezistentních buněk. K průkazu rezistence je pak nutno prokázat přítomnost genu *mecA* pomocí PCR nebo přítomnost jeho produktu, totiž PBP 2a, pomocí latexové aglutinace. Podstatné je, že MRSA se staly obvykle rezistentní i k řadě dalších antibiotik-především k aminoglykosidům, tetracyklinům, chloramfenikolu, fluorochinolonům a rifampicinu. (13)

1.3. Hygienická opatření

MRSA je epidemiologicky závažný bakteriální druh, proto je nutné všemi prostředky kontrolovat jeho šíření v populaci, zejména mezi pacienty v nemocničních zařízeních. (8)

1.3.1. Epidemiologická charakteristika MRSA

MRSA je rezistentní ke všem β -laktamovým antibiotikům a platí pro něj častý výskyt multirezistence. Pouze glykopeptidy, streptograminy a cotrimoxazol si zachovávají účinnost. Nově také tigecyclin ze skupiny glycylcyclinů a linezolid ze skupiny oxazolidinů. MRSA kolonizuje povrch těla člověka bez příznaků onemocnění. Způsobuje zánět traumatizovaných a devitalizovaných tkání a také v místě zavedeného cizího tělesa (např. kanyla, šicí materiál, atd.) (8)

Jako zdroj nákazy může být asymptomatický nosič (pacient, personál), nebo symptomatický nosič (nejčastěji pacient). (8)

Cesty přenosu se dějí:

- endogenně: z primárního ložiska dochází k hematogennímu rozsevu a tvorbě metastatických ložisek.
- exogenně:
 - a) přímo
 - kontaktem (rukama personálu, zejména při ošetřování ran)
 - vzduchem (kapénkami)
 - b) nepřímo
 - z prostředí (prostřednictvím přístrojů, nástrojů, prosáklých obvazů atd.) (6,8)

1.3.2. Rizikový pacient

- pacient s chronickými defekty kůže a podkoží („diabetická noha“, bércevé vředy, nehojící se rány, ekzémy atd.)
- pacient s píštělemi při chronické osteomyelitidě

- pacient s generalizovaným tumorem, pacient léčený kortikoidy-obecně imunokomprimovaný pacient
- pacient opakovaně hospitalizovaný, tzn. pacient opakovaně léčený širokospektrými antibiotiky
- pacient s předchozím nálezem citlivých kmenů bakterie (8)

1.3.3. Zjištění přítomnosti MRSA

Zjištění přítomnosti MRSA může být prokázáno oddělením mikrobiologie příslušného zdravotnického zařízení. Tuto informaci musí neprodleně oznámit ošetřujícímu lékaři a pracovišti nemocniční epidemiologie. Informace o kolonizaci pacienta může být zjištěna při překladu z jiného zdravotnického zařízení. Je nutné ji nahlásit nově ošetřujícímu lékaři a pracovišti nemocniční epidemiologie. (8)

Pacient je následně podroben dalším vyšetřením, která informují o způsobu vylučování MRSA z těla pacienta. Jsou to stěry z kožních defektů, ze sliznice nosu, kůže axil, třísel, z okolí kanyl a katétrů, při zavedeném močovém katétru i moč odebraná z katétru. Veškeré žádanky na mikrobiologické vyšetření se označují nápisem „MRSA“ a takto označen musí být i chorobopis. Údaj o kolonizaci pacienta je nutno uvést v propouštěcí nebo překládové zprávě. Pacient musí být o své kolonizaci a následných opatřeních včas informován svým ošetřujícím lékařem. Prostá kolonizace není důvodem k zahájení antibiotické terapie. (5,8)

1.3.3.1. Izolace

Důležité je zabránění nežádoucích kontaktů jiných osob s kolonizovanou částí těla pacienta. Izolace bývá zajištěna v určeném pokoji s vlastním sociálním zařízením a je možné více pacientů kolonizovaných MRSA soustředit v jednom pokoji = kohorty. Pacient může opouštět pokoj jen po dohodě s nemocničním hygienikem. Případná odborná vyšetření a převoz pacienta musí být uskutečněn tak aby se minimalizovala

kontaminace prostředí. Veškerá doprovodná dokumentace musí být označena „MRSA“. Pokud je nutná operace, lze ji provést, ale pouze na konci operačního programu. Do jiného zdravotnického či sociálního zařízení lze kolonizovaného pacienta přeložit po předchozí telefonické domluvě. Překlad je nutné oznámit pracovišti nemocniční hygieny. Izolace je ukončena po zjištění tří negativních výsledků z místa původně pozitivního záchyty. (8)

Při izolaci pacientů kolonizovaných MRSA je jejich pokoj označen nápisem „Izolace“, chorobopis je označen nápisem „MRSA“. Všichni pracovníci, kteří přicházejí do kontaktu s pacientem, musí být o podmínkách izolace informováni. Např. konziliáři, fyzioterapeuti. Pokud dojde k novému záchytu MRSA vztahují se částečná izolační opatření i na spolupacienty a při opakované hospitalizaci pacienta dříve kolonizovaného se dodržují izolační opatření do získání výsledků nových bakteriologických odběrů. (8)

1.3.3.2. Režimová opatření

Při ošetřování pacienta se dodržuje bariérový způsob ošetřování. Osobní pomůcky pacienta (př. hřeben apod.) se denně dezinfikují. Minimalizuje se počet personálu, který přichází do kontaktu s pacientem. Je nutné použití ochranných pomůcek (plášť, čepice, ústenka a rukavice) a dezinfekce rukou (např. Promanum N, Softaman) i po svléknutí rukavic, dále použití individuálních pomůcek a přístroje pouze pro jednoho nemocného. Kontaminované nástroje je nutné okamžitě dekontaminovat přípravkem s dezinfekčním účinkem (př. Sekusept active, Sekusept pulver, Stabimed). Samozřejmostí je zákaz vyvážení jakéhokoliv zařízení pokoje, pokud nebylo řádně dezinfikováno. (5,8)

V případě kolonizace kůže a sliznic se provádí po dobu 5 dní celotělové antiseptické mytí pacienta pomocí přípravků s baktericidním účinkem (př. Prontoderm) za účelem dekolonizace pacienta. Dekolonizace pacienta zahrnuje: použití antibakteriální mycí emulze, nejméně 1x denně koupel celého těla včetně vlasů, ošetření sliznice nosu 3x denně baktericidním přípravkem na sliznice (př. Skinsept mucoza). Po aseptickém ošetření je nutné kožní rány a léze pevně překrýt. Po pěti dnech prováděné dekolonizace se ověřuje její účinnost kontrolními stěry z kůže a sliznic. (8)

Při úklidu je veškerý odpad považován za infekční, proto je vynášen z pokoje pouze v označených zavázaných igelitových pytlích. Nádobí a pomůcky se před vnesením z pokoje ponoří na 10 minut do 0,5% Persterilu. Úklid s dezinfekcí pokoje se provádí 3x denně. Koncentrace použitých dezinfekčních přípravků se nezvyšuje. Po ukončení hospitalizace kolonizovaného pacienta se provádí důkladný úklid pokoje, jehož součástí je i dezinfekce lůžkovin. Pokoj je možné znovu obsadit až po dokončení kontrolní mikrobiologické kultivace stěrů z prostředí (stěry provádí pracoviště nemocniční epidemiologie). (8)

1.3.3.3. Personální problematika

Pokud je podezření, že se zdravotnický pracovník stal nosičem MRSA, je povinen se podrobit mikrobiologickému vyšetření. Když se toto podezření mikrobiologickým vyšetřením potvrdí, postupuje se individuálně dle charakteru vykonávané práce a rizika ohrožení pacientů. (8)

1.4. Infekce krevního řečiště

Infekce krevního řečiště jako závažná komplikace je definována jako klinicky významná, mikrobiologicky prokázaná bakteriémie nebo fungémie. Nosokomiální nákaza krevního řečiště odpovídá předchozí definici, ale vzniká v příčinné souvislosti s poskytováním zdravotní péče a nebyla přítomna ani nebyla v inkubační době před přijetím k hospitalizaci. Obvykle tedy vzniká déle než 48 hodin od přijetí. Rozdělení infekcí krevního řečiště:

1. komunitní: vzniká bez souvislosti s poskytováním zdravotní péče
2. nosokomiální: vzniká v souvislosti s poskytováním zdravotnické péče

Ty se dále mohou dělit na primární, kdy není přítomen zdroj infekce mimo cévní řečiště. Nebo sekundární, při kterém existuje primární zdroj infekce v jiném orgánovém systému mimo krevní oběh.(7)

Infekce krevního řečiště bývá v převážné většině případů způsobena kanylací. Obecně se za faktory ovlivňující kvalitu kanylace považují zejména:

- způsob a místo zavedení kanyly
- ošetřování již zavedených kanyl
- doba trvání kanylace
- kvalita a typ vlastní kanyly (7)

Úskalí kanylace jsou pak následující:

- kolonizace kanyly – nejsou přítomny žádné klinické známky infektu; lze diagnostikovat pouze kultivačně
- infekce v místě vstupu a podkoží – zarudnutí, zatvrdnutí v průměru větším než 2cm, palpační bolestivost, hnisavá sekrece, mohou být přítomny systémové známky infektu
- bakteriémie (tj. přítomnost bakterií v krvi) (7, 15)

Na bázi výše uvedeného lze definovat základní preventivní opatření při zavádění kanyly:

- provádět kanylaci vždy v čisté zóně
- volit optimální metodu aseptické inzerce kanyly
- důkladná desinfekce kůže před a během kanylace
- chirurgická desinfekce rukou
- používání sterilních rukavic, masek, čepců
- při každé manipulaci s kanylou vždy sterilní rukavice (7)

1.4.1. Seps

Seps lze definovat jako těžké systémové onemocnění vyznačující se charakteristickými hemodynamickými změnami a zhoršenou funkcí orgánů vyvolané interakcí mikrobiálních produktů s buňkami retikuloendoteliálního. Projevuje se zejména opakovanými prudkými vzestupy horečky dosahujícími obvykle vysokých hodnot, celkovou zchváceností a příznaky z postižení jednotlivých orgánů. Nebezpečnou komplikací je vznik septického šoku. Při podezření na seps se provádějí při vzestupu teploty náběry krve, která se poté vyšetřuje na přítomnost bakterií (viz dále hemokultura). Je nutné rozlišovat mezi sepsí a bakteriémií, kdy bakteriémií označujeme pouhou přítomnost bakterií v krvi. Mikrobiální proces vedoucí k seps se většinou rozvíjí z lokalizované infekce. Tento rozvoj vyžaduje splnění tří podmínek. Jsou jimi:

1. vznik velké populace infikujících nebo kolonizujících mikrobů
2. přítomnost bakteriálních produktů stimulujících uvolňování cytokinů
3. rozsáhlá diseminace těchto produktů

Většina bakterií vyvolá seps jen při oslabení odolnosti na straně hostitele. Pouze u virulentních kmenů tak patogenních mikrobů, jako jsou např. meningokoky anebo zlaté stafylokoky, nemusí být faktory predisponující ke vzniku seps zřejmé. Vyvolávajícím činitelem seps jsou produkty rozpadu bakterií (např. endotoxin u gramnegativních bakterií nebo DNA mikrobů grampozitivních). Tyto produkty působí na makrofágy, které jejich vlivem uvolňují tumor-nekrotizující faktor alfa (TNF- α). TNF- α zase stimuluje makrofágy ke tvorbě kupř. interleukinu-1 (IL1). Jakmile se celý proces rozběhne, stávají se klíčovými buňkami endotelie kapilár. Ty slouží jako cíl i jako efektor procesu. (10,15)

Průběh seps můžeme dělit na perakutní, akutní, subakutní a chronický. Klinicky se seps projevuje horečkou, tachykardií, hypotenzí a pozitivní hemokulturou (tj. záchytem bakterií při kultivaci odebrané krve). (2)

1.5. Nosokomiální nákazy

Za nosokomiální nákazy je možno považovat infekce, které pacient získá za pobytu ve zdravotnickém zařízení v časovém rozmezí 48-72 hod. od přijetí a pokud pacient již není v inkubační době. Na vzniku nosokomiálních nákaz se také podílí oslabení pacienta nemocí spolu s léčebnými zásahy. Ke klinické manifestaci takové infekce může dojít ještě v průběhu hospitalizace infikované osoby. Mnohdy se klinické příznaky nemoci projeví až po propuštění pacienta do domácího ošetřování nebo jeho přeložení do jiného zdravotnického zařízení. Za nemocniční nákazu nelze pokládat infekci, kterou se postižené osoby nakazily ještě před přijetím do nemocnice, i když se nákaza klinicky manifestovala až v průběhu hospitalizace.(9,15)

1.5.1. Dělení nosokomiálních nákaz podle původu vyvolávajícího agens

1. Exogenní nemocniční nákazy: příčina infekce byla na organismus a do jeho vnitřního prostředí zavlečena zvenčí (rukama personálu, při převazu rány, kontaminovanými přístroji či nástroji při invazivním vyšetření apod.) Zdrojem, případně vektorem přenosu exogenních nemocničních nákaz, bývá většinou zdravotnický personál. Poměrně často totiž právě z jeho strany dochází k podcenění relativně banálních onemocnění (faryngitidy, lehká průjmová onemocnění atd.) a především základních hygienických opatření (mytí rukou mezi ošetřením jednotlivých pacientů apod.) (15)
2. Endogenní nemocniční nákazy: jde o infekce vyvolané některou ze složek běžné mikroflóry postiženého, zavlečenou z místa svého přirozeného výskytu na jiné místo makroorganismu (operační rána, serózní dutina, tkáň apod.) většinou během operace nebo během invazivního diagnostického či terapeutického výkonu. (15)

1.5.2. Dělení nosokomiálních nákaz podle epidemiologického hlediska

1. Nespecifické náказы, které probíhají nejen v nemocnicích, ale mohou se šířit i v jiných kolektivech dané lokality (mateřské školy apod.). Příkladem jsou alimentární infekce, zejména salmonelové. Léčení nebývá obvykle problematické, jelikož mikrobiologická agens bývají většinou dobře citlivá na antibiotika. Např. u průjmových onemocnění stačí pouze dieta. Nespecifické infekce jsou také ukazatelem hygienicko-epidemiologické úrovně daného zdravotnického zařízení. (7,15)
2. Specifické náказы vznikají pouze jako důsledek diagnostických nebo terapeutických zákroků u ambulantně vyšetřovaných či hospitalizovaných osob. Nejčastější cestou přenosu zde bývá inokulace nebo implantace agens přímo do tkáně, rány, močového ústrojí atd. Méně často se infekce šíří kapénkami nebo alimentární cestou. Mají specifickou epidemiologii, prevenci i terapii. Jejich výskyt ovlivňuje úroveň asepse, sterilizace a dezinfekce, dodržování zásad ošetřovatelských standardů, protiepidemického režimu, odrážejí úroveň provozu zařízení i odbornost a profesionalitu zdravotnického personálu. (7,15)

U nosokomiálních nákaz nevzniká trvalá imunita. Obvykle ani nejsou přenosné (až na výjimky) na osoby kolem nemocného. (15)

1.5.3. Zdroje nosokomiálních nákaz

1. Pacient: Stává se zdrojem specifické, nespecifické, exogenní i endogenní nosokomiální náказы z několika důvodů:
 - Je přijat s chybnou diagnózou (např. virová hepatitida může být zaměněna za zánět žlučníku)
 - Je na oddělení přijat v inkubační době infekční nemoci, která propukne až během hospitalizace
 - Je-li pacient nosičem patogenních mikrobů

Ve všech těchto případech je pacient zdrojem nesespecifické neboli komunitní nosokomiální nákazy. Zdrojem specifické nosokomiální nákazy se může pacient stát během hospitalizace, je-li kolonizován nemocničními kmeny a nosokomiální infekce u něj propukla. Pacienti bývají často kolonizováni rezistentním nemocničním kmenem MRSA. Tato kolonizace se může stát zdrojem endogenní infekce při jejím přesídlení z místa normálního výskytu v dutině nosní např. do chirurgické rány. Zvláště nebezpečné je toto přesídlení u pacientů s operacemi skeletu. (7)

2. Návštěvník

- Předpisy pro frekvenci a dobu návštěv u pacientů se v posledních letech značně uvolnily, čímž se zvyšuje možnost, že návštěvník zavleče do zdravotnického zařízení infekční onemocnění. (7)

3. Zdravotnický personál

- Může se stát zdrojem exogenní nemocniční nákazy. Přenos z pracovníka na pacienta se děje přímou i nepřímou cestou. Nejvíce hraje zdravotník roli v přenosu nemocniční mikroflóry jako účastník procesu šíření nákazy, především prostřednictvím kontaminovaných, nedostatečně, nebo nesprávně mytých rukou. (7)

1.5.4. Cesty přenosu původců nosokomiálních nákaz

1. Přímý přenos vyžaduje současnou přítomnost zdroje infekce a vnímavého příjemce. Uskutečňuje se obvykle kontaktem (dotyk, polibek, ev. pohlavní styk). Právě při tomto druhu přenosu se uskutečňuje i kontakt zprostředkovaný rukama zdravotnického personálu. (15)
2. Nepřímý přenos je podmíněn:
 - Je obecně charakterizován různě dlouhým obdobím, v němž infekční agens přežívá jistou dobu mimo tělo hostitele.

- Přítomností vehikula (nebo vektoru), tj. prostředku přenosu, v němž může dojít k pomnožení původce nákazy a jehož pomocí je pomnožený agens přeneseno na vnímavého hostitele. (6,15)

Nepřímý přenos se obvykle děje prostřednictvím kontaminovaných diagnostických a léčebných pomůcek, nástrojů a přístrojů nebo obvazového materiálu. Jinou možností je uplatnění kontaminovaných předmětů denní potřeby, infikovaných biologických roztoků a léků (plazma, infúzní roztoky, oční roztoky, masti, aj.), kontaminovaného vzduchu (ventilátory, inhalační přístroje), potravin (sušené mléko, koření) a biologických vektorů (členovci). (6,15)

1.5.5. Nosičství MRSA

K šíření stafylokoků ve zdravotnických zařízeních významně napomáhají bezpříznakoví, čili asymptomatictí nosiči. Nejzávažnější formou nosičství je z hlediska epidemiologického nosní nosičství, které je asi v 20% trvalé a v 50% intermitentní. Další formy nosičství jsou kožní, hlavně v případě patologické kožní léze, perineální, střevní a nosičství ve vlasové části hlavy. Někdy se podaří zachytit stafylokoky i při kultivaci vzorků moči. Což je nejpravděpodobněji způsobeno kontaminací z třísels při odběru. V určitém čase se téměř u všech dětí a dospělých vyskytuje nosní nosičství, asi ve 40%. (5)

1.5.6. Terapie MRSA

V USA i u nás je citlivých na penicilin jen přibližně 5% izolátů *Staphylococcus aureus*. Kmeny rezistentní na penicilin jsou většinou citlivé na léčbu penicilinázastabilními antibiotiky, jako např. oxacilin. Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* je rezistentní nejen k penicilinu, ale i k oxacilinu (methicilinu) a všem β -laktamovým antibiotikům, včetně cefalosporinů a karbapenemů. MRSA je navíc často nositelem multirezistence i na jiná, běžně užívaná antibiotika, včetně erythromycinu, clindamycinu a tetracyklinu. Od roku 1996 se objevují zprávy i o snížené citlivosti MRSA na vankomycin (VRSA). Infekce MRSA tím tedy přináší významný

terapeutický problém. Obecně lze říci, že léčba infekce MRSA je možná. I ty nejrezistentnější kmeny MRSA jsou citlivé minimálně na jedno antibiotikum, většinou jde o vankomycin, linezolid, cotrimoxazol nebo tygecyklin. Infekce způsobená rezistentními kmeny MRSA však často vyžaduje použití antibiotik, která jsou dostupná výlučně v parenterální formě. Jejich podání tedy vyžaduje vykonání invazivního zákroku, což v nemocničním prostředí zvyšuje riziko infekce krevního řečiště. (5)

Výskyt MRSA může vyústit do problému s antibiotickou rezistencí i u jiných druhů mikroorganismů. Například oddělení s endemickým výskytem MRSA, která na profylaxi MRSA infekce chirurgické rány používají empiricky glykopeptidy, mohou za relativně krátkou dobu čelit problému zvýšeného výskytu vankomycin rezistentních mikroorganismů. V roce 1997 byly např. v Japonsku izolovány první kmeny *S. aureus* se sníženou citlivostí vůči tomuto antibiotiku, označované jako VISA (*vankomycin-intermediate S. aureus*), nebo přesněji jako GISA (*glykopeptide-intermediate S. aureus*). Až do poloviny roku 2002 jevíly známé klinické izoláty *S. aureus* jen intermediární stupeň rezistence k vankomycinu, resp. k dalšímu glykopeptidu, teikoplaninu. V červnu 2002 byl ze stěru špičky katétru vykultivován VRSA (*vankomycin-rezistant S.aureus*) s vysokou rezistencí k vankomycinu a teikoplaninu. Izolát VRSA obsahoval vanA gen, zodpovědný za rezistenci k vankomycinu a teikoplaninu a mecA gen determinující rezistenci stafylokoků k β -laktamovým antibiotikům. Tyto kmeny byly později izolované i v Austrálii, USA a Korei. (5)

Můžeme tedy říci, že bez ohledu na to, zda jsou rezistentní kmeny víc infekční nebo virulentní než ty, které jsou k antibiotikům citlivé, mají programy boje proti rezistentním mikroorganismům své jednoznačné opodstatnění pro významný pozitivní dopad na pacienty a na samotná zdravotnická zařízení. (5)

2. Cíl práce a hypotézy

2.1. Cíl práce

Mým cílem je získat znalosti o mikrobiologických vyšetřovacích metodách a o způsobu monitorování methicilin rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* z klinického materiálu. U získaných výsledků provést statistické zpracování a grafické znázornění četnosti výskytu infekcí způsobených MRSA a výskytu infekcí krevního řečiště způsobených MRSA. Na základě takto zpracovaných dat vytipovat riziková oddělení, rizikové věkové skupiny, atp.

2.2. Hypotézy

H1: Záchyt zvýšeného výskytu methicilin rezistentních izolátů v průběhu vymezeného časového období

H2: Souvislost infekcí krevního řečiště způsobených MRSA s kanylací pacientů

H3: Zvýšený výskyt infekcí krevního řečiště způsobených MRSA v souvislosti s větším počtem výskytu infekcí způsobených MRSA obecně (s větším záchytem MRSA obecně)

3. Metodika kultivace z klinického materiálu

3.1. Transport klinického materiálu

Klinický materiál, který přichází do laboratoře bakteriologie, může být odebrán na výtěrovce, nebo do zkumavky. Je důležité, aby vzorek byl do laboratoře dopraven co nejrychleji (do dvou hodin po odběru, popřípadě do 24 hodin při dodržení správných zásad uchování jednotlivých druhů materiálu). Při odběru materiálu na výtěrovku je vhodné použít transportní půdu (př. Amiesovo transportní medium, které obsahuje anorganické soli, thioglikolát sodný, 1% agaru a aktivní uhlí, či Stuartova transportní půda bez aktivního uhlí).

3.2. Kultivační půdy, kultivace

Podle druhu klinického materiálu, který přijde do laboratoře, se volí pevné kultivační půdy, na které se materiál očkuje. Většina materiálů se současně očkuje do pomnožovací půdy = thioglykolátový bujon. Kultivace se provádí většinou 24 hodin při teplotě 37°C a ve vhodném kultivačním prostředí. Pevné kultivační půdy se kultivují 24–48 hodin. Pokud pevné půdy zůstanou po kultivaci negativní, vyočkuje se ještě pomnožovací půda, je-li zakalená.

3.3. Mikroskopie

Mikroskopický preparát se barví dle Grama. Podstatou Gramova barvení je rozdílnost ve stavbě stěny gramnegativních a grampozitivních bakterií. Při barvení vzniká v bakteriální buňce komplex krystalové violeti s jódem, který se u gramnegativních bakterií snadno vyplavuje alkoholem, nebo acetonem.

Postup Gramova barvení: Při barvení mikroskopického preparátu dle Grama se preparát nejprve ofixuje (ohřevem, alkoholem) a dále se barví krystalovou violetí. Dojde k obarvení všech bakterií tmavomodře až modrofialově. Poté se přidá Lugolův roztok, který obsahuje jód. V obarvených buňkách dochází ke vzniku komplexu barviva s jódem, který se u gramnegativních bakterií snadno vyplavuje. Následuje přelítí preparátu acetonem, který gramnegativní bakterie odbarví. Pro dobarvení gramnegativních bakterií se použije ředěný karbolfuchsin. Výsledkem jsou tmavomodré grampozitivní bakterie a červené gramnegativní bakterie.

3.4. Vyhledávací testy

Ke kultivaci *Staphylococcus aureus* se klinický materiál naočkuje na krevní agar. (viz příloha č. 8.1. a 8.2.). Krevní agar je nejdůležitější a nejpoužívanější půda v bakteriální diagnostice. Při výrobě krevního agaru se používá defibrinovaná ovčí, nebo beranní krev. Sledují se na ní hemolytické schopnosti bakterií.

Pokud na krevním agaru po kultivaci vyroste *Staphylococcus*, je potřeba rozlišit, zda se jedná o *Staphylococcus aureus*, nebo o *Staphylococcus* plasmakoaguláza- negativní. K dispozici jsou komerční přípravky. Já jsem pracovala s přípravky na detekci kapsulárních antigenů. Je také možná detekce přítomnosti proteinu A. Tyto komerční přípravky bývají citlivější a specifitější než běžný sklíčkový test na vázanou koagulázu.(14)

Postup latexové aglutinace na průkaz kapsulárních antigenů: Na destičku kápne kapka negativní kontroly a kapka latexového testu. Ke každé kapce se kličkou přidá vyšetřovaný kmen. Promíchá se. Pokud dojde k aglutinaci, jedná se o *Staphylococcus aureus*, pokud ne, pak se jedná o *Staphylococcus* plasma koaguláza-negativní. V případě, že dojde i v negativní kontrole k aglutinaci, pak se jedná o spontánní aglutinaci a test nelze hodnotit.

U klinického materiálu, kde není *Staphylococcus aureus* jako běžná flóra, se stanovuje citlivost k antibiotikům (viz příloha č. 8.3. a 8.4.) a zároveň se provádějí vyhledávací testy na MRSA. Podle závažnosti materiálu se stanovuje minimální inhibiční koncentrace daného antibiotika (MIC). (viz příloha č. 8.5.) Jde o nejnižší koncentraci určitého antibiotika, která je ještě schopna zastavit růst testovaného kmene bakterie.

Při stanovení MIC se vyšetřovaný kmen nasadí do 2 ml bujónku a nechá se kultivovat 2 hodiny při teplotě 37°C. Bujon se naředí 20 ml fyziologického roztoku na sílu zákalu 0,5 – 1 stupeň McFarlanda (ředění asi 1:10). Po té se pomocí automatické krokovací pipety naočkuje mikrotitrační destička s vybranými druhy antibiotik o příslušných koncentracích. Kultivuje se 24 hodin při teplotě 37°C v běžné atmosféře.

V případě, kdy se jedná o vzorky cílené na průkaz MRSA, provádějí se vyhledávací testy i u materiálu, kde je *Staphylococcus aureus* jako běžná flóra. Mezi vyhledávací testy patří test citlivosti k cefoxitinu a MRSA-select (= půda viz níže).

Citlivost k cefoxitinu se stanovuje difúzní diskovou metodou. K vyšetření se použije bílý (bez krvinek) Müller-Hintonův agar. Připraví se suspenze vyšetřovaného kmene o síle 0,5 stupně McFarlanda, půda se přelije suspenzí bakterií, položí se disk cefoxitinu a 24 hodin se kultivuje. Pokud inhibiční zóna kolem disku cefoxitinu je 22mm a více,

jedná se o citlivý kmen *Staphylococcus aureus*. Pokud je inhibiční zóna v rozmezí 6-21mm, jedná se o kmen MRSA.

MRSA-select = agarové medium pro izolaci a přímou identifikaci MRSA. Selektivita tohoto media je založena na přítomnosti vysoké koncentrace soli a směsi antibiotik a fungicidů, která inhibuje většinu mikrobů s výjimkou stafylokoků rezistentních na methicilin. Identifikace je založena na průkazu specifické aktivity *Staphylococcus aureus*. Štěpení přítomného chromogenního substrátu, vede k intenzivnímu růžovému zbarvení kolonií MRSA.

- Methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA): růžové kolonie (viz příloha č. 8.6.)
- Methicilin rezistentní plasma koaguláza negativní stafylokoky (MRCNS): bílé kolonie (viz příloha č.8.7.)
- Methicilin senzitivní stafylokoky (MSS): nerostou.

Inokulace:

- Přímá: Inokuluje se roztěrem přímo z vyšetřovaného vzorku.
- Nepřímá: Vzorek (tampon) se umístí do 1ml bujónu (nebo 1 ml sterilního fyziologického roztoku). Inokuluje se roztěrem 50 μ této suspenze.

Inkubace se provádí 18 – 24 hod. při 37°C. Poté se odečítá.

3.5. Kvalitativní latexová aglutinace

Pokud se jedná o akutní vyšetření vzorku, nebo jsou určité nejasnosti v předchozím vyšetření, provádí se kvalitativní latexová aglutinace. Je založena na detekci penicilin vázajícího proteinu PBP_{2a} přítomného na buněčné membráně methicilin rezistentních kmenů *S. aureus*. Principem je reakce latexových částic senzibilizovaných monoklonálními protilátkami s extraktem PBP_{2a} z buněčné membrány MRSA po povaření bakteriální suspenze v alkalickém prostředí.

Postup:

- Reagencie se vytemperují na pokojovou teplotu
- Do zkumavky se přidají 4 kapky extrakčního činidla
- Plastovou kličkou (1 μ) se přidá kultura testovaného kmene dostatečné množství 25 – 30 malých kolonií (průměr 0,5mm), nebo 4 – 5 velkých kolonií (průměr 2,5mm)
- Suspenze se nechá důkladně homogenizovat a na 3 min. se umístí do vodní lázně o teplotě 95 – 100 °C
- Zkumavka se vyjme a nechá se zchladnout na pokojovou teplotu
- Přidá se 1 kapka extrakčního činidla a centrifuguje se 5 min./3000ot.
- Supernatant se ihned po stočení použije do reakce – na testovací kartu se napipetují 2 kapky (50 μ /kapka)
 1. kapka + kapka Sensitized Latex, promíchá se plastovou tyčinkou
 2. kapka + kapka Control Latex, promíchá se plastovou tyčinkou
- Krouživým pohybem se promíchává suspenze a sleduje se vznik aglutinátu v průběhu 3 min.

Hodnocení: Dojde-li k aglutinaci v kapce se senzibilizovanými latexovými částicemi a negativní kontrola zůstává bez aglutinace, jedná se o kmen MRSA.

3.6. Hemokultivace

Hemokultivace se provádí při předpokládané bakteriémii a fungemii. Odebírá se z periferních žil. Krev na hemokulturu by měl odebírat lékař za přísného dodržení zásad asepsy. Většinou se odebírají dva, spíše tři vzorky krve. Mezi odběry by měl být půl hodinový až hodinový interval při vzestupu teplot. Samozřejmostí je odběr krve na hemokulturu před nasazením antibiotika. Pokud je již pacient léčen a antibiotikum nelze vysadit, pak se krev odebere těsně před další dávkou antibiotika za použití hemokultivačních lahviček pro pacienty léčené antibiotiky, ve kterých je přítomen sorbent (černé uhlí). (15)

3.6.1. Kultivační media

Krev na hemokulturu se obvykle kultivuje v bujonu. Je-li bujon kvalitní, pak na jeho složení příliš nezáleží. Tryptózo-sojový bujon se zdá být stejně dobrý jako bujon z mozkosrdcové infuze nebo bujon Columbia. (15)

3.6.2. Používané systémy, podmínky kultivace

Dříve byla nejjednodušším systémem částečně evakuovaná nádobka obsahující bujon. Dvoufázové systémy obsahovaly navíc agarovou půdu, ať šikmo nalitou, nebo na zvláštní umělohmotné lopatičce. Agar se očkoval tak, že se nádobka nahnula, takže směs bujonu s krví agar přelila. Nyní se používá nejčastěji poloautomatický systém BacT/ALERT (viz příloha č.8.11. a 8.12.). Řada výrobců doporučuje souběžně s běžnou nádobkou kultivovanou aerobně (viz příloha č.8.9.) naočkovat ještě nádobku ke kultivaci anaerobní (viz příloha č.8.10.) Ta je plněna atmosférou snižující redox potenciál bujonu a umožňuje tak růst anaerobních mikrobů. Teplota kultivace by se měla pohybovat v rozmezí 35 – 37 °C. Délka kultivace by rutinně měla činit 7 dnů. Inkubovat hemokultury déle má smysl jen při podezření na endokarditidu a fungémii, nebo v případě, je-li nemocný pod vlivem antibiotik. (15)

3.6.3. Zpracování pozitivních hemokultur

Růst mikrobů v hemokultuře se obvykle projeví viditelnými změnami, a to zákalem, příp. s bublinkami plynu, světlými shluky či zrnky na povrchu nebo uvnitř sedimentu erytrocytů (stafylokoky), hemolýzou (streptokoky, klostridia), blankou na povrchu bujonu (pseudomonády, kvasinky) apod. V automatickém hemokultivačním systému se množení bakterií projeví např. zvýšením tenze CO₂ v hemokultivační nádobce, na což reaguje optickým a akustickým signálem obsluze, která nádobku zpracuje.

Z pozitivní hemokultury se připraví nátěr barvený dle Grama. Na základě mikroskopického nálezu se očkují vhodné pevné půdy a zakládají orientační diskové

citlivosti na vhodná antibiotika. Pevné půdy, na něž byly hemokultury vyočkovány, se rutinně odečítají za 24 hodin. (14)

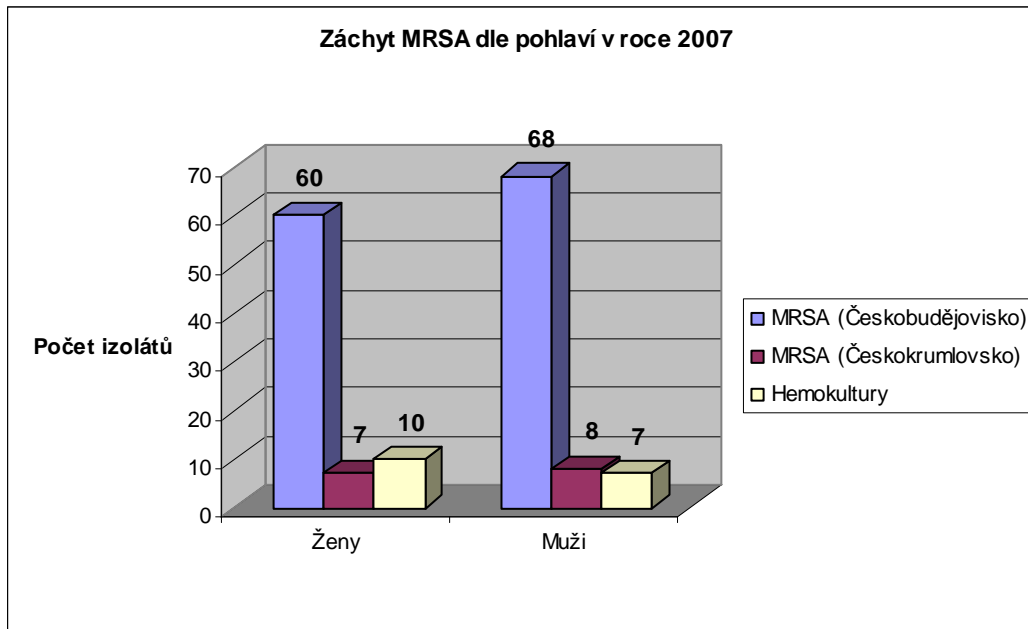
4. Vlastní výzkum

4.1. Charakteristika sledovaného souboru

Pro výzkumný soubor bylo použito za rok 2007 143 vzorků od pacientů kolonizovaných MRSA z Českobudějovicka a Českokrumlovska. Za rok 2008 bylo použito 115 vzorků od pacientů z Českobudějovicka a Českokrumlovska. Sledované znaky výzkumného souboru jsou věk, pohlaví, období záchytu, citlivost či rezistence k danému antibiotiku a oddělení. Věkové skupiny jsou rozděleny v rozmezí deseti let. Období záchytu je rozděleno po měsících. Typ grafu, který byl použit, je sloupcový.

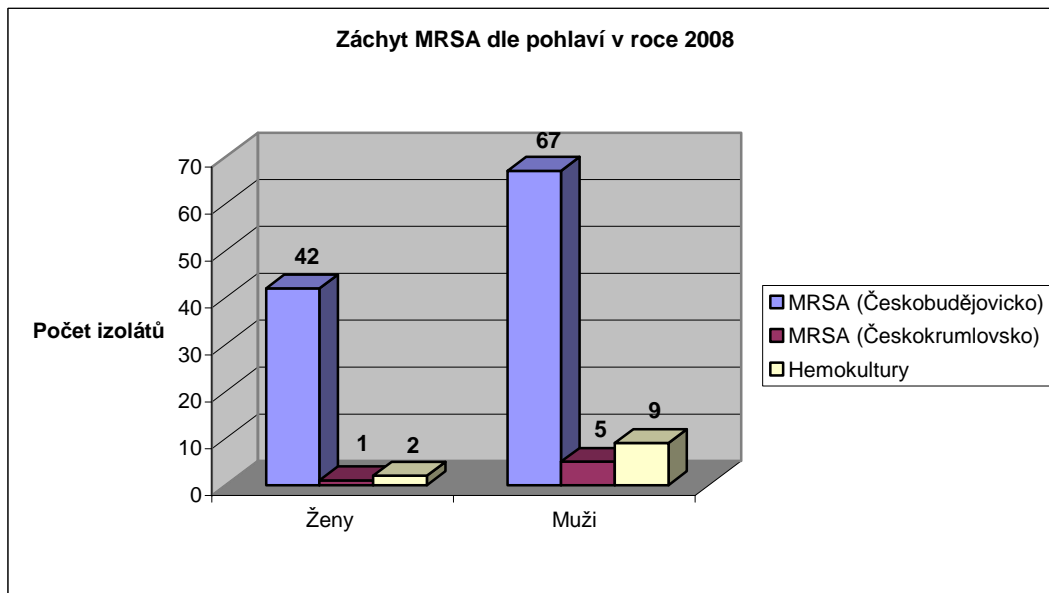
4.2. Grafické znázornění

Graf 1. Záchyt MRSA dle pohlaví v roce 2007



Zdroj: Vlastní výzkum

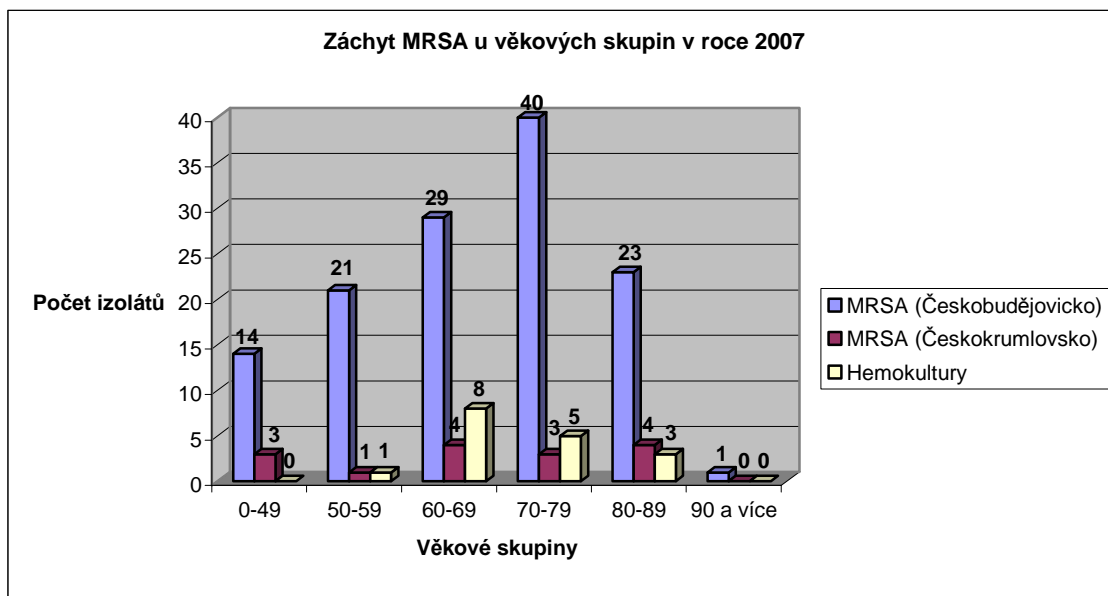
Graf 2. Záchyt MRSA dle pohlaví v roce 2008



Zdroj: Vlastní výzkum

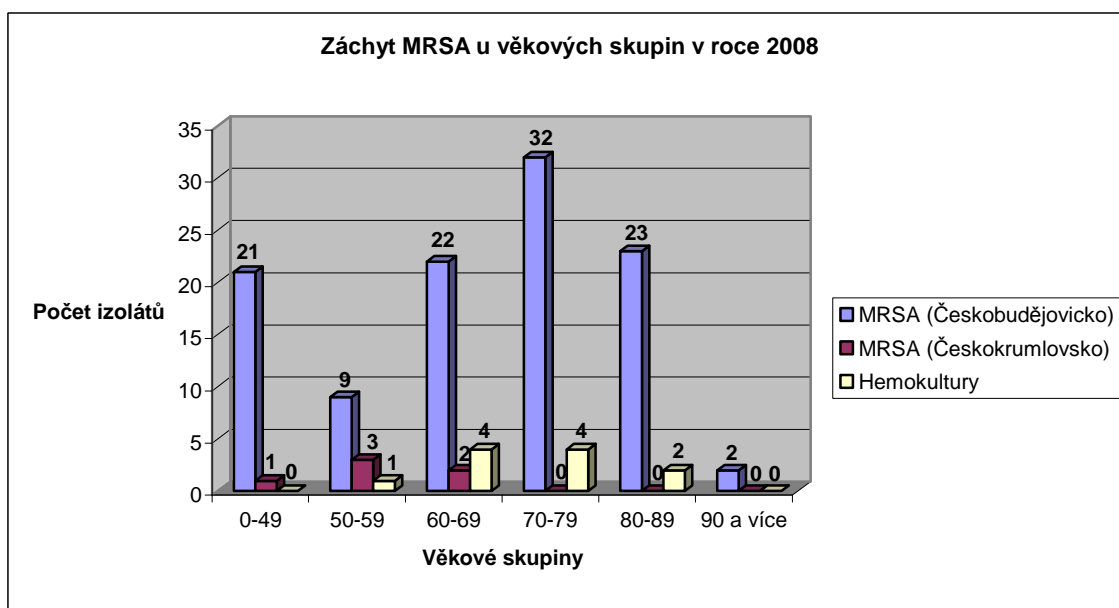
V grafech č.1 a č.2 je znázorněn záchyt MRSA dle pohlaví. V obou grafech je znázorněn počet izolátů MRSA v okrese Českobudějovickém, Českokrumlovském a počet pozitivních hemokultur z obou krajů.

Graf 3. Záchyt MRSA podle věkových skupin v roce 2007



Zdroj: Vlastní výzkum

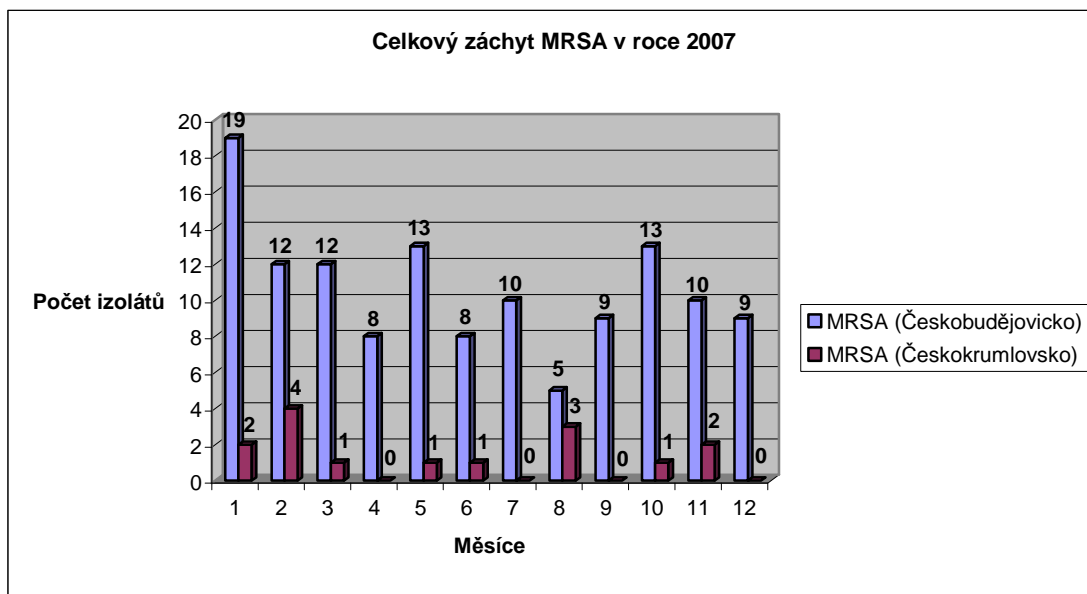
Graf 4. Záchyt MRSA podle věkových skupin v roce 2008



Zdroj: Vlastní výzkum

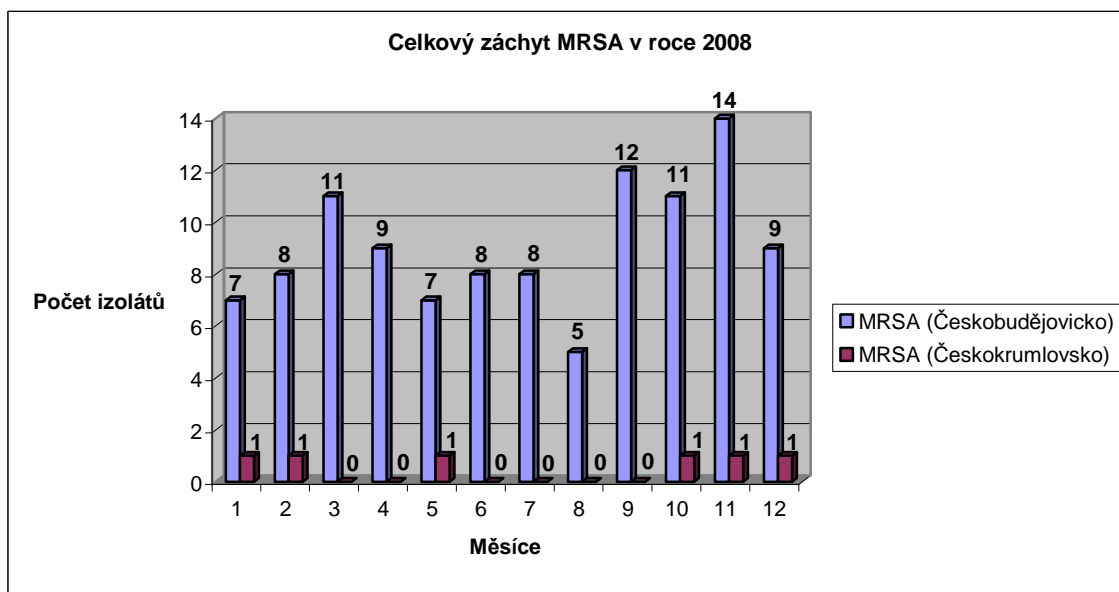
V grafech č.3 a č.4 je zobrazen záchyt izolátů MRSA podle věkových skupin. Interval věkových skupin je volen tak, aby grafické znázornění bylo co nejpřehlednější. V obou grafech je znázorněn počet izolátů MRSA v okrese Českobudějovickém, Českokrumlovském a počet pozitivních hemokultur z obou krajů.

Graf 5. Celkový záchyt MRSA dle ročního období v roce 2007



Zdroj: Vlastní výzkum

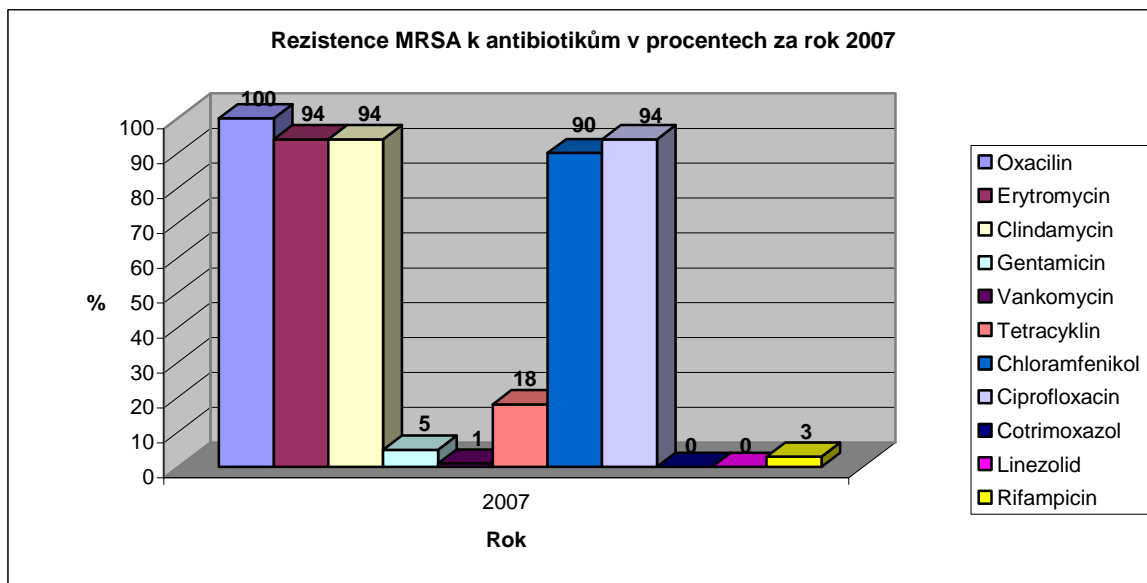
Graf 6. Celkový záchyt MRSA dle ročního období v roce 2008



Zdroj: Vlastní výzkum

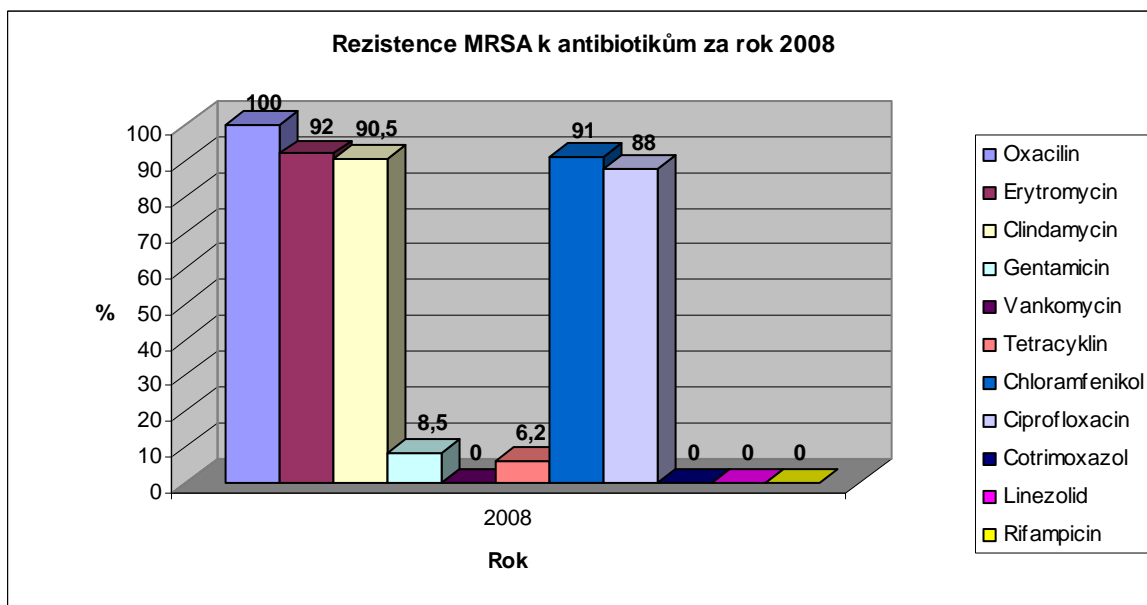
V grafech č. 5 a č.6 je zobrazen celkový záchyt izolátů MRSA v roce 2007 a 2008. Časové období je rozloženo do jednotlivých měsíců. V obou grafech je znázorněn počet izolátů MRSA v okrese Českobudějovickém, Českokrumlovském.

Graf 7. Rezistence MRSA k antibiotikům za rok 2007



Zdroj: Vlastní výzkum

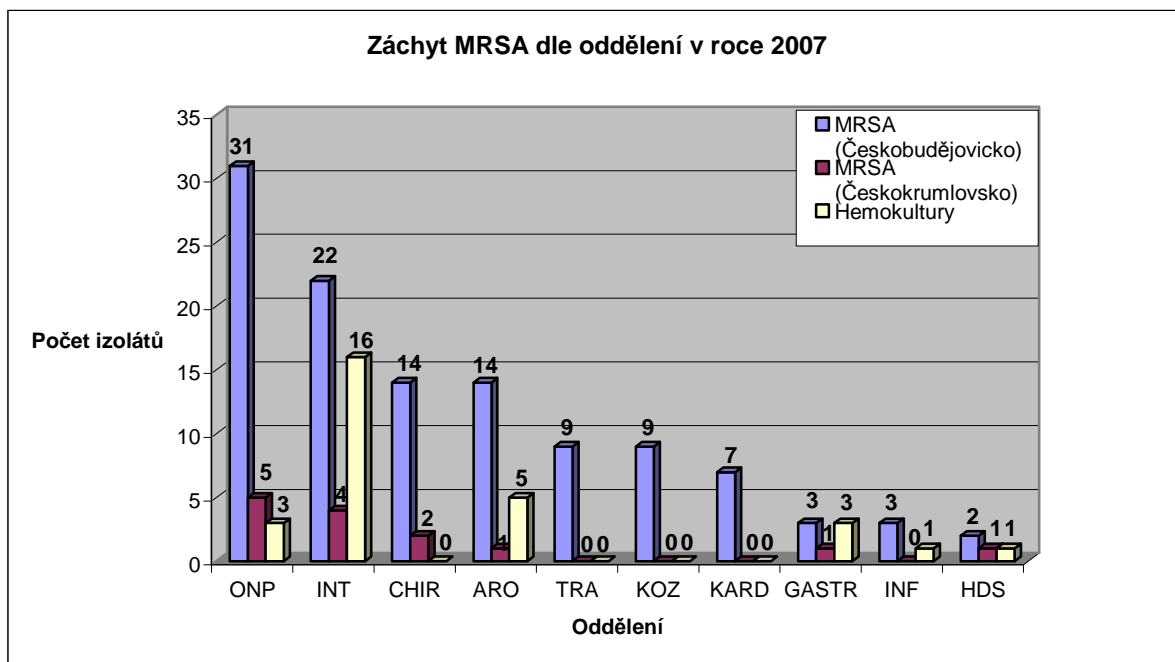
Graf 8. Rezistence MRSA k antibiotikům za rok 2008



Zdroj: Vlastní výzkum

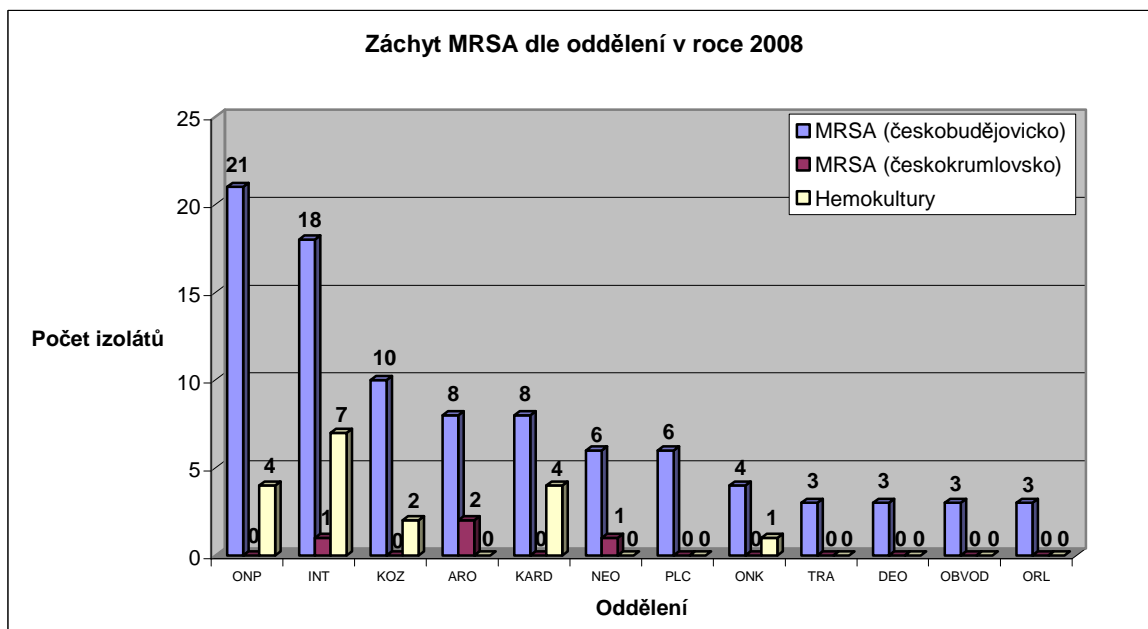
V grafech č.7 a č.8 je zobrazena rezistence MRSA k antibiotikům za rok 2007 a 2008. Tato sada ATB se volí podle účinnosti na G⁺bakterie, v tomto případě na stafylokoky. V obou grafech je znázorněn počet izolátů MRSA v okrese Českobudějovickém, Českokrumlovském a počet pozitivních hemokultur z obou krajů.

Graf 9. Záchyt MRSA na jednotlivých odděleních s vyšším výskytem izolátů v roce 2007



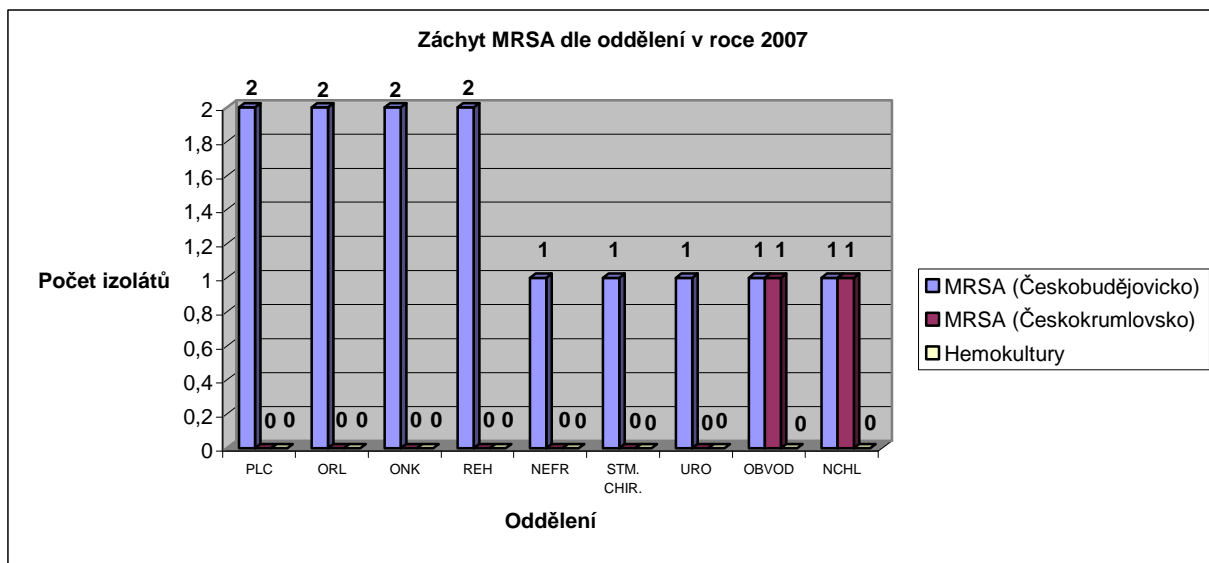
Zdroj: Vlastní výzkum

Graf 10. Záchyt MRSA na jednotlivých odděleních s vyšším výskytem izolátů v roce 2008



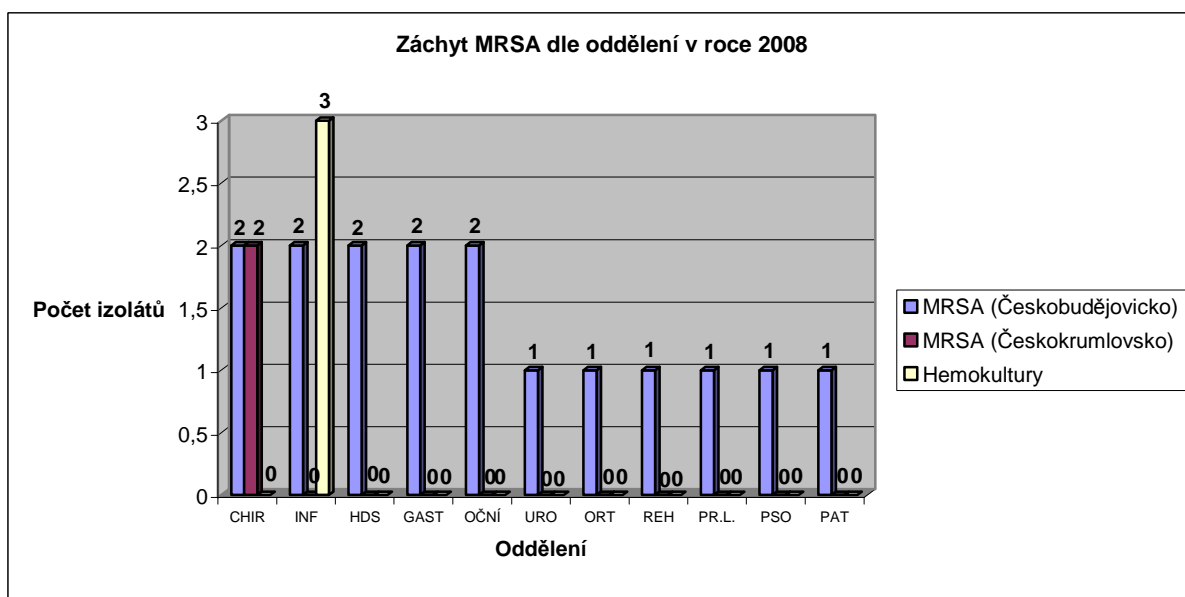
Zdroj: Vlastní výzkum

Graf 11. Záchyt MRSA na odděleních s nižším výskytem izolátů v roce 2007



Zdroj: Vlastní výzkum

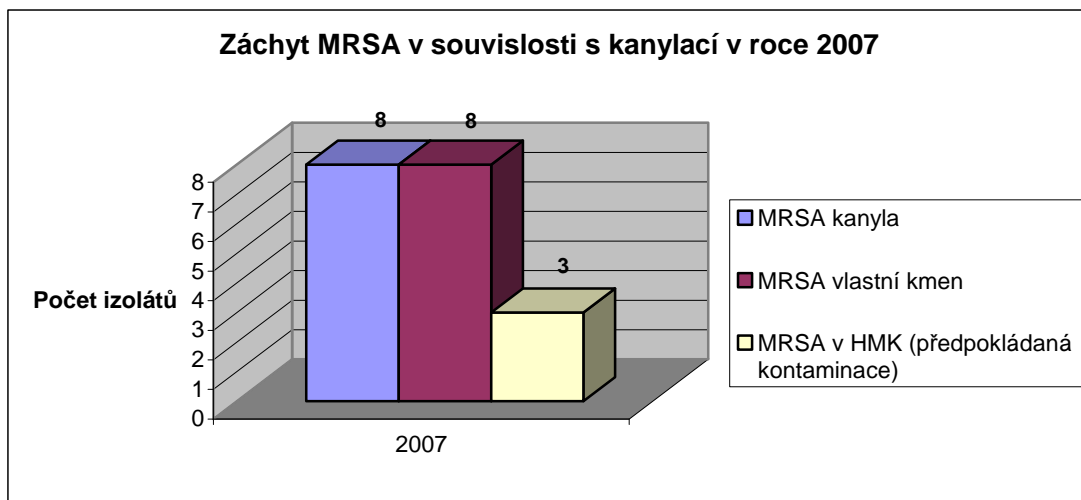
Graf 12. Záchyt MRSA na oddělení s nižším výskytem izolátů v roce 2008



Zdroj: Vlastní výzkum

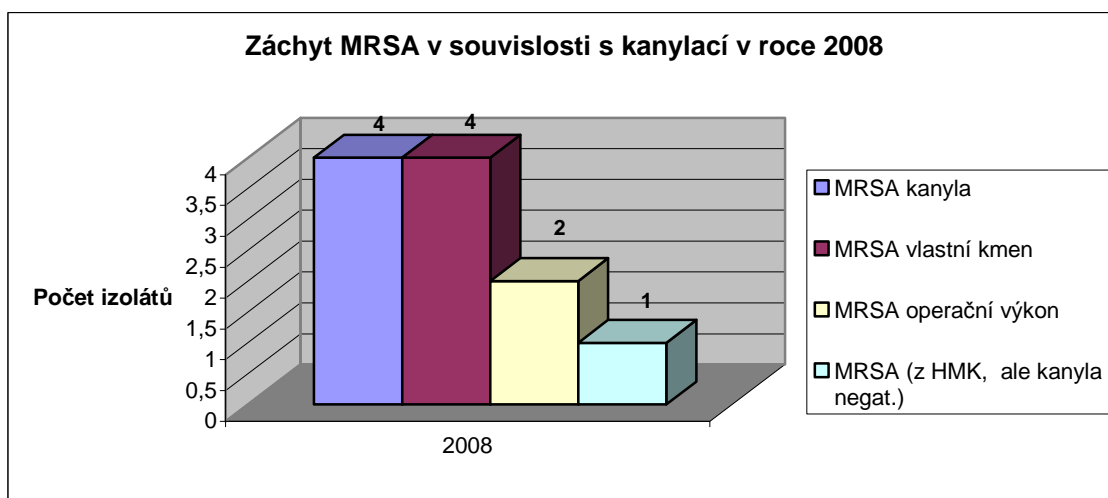
V grafech č.9, č.10, č.11, č.12 Je zobrazen záchyt MRSA na jednotlivých odděleních v roce 2007 a 2008. Oddělení jsou rozdělena na dvě části: s vyšším a nižším výskytem z důvodu vyšší přehlednosti. Vysvětlivky zkratk oddělení (viz příloha číslo 9.12.). Ve všech je znázorněn počet izolátů MRSA v okrese Českobudějovickém, Českokrumlovském a počet pozitivních hemokultur z obou krajů.

Graf 13. Zobrazuje záchyt MRSA v souvislosti s kanylací v roce 2007



Zdroj: Vlastní výzkum

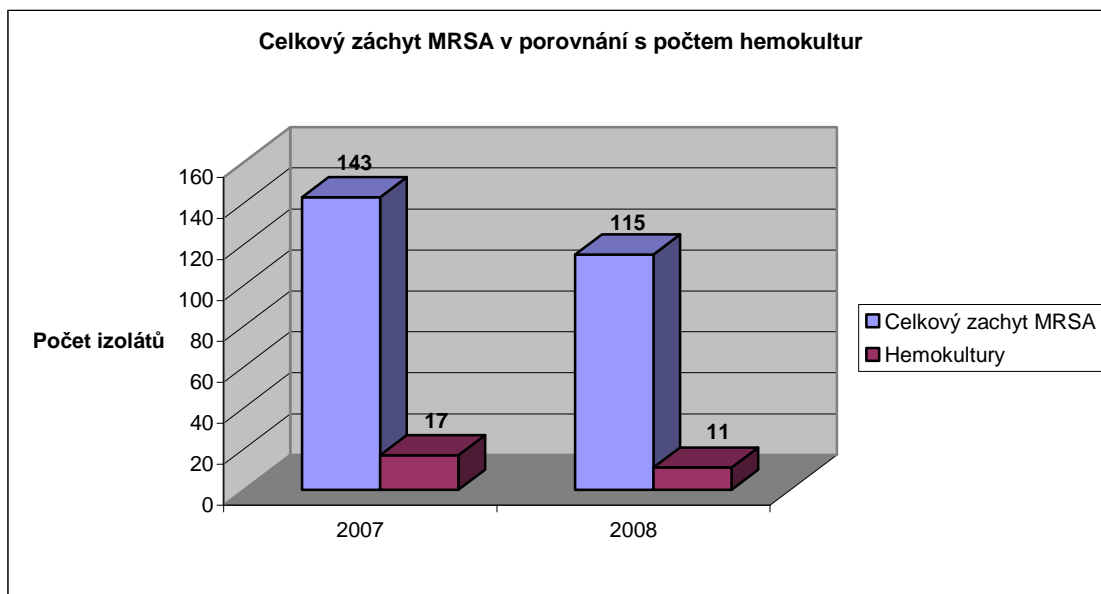
Graf 14. Zobrazuje záchyt MRSA v souvislosti s kanylací v roce 2008



Zdroj: Vlastní výzkum

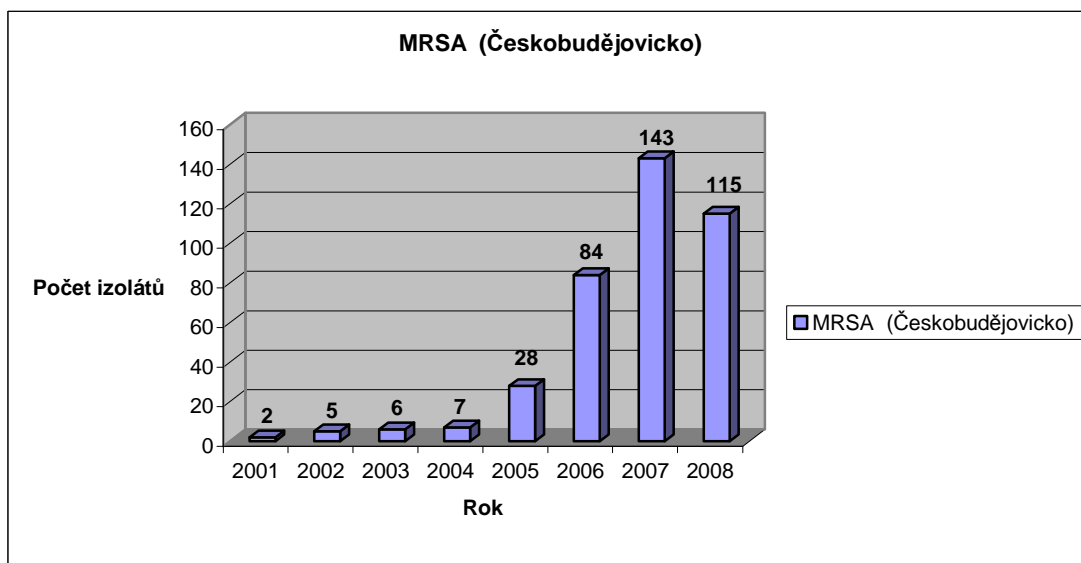
V grafech č. 13 a 14 je zobrazen záchyt MRSA v souvislosti s kanylací. Ve všech záchytech znázorněných v těchto dvou grafech je záchyt MRSA z hemokultur. Jsou však rozděleny do skupin př.: Záchyt MRSA v hemokultuře odebrané z kanyly, nebo infekce MRSA vlastním kmenem. Jedná se o záchyt izolátů MRSA v kraji Českobudějovickém.

Graf 15. Celkový záchyt MRSA v porovnání s hemokulturami



Zdroj: Vlastní výzkum

Graf 16. Záchyt MRSA (Českobudějovicko) v rozmezí let 2001-2008



Zdroj: Laboratoř mikrobiologie – antibiotické středisko

V grafu č. 13 je znázorněn celkový záchyt MRSA v porovnání s četností výskytu hemokultur. Okres českobudějovický a českokrumlovský je v tomto případě sloučen.

V grafu č 14 je znázorněn záchyt MRSA za delší časové období, tedy 2001 – 2008. Okres Českobudějovický a Českokrumlovský je v tomto případě také sloučen.

4.3. Situace ve vybraných Evropských státech

Tabulka 1. Norsko

Norsko			
Počet laboratoří a počet nahlášených izolátů v období 1999 - 2004			Procentuální poměr nevnímavých jedinců (MRSA) k antibiotikům
	Počet laboratoří	Počet izolátů	<1
1999	7	188	<1
2000	8	286	<1
2001	8	293	<1
2002	8	376	<1
2003	8	371	<1
2004	8	403	<1

Zdroj: The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)

(<<http://www.rivm.nl/earss/>>)

Tabulka 2. Norsko

Původ izolátů v období 1999 - 2004		
Zdroj izolátu	Celkový počet	Počet MRSA
krev	100	0
CSF	0	0
Pohlaví		
ženské	39	0
mužské	57	0
Věk (roky)		
0-4	4	0
5-19	4	0
20-64	35	0
65 a více	56	0
Nemocniční oddělení		
JIP	6	0
interna	41	0
chirurgie	18	0
Jiné	30	0

Zdroj: The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)

(<<http://www.rivm.nl/earss/>>)

Tabulky č.1 a č.2 zobrazují počet laboratoří a počet nahlášených izolátů. Procentuální poměr nevnímavých jedinců (MRSA) k antibiotikům. Místo záchytu izolátů. Období 1999 – 2004.

Tabulka 3. Švédsko

Švédsko			
Počet laboratoří a počet nahlášených izolátů v období 1999 - 2004			Procentuální poměr nevnímavých jedinců (MRSA) k antibiotikům
	Počet laboratoří	Počet izolátů	
			<1
1999	24	1320	<1
2000	19	1478	<1
2001	21	1633	<1
2002	21	1836	<1
2003	21	1855	<1
2004	21	1905	<1

Zdroj: The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)

(<<http://www.rivm.nl/earss/>>)

Tabulka 4. Švédsko

Původ izolátů v období 1999 - 2004		
Zdroj izolátu	Celkový počet	Počet MRSA
krev	100	1
CSF	0	0
Pohlaví		
ženské	38	1
mužské	59	1
Věk (roky)		
0-4	4	1
5-19	4	0
20-64	34	1
65 a více	58	1
Nemocniční oddělení		
JIP	7	0
interna	43	0
chirurgie	15	1
Jiné	35	1

Zdroj: The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)

(<<http://www.rivm.nl/earss/>>)

Tabulky č.3 a č.4 zobrazují počet laboratoří a počet nahlášených izolátů. Procentuální poměr nevnímavých jedinců (MRSA) k antibiotikům. Místo záchytu izolátů. Období 1999 – 2004.

Tabulka 5. Finsko

Finsko			
Počet laboratoří a počet nahlášených izolátů v období 1999 - 2004			Procentuální poměr nevnímavých jedinců (MRSA) k antibiotikům
	Počet laboratoří	Počet izolátů	
1999	13	316	<1
2000	12	362	1
2001	13	606	<1
2002	15	721	<1
2003	16	727	1
2004	17	882	3

Zdroj: The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)

(<<http://www.rivm.nl/earss/>>)

Tabulka 6. Finsko

Původ izolátů v období 1999 - 2004		
Zdroj izolátu	Celkový počet	Počet MRSA
krev	100	2
CSF	0	0
Pohlaví		
ženské	39	2
mužské	61	2
Věk (roky)		
0-4	4	2
5-19	6	0
20-64	44	1
65 a více	46	2
Nemocniční oddělení		
JIP	2	2
interna	16	2
chirurgie	10	2
Jiné	29	1

Zdroj: The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)

(<<http://www.rivm.nl/earss/>>)

Tabulky č.5 a č.6 zobrazují počet laboratoří a počet nahlášených izolátů. Procentuální poměr nevnímavých jedinců (MRSA) k antibiotikům. Místo záchytu izolátů. Období 1999 – 2004.

Tabulka 7. Itálie

Itálie			
Počet laboratoří a počet nahlášených izolátů v období 1999 - 2004			Procentuální poměr nevnímavých jedinců (MRSA) k antibiotikům
	Počet laboratoří	Počet izolátů	
1999	56	1158	41
2000	48	456	44
2001	53	839	41
2002	53	1343	38
2003	19	394	38
2004	42	1219	40

Zdroj: The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)

(<<http://www.rivm.nl/earss/>>)

Tabulka 8. Itálie

Původ izolátů v období 1999 - 2004		
Zdroj izolátu	Celkový počet	Počet MRSA
krev	100	40
CSF	0	0
Pohlaví		
ženské	34	38
mužské	56	41
Věk (roky)		
0-4	2	17
5-19	2	14
20-64	29	32
65 a více	43	44
Nemocniční oddělení		
JIP	13	59
interna	34	35
chirurgie	11	49
Jiné	28	32

Zdroj: The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)

(<<http://www.rivm.nl/earss/>>)

Tabulky č.7 a č.8 zobrazují počet laboratoří a počet nahlášených izolátů. Procentuální poměr nevnímavých jedinců (MRSA) k antibiotikům. Místo záchytu izolátů. Období 1999 – 2004.

Tabulka 9. Chorvatsko

Chorvatsko			
Počet laboratoří a počet nahlášených izolátů v období 1999 - 2004			Procentuální poměr nevnímavých jedinců (MRSA) k antibiotikům
	Počet laboratoří	Počet izolátů	
1999	0	0	/
2000	10	382	18
2001	9	278	8
2002	11	455	12
2003	20	871	15
2004	30	1420	14

Zdroj: The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)

(<<http://www.rivm.nl/earss/>>)

Tabulka 10. Chorvatsko

Původ izolátů v období 1999 - 2004		
Zdroj izolátu	Celkový počet	Počet MRSA
krev	100	14
CSF	0	0
Pohlaví		
ženské	41	13
mužské	58	15
Věk (roky)		
0-4	3	3
5-19	3	5
20-64	41	12
65 a více	53	16
Nemocniční oddělení		
JIP	12	27
interna	45	11
chirurgie	12	20
Jiné	28	11

Zdroj: The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)

(<<http://www.rivm.nl/earss/>>)

Tabulky č.9 a č.10 zobrazují počet laboratoří a počet nahlášených izolátů. Procentuální poměr nevnímavých jedinců (MRSA) k antibiotikům. Místo záchytu izolátů. Období 1999 – 2004.

Tabulka 11. Portugalsko

Portugalsko			
Počet laboratoří a počet nahlášených izolátů v období 1999 - 2004			Procentuální poměr nevnímavých jedinců (MRSA) k antibiotikům
	Počet laboratoří	Počet izolátů	
1999	13	369	37
2000	8	150	25
2001	16	521	32
2002	16	543	38
2003	22	1033	45
2004	23	1062	46

Zdroj: The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)

(<<http://www.rivm.nl/earss/>>)

Tabulka 12. Portugalsko

Původ izolátů v období 1999 - 2004		
Zdroj izolátu	Celkový počet	Počet MRSA
krev	100	41
CSF	0	0
Pohlaví		
ženské	38	41
mužské	62	41
Věk (roky)		
0-4	2	9
5-19	3	26
20-64	42	35
65 a více	43	52
Nemocniční oddělení		
JIP	11	58
interna	26	45
chirurgie	8	54
Jiné	49	32

Zdroj: The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)

(<<http://www.rivm.nl/earss/>>)

Tabulky č.11 a č.12 zobrazují počet laboratoří a počet nahlášených izolátů. Procentuální poměr nevnímavých jedinců (MRSA) k antibiotikům. Místo záchytu izolátů. Období 1999 – 2004.

5. Diskuze

Hlavním cílem mé práce bylo vytipovat riziková pracoviště, rizikové pacienty atp. K tomu, abych tohoto cíle dosáhla, jsem graficky a statisticky zpracovala data (Českokrumlovsko, Českobudějovicko) získaná z roku 2007 a 2008. Soubor dat, který vznikl, obsahuje 143 záchyťů izolátů v roce 2007 (z toho 17 hemokultur) a 115 izolátů v roce 2008 (z toho 15 hemokultur). Myslím, že pro objektivní posouzení situace v Čechách vůči Evropě, bylo dobré zpracovat data i z vybraných evropských států (3 severní a 3 jižní státy).

V případě záchyťu MRSA dle pohlaví je u mužů záchyť v roce 2007 a 2008 téměř stejný (viz graf č. 1 a 2). Jak v případě záchyťu obecně, tak v případě pozitivních hemokultur. Procentuálně vyjádřeno 5,3% z počtu 76 záchyťů v roce 2007 a 6,5% z počtu 72 záchyťů v roce 2008. U žen je v roce 2007 výrazně vyšší než v roce 2008, u obecného záchyťu i u pozitivních hemokultur. V procentech 6,7% z 67 záchyťů v roce 2007 a 0,9% z počtu 43 záchyťů v roce 2008 (viz graf č. 1 a 2).

Zaměříme-li se na záchyť MRSA u jednotlivých věkových skupin v roce 2007 a 2008 (viz graf č. 3 a 4), tak objevíme shodné znaky. Nejpatrnější shodou je vysoký záchyť MRSA u věkové skupiny 70-79 let (2,1% z počtu 43 záchyťů za rok 2007 a 1,3% z počtu 32 záchyťů v roce 2008), kde je také vysoký záchyť pozitivních hemokultur. Nejvyšší počet pozitivních hemokultur je u věkové skupiny 60-69 let (2,6% z počtu 33 záchyťů za rok 2007 a 1% z počtu záchyťů 24 v roce 2008). Výrazný je také záchyť u skupiny 0-49 let, což je dáno šíří této skupiny.

Záchyť dle jednotlivých měsíců neukázal jednoznačnou závislost výskytu MRSA na ročním období (viz graf č.5 a 6). Stejně tak rezistence k jednotlivým antibiotikům zůstává stejná, objevují se pouze ojedinělé odchylky (viz graf č. 7 a 8). Za povšimnutí stojí záchyť jednoho případu rezistence MRSA k vankomycinu v roce 2007. Již v teoretické části jsem zmínila, že od roku 1996 se objevují zprávy o záchyťu MRSA se sníženou citlivostí k vankomycinu (VRSA).

Jednotlivá oddělení bylo nutné pro přehlednost rozdělit do dvou skupin: oddělení s vyšším záchyťem a s nižším záchyťem (viz graf č.9 a 10). Vysoký záchyť MRSA je na oddělení následné péče, zanedbatelný není ani záchyť pozitivních hemokultur na tomto

oddělení. Nejvyšší počet záchytu MRSA v hemokulturách je na interním oddělení. Počet hemokultur zde nemusí souhlasit s celkovým počtem hemokultur a to z důvodu, že jsou zde zpracovány všechny záchyty MRSA. Může se tedy stát, že více záchytů je od jednoho pacienta v průběhu jeho léčby). V případě skupiny oddělení s nižším počtem záchytu MRSA jsou počty MRSA minimální (viz graf č. 11 a 12).

Ve výzkumu lékařské fakulty v Martině bylo zjištěno, že zhruba 50-60% pacientů v intenzivní péči má zavedenou kanylaci krevního řečiště. Asi u 30% těchto kanyl dojde k jejich kolonizaci. Infekční komplikace spojená s kanylací krevního řečiště je 2. až 3. nejčastější příčinou nozokomiální septické komplikace (7). Podle mého výzkumu je v roce 2007 i 2008 nejčastější výskyt MRSA v hemokulturách po kanylaci (viz graf č. 13 a 14). Stejně častá je také v roce 2007 a 2008 infekce krevního řečiště způsobená vlastním kmenem (tedy endogenní infekce).

Během posledních několika let (2001-2007) docházelo k četnějšímu záchytu MRSA obecně (viz graf č.16). V roce 2008 došlo k celkem výraznému poklesu záchytu izolátů MRSA. Snížení četnosti záchytu se týká infekcí MRSA obecně i záchytu pozitivních hemokultur. Vyjádřeno v procentech tvoří hemokultury v roce 2007 24,3% z počtu 143 záchytů a v roce 2008 17,3% z počtu záchytů 115 (viz graf č.15).

U dat z Evropy je velmi zřetelný rozdíl mezi zeměmi jižními a severními. Podstatně lepší situace v záchytu MRSA je u zemí severních, kde je nejnižší záchyt v Norsku, Švédsku a následuje Finsko. Hodnoty jednotlivých záchytů jsou minimální (viz tabulky č.1-6).

U zemí jižních je situace podstatně horší. Co se týče věkových skupin je zde situace stejná jako u nás. Tedy značný nález izolátů je u pacientů ve věku 50 let a více (viz tabulky č.7-12). Stejně tak je shoda se situací u nás v případě rozdělení dle pohlaví (viz tabulky č.7-12). V případě nemocničních oddělení je také vysoký záchyt na interním oddělení a jednotce intenzivní péče. Nevýhodou však je, že zdroj, ze kterého jsem čerpala, uvádí jednotlivá oddělení sloučená do skupin. Např: Do skupiny chirurgie je zahrnuto i kardiologické oddělení (viz tabulky č.7-12).

6. Závěr

Bakterie patří k životu každého z nás. Bez přítomnosti mikrobiální flóry v tlustém střevě by život člověka nebyl možný. Ovšem velké množství druhů bakterií život spíše komplikují. Jedním z nich je methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*, jehož charakteristikou, vyhledávacími metodami a záchytem v roce 2007 a 2008 jsem se v této práci zabývala.

V práci jsem vyslovila tři hypotézy. Hypotéza č.1: Záchyt zvýšeného výskytu methicilin rezistentních izolátů v průběhu vymezeného časového období. Od roku 2001 do roku 2008 měl záchyt izolátů MRSA zvyšující se tendenci. Podle mého názoru byla tedy epidemiologická pracoviště zdravotnických zařízení nucena přistoupit k přísnějším hygienickým a protiepidemiologickým opatřením, což mělo za následek snížení záchytu v roce 2008. Hypotéza č.1 byla tedy vyvrácena.

Hypotéza č.2: Souvislost infekcí krevního řečiště způsobených MRSA s kanylací pacientů. Tato hypotéza byla potvrzena. U invazivního zákroku kanylace, je nutné dodržovat zásady asepse. Septické komplikace u kanylových infekcí prodlužují dobu hospitalizace pacienta a také zvyšují náklady na terapii. Velmi důležitá je zde hlavně hygiena rukou, které hrají roli u přenosu většiny nosokomiálních nákaz, nejen MRSA. Důležitý je tedy výběr vhodných dezinfekčních prostředků, ale i správná technika mytí rukou.

Hypotéza č.3: Zvýšený výskyt infekcí krevního řečiště způsobených MRSA v souvislosti s větším počtem výskytu infekcí způsobených MRSA obecně (s větším záchytem MRSA obecně). Tato hypotéza byla potvrzena u celkového počtu záchytů a záchytu u žen. Vyvrácena byla v případě záchytu u mužů, u věkových skupin a jednotlivých oddělení.

Hlavním cílem mé práce bylo získaná data z roku 2007 a 2008 zpracovat a díky nim vytipovat riziková oddělení, rizikové věkové skupiny, roční období a poukázat na situaci v Evropě. V případě jednotlivých oddělení patří mezi nejrizikovější, při záchytu MRSA obecně, oddělení následné péče. Ovšem při záchytu pozitivních hemokultur je nejrizikovější interní oddělení. Nejdůležitějším pomocníkem při snižování záchytu MRSA obecně, nebo v hemokulturách je určitě prevence.

Záchyt MRSA u jednotlivců se zvyšuje s rostoucím věkem, což je spojeno s častějšími a většími zdravotními problémy a oslabením starších jedinců. U starších pacientů je také častá předchozí hospitalizace, proto by u těchto pacientů bylo možným řešením vhodný screening na přítomnost MRSA a tím by bylo zabráněno dalšímu šíření mezi pacienty.

V případě záchytu dle ročního období, nebyla nalezena souvislost v záchytu MRSA a jednotlivými měsíci v roce.

Když se zaměříme na situaci ve vybraných evropských státech, je výrazný rozdíl mezi zeměmi jižními a severními. Situace u vybraných severních zemí je podstatně lepší. Tento stav je dlouhodobý, tudíž jsou zde zřejmě pečlivě dodržována preventivní opatření a zásady asepse. Také je v těchto zemích kladen důraz na racionální aplikaci antibiotik, z čehož plynou finanční výhody za jejich úhradu. U vybraných jižních zemí je situace opačná. Záchyt izolátů MRSA je vysoký, což je pro tyto země velká finanční zátěž v podobě antibiotické terapie.

Díky této práci jsem si prohloubila znalosti v oblasti problematiky MRSA. Cíle které jsem si stanovila, jsem splnila.

Má práce by mohla být použita jako pomocník pro zlepšení situace v záchytu MRSA, jelikož jsou zde vytipována riziková oddělení, atp. je možné účelně soustředit preventivní opatření. Také by má práce mohla být použita jako studijní materiál pro studenty Zdravotně sociální fakulty.

7. Seznam použité literatury

- 1) BEDNÁŘ M., FRAŇKOVÁ V., SCHINDLER J., et al.: Lékařská mikrobiologie. 1.vyd. Praha: Marvil,1996. 558 s.
- 2) Česká společnost hepato-pankreato-biliární chirurgie (online) Platný <<http://www.hpb.cz/>>
- 3) KAHÁNKOVÁ J., PANTŮČEK R., MACHOVÁ I.,PETRÁŠ P., RŮŽIČKOVÁ V., DOŠKAŘ J.: Charakterizace bakteriofágů konvertujících Pantonův-Valentinův leukocidin u *Staphylococcus aureus*. In *XVI. konference mladých mikrobiologů Tomáškovy dny 2007*. Vyd. Sborník abstraktů. Brno : Mikrobiologický ústav LF MU a FN u svaté Anny v Brně, 2007. s. 28-29. 7.6.2007, Brno.
- 4) Dostupné z WWW: <<http://www.muni.cz/research/publications/719328>>
- 5) MAĐAR R., PODSTATOVÁ R., ŘEHOŘOVÁ J.: Prevence nozokomiálních nákaz v klinické praxi. Praha: Grada, 2006. 184 s. ISBN 80-247-1673-9
- 6) PODSTATOVÁ H.: Mikrobiologie epidemiologie hygiena. 1. vyd. Olomouc: Epava, 2001. 285 s. ISBN 80-86297-07-1
- 7) Spoločnosť prevencie nozokomiálnych nákaz. Nozokomiální nákazy. Zvolen:2008, roč. 7, ISSN 1336-3859
- 8) Šípová I.: Hygienický režim při výskytu MRSA v nemocnici České Budějovice a.s.
- 9) Velký lékařský slovník (online) Platný <<http://lekarske.slovniky.cz/pojem/nozokomialni-nakaza>>
- 10) Velký lékařský slovník (online) Platný <<http://lekarske.slovniky.cz/pojem/sepse>>
- 11) Velký lékařský slovník (online) Platný <<http://lekarske.slovniky.cz>>
- 12) VOTAVA M.: Lékařská mikrobiologie obecná. Brno: Neptun, 2005. 351 s. ISBN 80-86850-00-5
- 13) VOTAVA M., et al.: Lékařská mikrobiologie speciální. Brno: Neptun, 2003. 495 s. ISBN 80-902896-6-5

- 14) VOTAVA M., et al.: Lékařská mikrobiologie II. Brno: Masarykova univerzita v Brně, 2000. 309 s. ISBN 80-210-2272-8
- 15) VOTAVA M., ONDROVČÍK P.: Vybrané kapitoly z klinické mikrobiologie. 1. vyd. Brno: MU, 1998. 90 s. ISBN 80-210-1805-4
- 16) Wikipedia (online) Platný <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Stafylokok>>
- 17) Wikipedia (online) Platný <[http://cs.wikipedia.org/wiki/Transdukce_\(genetika\)](http://cs.wikipedia.org/wiki/Transdukce_(genetika))>
- 18) Wikipedia (online) Platný <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Virulence>>

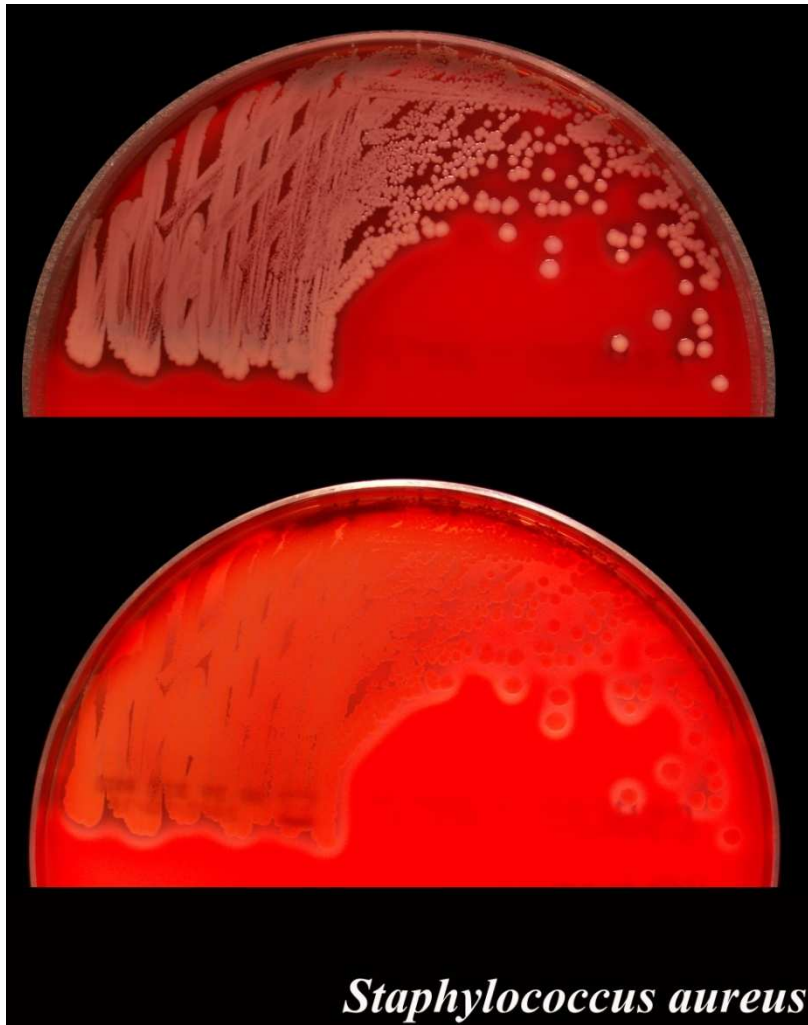
8. Klíčová slova

methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*, antibiotika, hemokultury, infekce

9. Přílohy

9.1. Kultivace na krevním agaru

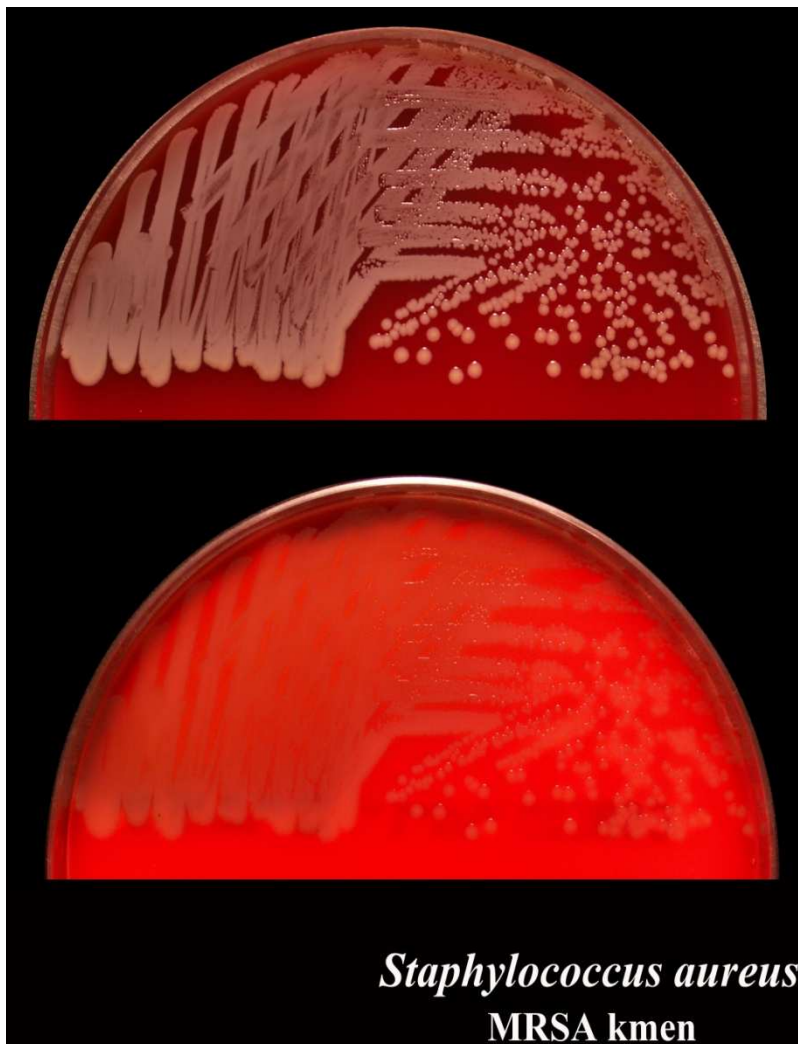
MSSA (methicilin senzitivní *Staphylococcus aureus*)



Zdroj: Laboratoř mikrobiologie – antibiotické středisko

9.2. Kulivace na krevním agaru

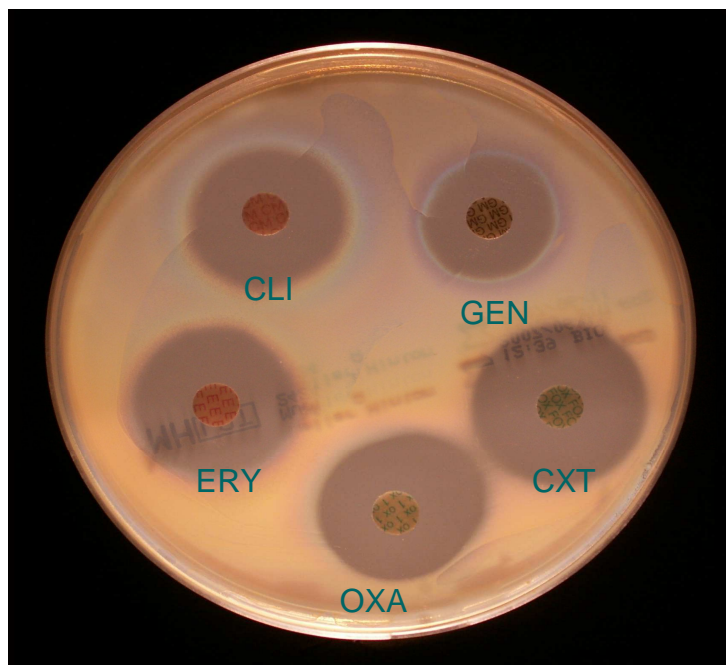
MRSA (methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*)



Zdroj: Laboratoř mikrobiologie – antibiotické středisko

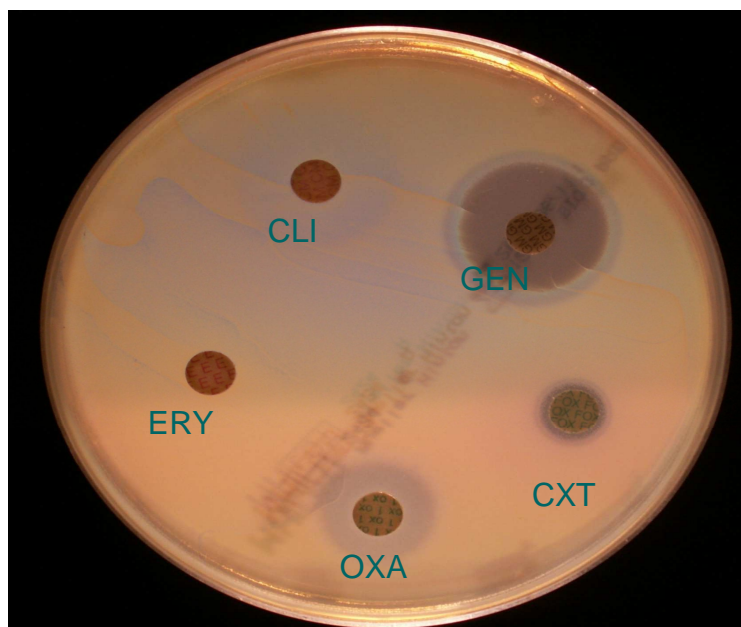
9.3. Citlivost na antibiotika

MSSA



Zdroj: Laboratoř mikrobiologie – antibiotické středisko

MRSA



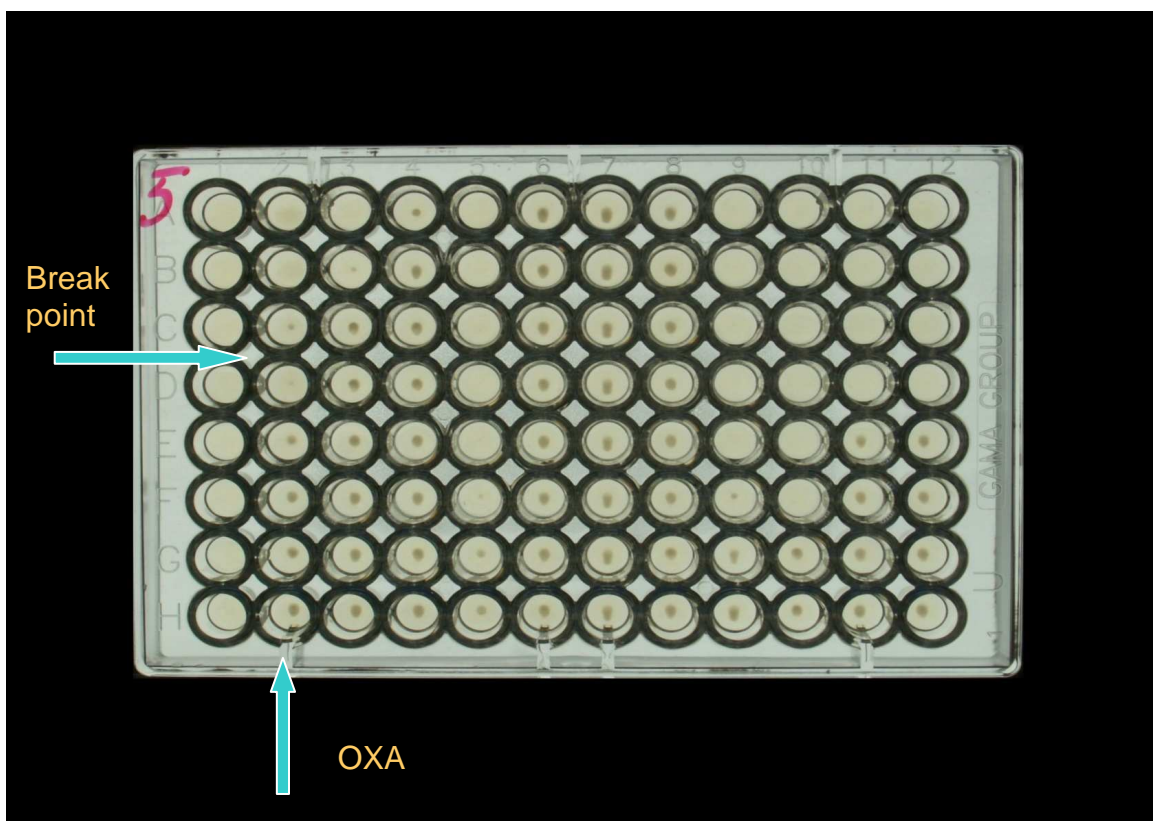
Zdroj: Laboratoř mikrobiologie – antibiotické středisko

9.4. MRSA citlivost



Zdroj: Laboratoř mikrobiologie – antibiotické středisko

9.5. Minimální inhibiční koncentrace antibiotik (MIC)



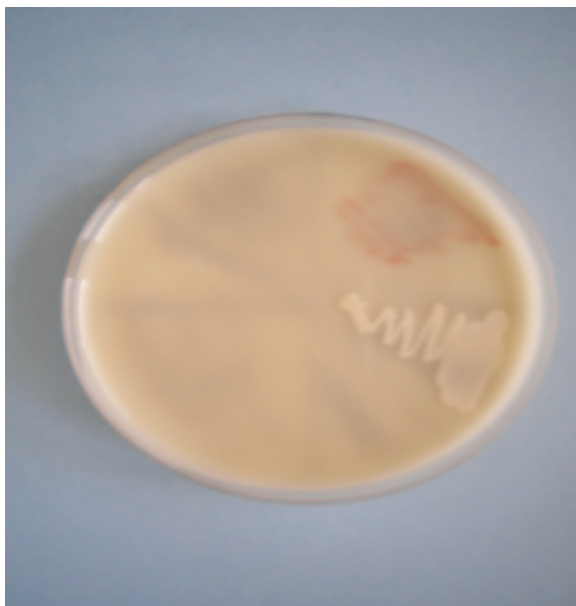
Zdroj: Laboratoř mikrobiologie – antibiotické středisko

9.6. MRSA-select
MRSA



Zdroj: Laboratoř mikrobiologie – antibiotické středisko

9.7. Methicilin rezistentní plasma koaguláza negativní stafylokoky (MRCNS)



Zdroj: Laboratoř mikrobiologie – antibiotické středisko

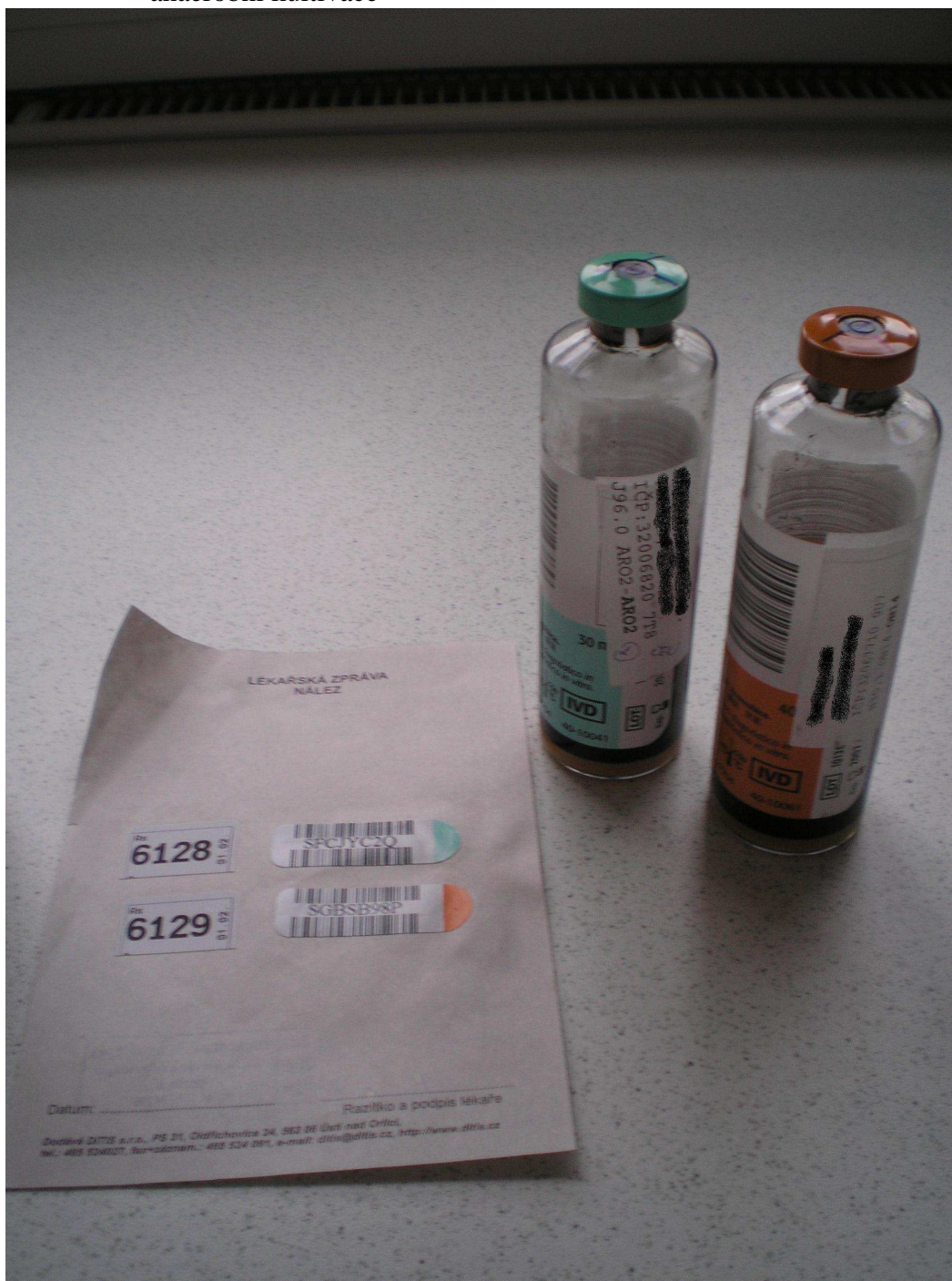
9.8. Hemokultivace

aerobní kultivace



Zdroj: Laboratoř mikrobiologie – antibiotické středisko

9.9. Hemokultivace
anaerobní kultivace



Zdroj: Laboratoř mikrobiologie – antibiotické středisko

9. 10. Hemokultivace
System BacT/ALERT



Zdroj: Laboratoř mikrobiologie – antibiotické středisko

9.11. Hemokultivace

System BacT/ALERT



Zdroj: Laboratoř mikrobiologie – antibiotické středisko

9.12. Vysvětlivky oddělení

Zkratka oddělení	Název oddělení
ONP	Oddělení následné péče
INT	Interní oddělení
CHIR	Chirurgie
ARO	Anesteziologicko-resuscitační odd.
TRA	Traumatologické odd.
KOZ	Kožní odd.
KARD	Kardiologické odd.
GASTR	Gastroenterologické odd.
INF	Infekční odd.
HDS	Hemodialyzační středisko
NEO	Neonatologické odd.
PLC	Plicní odd.
ONK	Onkologické odd.
DEO	Dětské odd.
OBVOD	Obvodní lékař
ORL	Oční, nosní, krční odd.
REH	Rehabilitační odd.
NEF	Nefrologické odd.
STM. CHIR.	Stomato-chirurgické odd.
URO	Urologické odd.
NCHL	Neurochirurgické odd.
PR. L.	Pracovní lékařství
PSO	Psychologické odd.
PAT	Patologie
ORT	Ortopedické odd.