

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta

**Surveillance bakteriální kmenů produkujících širokospektrou beta-
laktamázu**

diplomová práce

Autor práce: Martina Vlasová, Bc.
Studijní program: Civilní nouzová připravenost
Studijní obor: Ochrana obyvatelstva

Vedoucí práce: doc. Dr.rer.nat. Friedo Zölzer

Datum odevzdání práce: 21. 5. 2013

Abstrakt

V úvodní části mé diplomové práce se zaměřuji na zmapování problematiky spojené s antibiotickou terapií a následným rozvojem antibiotické rezistence. Sledování rezistence se zakládá především na sběru dat a vyhodnocování výsledků stanovených citlivostí z celého světa. Rostoucí výskyt rezistentních bakterií je stále větším zdravotním problémem, protože omezuje nebo zhoršuje možnosti léčby, prodlužuje ji a nadměrně zatěžuje pacienty po nehodách a hromadných haváriích, zvláště při těžkých úrazech, popáleninách nebo polytraumatech. Vývoj antibiotické rezistence se urychluje zejména v důsledku nadměrného a nevhodného používání antibiotických látek, což spolu se špatně prováděnou prevencí a kontrolou infekcí vytváří příznivé podmínky pro rozvoj a šíření rezistentních mikroorganismů.

Dále jsem v práci uvedla rozdělení antibiotik a jejich klinickou účinnost. Podrobněji jsem se zaměřila na beta-laktamová antibiotika, která jsou kritická pro léčbu infekcí způsobených kmeny produkujícími širokospektrou beta-laktamázu (ESBL). Dále se věnuji problematice ekologie bakteriální rezistence. Antibiotická rezistence je přirozený jev, který se uplatňuje v evoluci mikrobů jako jeden z mechanismů adaptace na nové podmínky v prostředí. Epidemicky úspěšné rezistentní klony se vyznačují např. vyšší schopností kolonizovat gastrointestinální trakt, přežívají lépe v prostředí, mohou disponovat některými faktory patogenity atd. V dalších kapitolách se již zabývám rozdělením rezistentních kmenů gramnegativních tyčků, které jsou schopny velmi rychle reagovat na zavedení nových antibiotik. Záhy po zavedení cefalosporinů III. generace došlo u enterobakterií k selekci širokospektrých beta-laktamáz.

Na závěr teoretické části jsem popsala českou i evropskou legislativu a nástroje pro kontrolu výskytu antibiotické rezistence. Na základě doporučení Rady EU a důkazů o nárůstu rezistentních kmenů bakterií byl Usnesením Vlády ČR č. 595 ze dne 4. května 2009 ustanoven Národní antibiotický program (NAP), který byl zveřejněn ve Věstníku ministerstva zdravotnictví č. 9/2009. Hlavní činnosti a

funkce NAP jsou vyjmenovány a podrobně rozvedeny v Akčním plánu NAP pro období let 2012 až 2013. Optimalizace používání antibiotik ve smyslu omezení jejich nadužívání, případně nesprávného používání, je základním nástrojem pro omezení vzestupu antibiotické rezistence a zachování dostatečných možností účinné léčby infekcí v nemocnici. Vhodným způsobem je začlenění Antibiotického programu do nemocničního programu kvality a bezpečnosti. K tomuto účelu výborně slouží Antibiotická střediska.

Pro tuto práci jsem si zvolila výzkumnou otázku, zda se výskyt ESBL kmenů v Nemocnici České Budějovice a.s. v čase zvyšuje a zda jsou tyto hodnoty srovnatelné s hodnotami dosaženými v moravských nemocnicích. Jedná se o Fakultní nemocnici Olomouc, Fakultní nemocnici Ostrava a Krajskou nemocnici T. Bati ve Zlíně.

Sběr dat jsem prováděla ve spolupráci s laborantkami a lékaři v laboratoři Bakteriologie Nemocnice České Budějovice a.s. Bakterie testované na průkaz produkce ESBL pocházely z biologických materiálů pacientů Nemocnice České Budějovice a.s. Od každého pacienta jsem použila vždy jen jeden pozitivní vzorek, a to ten, který jsem zachytila jako první v odpovídajícím materiálu. Vzorky jsem zpracovala a kultivovala, a narostlé izoláty gramnegativních tyčků jsem identifikovala. Následně jsem je podrobila stanovení antibiogramu a u podezřelých jedinců provedla test na produkci ESBL. Sebraná data jsem porovnávala s výsledky dosaženými v minulých letech, které mi byly poskytnuty laboratoří Bakteriologie Nemocnice České Budějovice a.s. Dále jsem výsledky porovnávala se studií Prevalence ESBL-pozitivních enterobakterií ve velkých moravských nemocnicích publikovanou v odborném časopise Klinická mikrobiologie a infekční lékařství.

Prvním cílem bylo porovnání výsledků v Nemocnici České Budějovice a.s. v čase, a bylo zaměřeno na období 2007 – 2012. Pokud se zaměřím na celkový počet ESBL kmenů, které byly izolovány od roku 2007, mají hodnoty vzestupnou tendenci. Zatímco v roce 2007 bylo zjištěno jen 64 kmenů o rok později se počet více než zdvojnásobil. V roce 2010 se hodnoty vyšplhaly na 281 kmenů a ve

sledovaném roce 2012 dosáhl počet na 321 kmenů. Výskyt ESBL kmenů se od roku 2007 navýšil asi pětkrát. Kromě zvyšující se tendence lze z dlouhodobého hlediska říci, že se výrazně změnilo spektrum výskytu jednotlivých druhů v produkci ESBL. V roce 2007 to byly kmeny *K. pneumoniae*, které dominovaly statistikám, ale postupem času se do popředí dostávaly kmeny *E. coli*. Hodnoty z roku 2012 ale ukazují, že výskyt ESBL kmenů *K. pneumoniae* je opět téměř srovnatelný s počtem kmenů *E. coli*.

Druhým cílem bylo porovnat výsledky z roku 2012 se studií Prevalence ESBL-pozitivních enterobakterií ve velkých moravských nemocnicích. V celkovém přehledu všech producentů ESBL jsou hodnoty nemocnice České Budějovice (5,23 %) srovnatelné s hodnotami v Ostravě (4,9 %) a ve Zlíně (4,3 %). Počet kmenů v nemocnici v Olomouci je oproti Č. Budějovicím asi dvakrát vyšší (11,8 %). České Budějovice se v tomto porovnání řadí spíše k nemocnicím s nižším výskytem ESBL producentů. Nemocnice České Budějovice a.s. se nachází pod celorepublikovým průměrem, což vychází z jejího propracovaného systému péče o pacienty s kolonizací nebo infekcí ESBL kmeny a ze systému kontroly antibiotické terapie pomocí antibiotického střediska. Tyto výsledky mohou sloužit Nemocnici České Budějovice ke statistickým účelům a také k návrhům na zlepšování péče o pacienty.

V diskuzi jsem poukázala na nebezpečí šíření rezistentních kmenů bakterií v komunitě a s tím spojené nebezpečí při závažných nebo hromadných haváriích. V těchto případech může skrz otevřené rány postižených vnikat do těla řada infektů včetně ESBL producentů. Na rozdíl od běžných citlivých bakterií nejsou tyto citlivé k běžně používaným antibiotikům a tím ohrožují životy lidí postižených havárií.

Klíčová slova: bakteriální rezistence, širokospektrá beta-laktamáza, polytrauma, antibiotická léčba, hromadná havárie.

Abstract

In the first part of my thesis I focus on mapping problems associated with antibiotic therapy and subsequent development of antibiotic resistance. Tracking resistance is based primarily on data collection and evaluation of the results set sensitivity from around the world. The increasing prevalence of resistant bacteria is an emerging medical problem mainly because it reduce and deteriorate the treatment options. The treatment is more and more extended and over-burden patients after accidents and mass emergencies, especially patients with severe injuries, burns or polytraumas. The development of antibiotic resistance is accelerated mainly due to excessive and inappropriate use of antibiotic substances. This together with the poor implementation of infection prevention and control creates favorable conditions for the development and spread of resistant microorganisms.

I also stated in this study division of antibiotics and their clinical efficiency. More specifically, I focused on beta-lactam antibiotics, which are essential for the treatment of infections caused by strains that produce extended-spectrum beta-lactamase (ESBL). Furthermore, I attend to ecology of bacterial resistance. Antibiotic resistance is a natural phenomenon that can be observed in the evolution of microbes as one of the mechanisms of adaptation to new conditions in the environment. Epidemically successful resistant clones for example have better abilities to colonize the gastrointestinal tract, perform better in the environment, may have some pathogenicity factors etc. In the subsequent chapters I am dealing with the division of resistant strains of Gram-negative bacilli, which are able to react very quickly to the newly introduced antibiotics. Soon after the introduction of the III. generation of cephalosporins the selection of extended-spectrum beta lactamases by Enterobacteriaceae was observed.

At the end of the theoretical part I described the Czech and European legislation and instruments for monitoring the occurrence of antibiotic resistance. Based on the recommendation of the Council of the EU and the evidence of an

increase of resistant strains of bacteria was by the Resolution of the Government of the Czech republic No.595 4th May 2009 established National antibiotic program (NAP) which was promulgated in bulletin of the Ministry of Health No. 9/2009. Main activities and functions NAP are listed and detailed in the Action Plan NAP for the period 2012 to 2013. Optimization of the usage of antibiotics in order to restriction of their overuse or improper use is an essential tool for limiting expansion of antibiotic resistance and maintaining of sufficient options for effective treatment of infections in hospital. A good way to achieve this is to incorporate the Antibiotic programme to the programme of quality and safety of the hospital. Antibiotic centers serves excellently for this purpose.

For this work I have chosen the following research questions. Do the incidence of ESBL strains in the České Budějovice Hospital a.s. increase over time? Are these values comparable to those achieved in another region, namely in Moravian hospitals the University Hospital of Olomouc, Ostrava University Hospital and Regional University Hospital of T. Bata in Zlin?

The data collection I made in collaboration with the laboratory technicians and doctors at Hospital's Bacteriology Laboratory in České Budějovice. Bacteria tested for the detection of ESBL production originated from biological materials, which came from patients of hospital in České Budějovice. From each patient, I used only one positive sample, which I detected as first in the appropriate material. I processed and cultivated each sample and after cultivation I identified grown isolates of Gram-negative bacilli. Afterwards I put them through antibiogram and suspicious samples I tested for production of ESBL. The collected data were compared with the results achieved in the past years that Hospital's Bacteriology Laboratory in České Budějovice have been provided to me. Furthermore, I compared the results with the study "the Prevalence of ESBL-positive Enterobacteriaceae in large Moravian hospitals" which was published in the medical journal "Clinical Microbiology and Infectious Diseases".

The first objective was to compare the results achieved in the České Budějovice Hospital in the period of 2007 to 2012. If we look at the total number

of ESBL strains that have been isolated since 2007, values have upward trend. While in 2007 there were only 64 strains a year later, the number more than doubled. In 2010, the value soared to 281 tribes and in the year 2012, the number was 321 tribes. The incidence of ESBL strains in 2007 increased about five times. In the long term we can say the numbers have increasing tendency and the range of each species in the production of ESBL has significantly changed. In 2007, it was *K. pneumoniae* strains that dominated the statistics, but over time the strains of *E. coli* came forefront. Values of 2012 suggest that the presence of ESBL strains of *K. pneumoniae* is again almost equal to the number of *E. coli* strains.

The second objective was to compare the results of the 2012 with study of the Prevalence of ESBL-positive Enterobacteriaceae in large Moravian hospitals. In the general overview of ESBL producers values in Hospital České Budějovice (5.23%) are comparable to those in Ostrava (4.9%) and in Zlín (4.3%). Number of strains in the Hospital in Olomouc (11.8%) is about twice as high as the numbers in České Budějovice. In this comparison the České Budějovice Hospital is one of the hospitals with a lower incidence of ESBL producers. The České Budějovice Hospital is below the national average, which originate from an elaborate system of care for patients with colonization or infection with ESBL strains, and from therapy control system using antibiotic center. These results may serve to the Hospital in České Budějovice for statistical purposes, and also for proposals for improving patient care.

In the discussion, I pointed out the danger of the spread of resistant strains of bacteria in the community and also the associated risks that mentioned bacteria mean for patients injured in mass accidents or disasters. In these cases, number of infections including ESBL producers can penetrate through open wounds into the affected body. Unlike conventional sensitive bacteria those strains are resistant to commonly used antibiotics and thereby endanger the lives of people affected by the accident.

Keywords: antibiotic resistance, Extended-spectrum beta-lactamase, polytrauma, antibiotic therapy, mass accident.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval(a) 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 diplomové práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 21. 5. 2013

.....

Bc. Martina Vlasová

Poděkování

Děkuji vedoucímu práce doc. Dr.rer.nat. Friedo Zölzerovi za vedení mé diplomové práce a za trpělivost, kterou se mnou při konzultacích měl. Dále děkuji MUDr. Magdaleně Horníkové za poskytnuté podklady a cenné rady, kterými výrazně přispěla k vytvoření této práce.

Obsah

Seznam použitých zkratk	13
Úvod	14
1 Teoretická část	16
1.1 Historie	16
1.2 Současnost	17
1.3 Princip antibiotické léčby	17
1.3.1 Antimikrobní účinnost	18
1.3.2 Mechanismus účinku	19
1.3.2.1 Buněčná stěna	19
1.3.2.2 Proteosyntéza	20
1.3.2.3 Syntéza nukleových kyselin	21
1.3.2.4 Metabolismus bakterie	21
1.3.2.5 Porušení buněčné membrány	21
1.3.3 Klinická účinnost	23
1.4 Beta-laktamová antibiotika	24
1.4.1 Peniciliny	25
1.4.2 Cefalosporiny	27
1.4.3 Ostatní beta-laktamová antibiotika	30
1.5 Ekologie antibiotické rezistence	31
1.6 Rezistence u gramnegativních tyčků	34
1.7 Rozdělení ESBL	35
1.7.1 Skupina TEM	37
1.7.2 Skupina SHV	37
1.7.3 Skupina CTX-M	38
1.7.4 Skupina OXA	38
1.7.5 Ostatní skupiny	39
1.8 Péče o pacienty s výskytem ESBL pozitivních kmenů	39
1.8.1 Riziková skupina	41

1.8.2 Kazuistiky	42
1.9 Evropská legislativa.....	44
1.10 Národní antibiotický program	45
1.10.1 Organizační uspořádání NAP	48
1.10.2 Centrální koordinační skupina NAP	49
1.10.3 Regionální koordinační skupiny.....	50
1.10.4 Antibiotická střediska	50
1.10.5 Národní referenční laboratoř (NRL) pro antibiotika	51
1.10.6 Subkomise pro antibiotickou politiku ČLS JEP (SKAP)	52
1.11 Aktivní Surveillance	53
1.11.1 EPI-DAT	55
1.11.2 European Centre for Disease Prevention and Control.....	57
1.11.3 European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net).....	59
1.12 Databáze TESS.....	60
1.13 Nebezpečí šíření multirezistentních kmenů	64
1.13.1 Karbapenemázy	65
1.13.1.1 Enzym <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase (KPC)	66
1.13.1.2 New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM).....	67
1.13.1.3 Multirezistentní <i>Acinetobacter baumannii</i>	67
2 Výzkumná otázka.....	70
3 Metodika	71
3.1 Zpracování biologického materiálu	71
3.1.1 Bronchiální sekret a sputum.....	72
3.1.2 Krev	72
3.1.3 Moč.....	73
3.1.4 Hnis, punktát a sekret z rány.....	74
3.2 Kultivace	75
3.3 Identifikace bakteriálních kolonií.....	75
3.3.1 Použité metody.....	76
3.4 Stanovení antibiogramu	79

3.4.1 Diskový difúzní test.....	79
3.4.3 VITEK 2.....	80
3.5 Testování produkce ESBL	81
3.5.1 ChromID™ ESBL	81
3.5.2 DDST	82
3.5.3 Konfirmační metoda CLSI.....	83
4 Výsledky	87
4.1 Celkový přehled.....	87
4.2 Přehled podle typu nemocniční péče	89
4.3 Přehled podle typu nemocničního oddělení	91
4.4 Výskyt podle typu biologického vzorku.....	92
5 Diskuze	95
5.1 Zhodnocení výsledků pro rok 2012.....	95
5.2 Porovnání výsledků roku 2012 s výsledky z předchozích let	96
5.3 Porovnání výsledků s publikací Prevalence ESBL pozitivních enterobakterií ve velkých moravských nemocnicích	100
5.4 Nebezpečí šíření ESBL pozitivní kmenů.....	104
5.5 Nebezpečí při nehodách a závažných haváriích.....	105
6 Závěr.....	108
7 Seznam informačních zdrojů	110
8 Přílohy	117

Seznam použitých zkratek

MIC	minimální inhibiční koncentrace
G+	grampozitivní
G-	gramnegativní
ESBL	širokospektrá beta-laktamáza
EU	Evropská unie
WHO	World health organization
NAP	Národní antibiotický program
CKS	Centrální koordinační skupina
ČLS JEP	Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně
AS	Antibiotická střediska
NRL	Národní referenční laboratoř
SKAP	Subkomise pro antibiotickou politiku ČLS JEP
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
TESS	The European Surveillance System
NRL	Národní referenční laboratoř
EARS-Net	European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
CSB	Columbia agar s 5% příměsí ovčí krve
CNA	Columbia agar s 5% příměsí ovčí krve a antibiotik kolistinu a kyseliny Nalidixové
CHOC	Chocolate Agar + P.V.S. a přidaným antibiotikem Bacitracinem
MCV	MacConkey Agar s Crystalovou Violetí
SAB	Sabouraud Agar
PO	Thioglykolátová půda tekutá
DDST	Double Disk Synergy Tets
CFU	Colonia Forming Unit
BSAC	British Society for Antimicrobial
EUCST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Trstiny
DDST	Double disk synergy test

Úvod

Antibiotická rezistence, mnohokrát opakovaná slova, která většina z nás slyšela a možná se nad nimi i zamyslela. Ale chápeme skutečnost, že svým chováním můžeme snížit rychlost jejího rozvoje?

Dnes se mnoho odborníků zabývá ochranou našich životů před možnými ohroženími. Před dopady nepřízně počasí, ekonomické situace, lidského chování v podobě teroristických útoků nebo kombinacemi všech faktorů. Přední mikrobiologové z celého světa se zabývají rizikem spojeným s vývojem rezistencí bakteriálních kmenů k běžným a cenově přijatelným antibiotikům a snaží se zpomalit rychlost tohoto rozvoje. Sledování rezistence se zakládá především na sběru dat a vyhodnocování výsledků stanovených citlivostí z celého světa. Rostoucí výskyt rezistentních bakterií je stále větším zdravotním problémem, protože omezuje nebo zhoršuje možnosti léčby, snižuje kvalitu života a má závažné hospodářské důsledky v podobě nárůstu nákladů na zdravotní péči a poklesu produktivity. Vývoj antibiotické rezistence se urychluje zejména v důsledku nadměrného a nevhodného používání antibiotických látek nejen ve zdravotnictví, ale i v zemědělství a veterinární medicíně. Což spolu se špatně prováděnou prevencí a kontrolou infekcí vytváří příznivé podmínky pro rozvoj a šíření rezistentních mikroorganismů.¹

Svou práci jsem zaměřila na výskyt rezistentních bakteriálních kmenů, které se negativně podílejí na léčbě pacientů, protože zužují výběr vhodných antibiotik, která by byla citlivá k danému kmenu. Jedná se převážně o pacienty, kteří jsou umístěni na jednotkách intenzivní péče nebo na anesteziologicko resuscitačních odděleních. Tito pacienti jsou oslabeni těžkým onemocněním nebo zraněním. Zranění bývá často způsobeno sražením chodce vozidlem, sražením cyklisty vozidlem, pádem z výšky či v opilosti, nárazem vlaku, rvačkou nebo hromadnou havárií.

¹ Státní zdravotní ústav [online]. 2012 [cit. 2013-01-15]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/EAAD_2012/Tiskova_zprava_SZU_EAAD_2012.pdf

Bakteriálních druhů, které jsou schopné vytvářet nebo přijímat geny rezistence je v současné době velké množství. Zaměřila jsem se proto na užší skupinu, kterou jsou gramnegativní bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae* produkující širokospektrou betalaktamázu. V roce 2012 jsem se aktivně podílela na sběru dat o těchto kmenech a pozorovala, zda se jednalo o kmeny pocházející ze standardní nebo intenzivní péče. Bakteriální kmeny jsem nejprve izolovala z biologických materiálů zaslaných od pacientů Nemocnice České Budějovice a.s. Izolované bakterie jsem identifikovala a gramnegativní tyčky z čeledi *Enterobacteriaceae* jsem podrobila testu citlivosti. Ty z nich, které byly pro svou rezistenci v diskovém difúzním testu podezřelé na produkci širokospektré beta-laktamázy jsem podrobila dalšímu specifickému vyšetření citlivosti a otestovala je na produkci širokospektré beta-laktamázy.

Sebraná data jsem porovnávala se podobnými daty z minulých let a s výsledky z dalších nemocnic v České republice publikovaných v odborném časopise Klinická mikrobiologie a infekční lékařství v článku s názvem Prevalence ESBL-pozitivních enterobakterií ve velkých moravských nemocnicích.

1 Teoretická část

1.1 Historie

Antibiotikum, jako termín, poprvé použil Selman Waksman v roce 1942 pro látku tvořenou mikroorganismy, která je v škodlivá pro růst nebo život jiných mikroorganismů. Vůbec první zmínky o těchto látkách se spojují se jménem Alexandr Fleming. K jeho objevu došlo z části náhodou, Fleming našel na staré petriho misce plíseň usazenou na živném agaru, která hubila ostatní mikroby rostoucí kolem. Plíseň byla později pojmenována jako *Penicillium Notatum*. Za objev a zjištění vlastností této látky, nazvané penicilin, dostali Alexander Fleming, Ernst Chain a Howard Florey v roce 1945 Nobelovu cenu. Od počátku čtyřicátých let se penicilin používal k léčbě infekcí u lidí a nadšení z jeho zázračných účinků vedlo k prvnímu zneužívání antibiotik v historii. Byl přidáván do kosmetických krémů, kapek do nosu nebo pastilek proti škrábání v krku a až do roku 1945 byl volně dostupný.

O období čtyřicátých až sedmdesátých let 21. století se mluví jako o „zlatém věku antibiotik“, protože v jeho průběhu byla objevena téměř všechna současná antibiotika. Po prvním antibiotiku penicilinu, patřícímu do skupiny beta-laktamů, byly v rychlém sledu objeveny aminoglykosidy, chloramfenikol, tetracyklin, makrolidy, glykopeptidy, streptograminy, chinolony, linkosamidy a trimetoprim. V dalších letech se vývoj nových antibiotik zastavil a výroba byla směřována k syntéze derivátů základních skupin antibiotik, z nichž však jen některé měly výrazně lepší vlastnosti než antibiotikum, od něhož byly odvozeny. Na přelomu nového tisíciletí byly objeveny jen dvě nové skupiny antibiotik, lipopeptidy a oxazolidinony.²

²Antibiotická rezistence bakterií – hrozba selhání léčby infekcí neustále sílí. In: Medical Tribune CZ [online]. 2012 [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/25673-antibioticka-rezistence-bakterii-hrozba-selhani-lecby-infekci-neustale-sili>

1.2 Současnost

V druhé polovině devadesátých let výsledky surveillance v ČR potvrdily, že se alarmujícím způsobem zvyšuje výskyt antibiotické rezistence u nejčastějších původců bakteriálních infekcí. V některých případech byl zaznamenán vzestup o desítky procent. Zvyšuje se počet rezistentních kmenů, izolovaných jako původci infekcí v komunitě i v nemocnicích. V ČR je situace obzvláště závažná u gramnegativních (G-) tyčků, které způsobují invazivní infekce u hospitalizovaných nemocných, neboť rezistence k antibiotikům používaným k léčbě je jedna z nejvyšších mezi státy Evropy.²

Pro zamezení nárůstu rezistence je důležité volit nejen správné antibiotikum, ale také ho podávat v dostatečných dávkách a správných časových intervalech. Rozhodující pro volbu antibiotika je lékařská zkušenost a správná klinická diagnóza. Pokud si lékař není jistý úsudkem pro správný postup, je mikrobiologické vyšetření s testem citlivosti cíleným vodítkem pro léčebný úspěch. Mikrobiologické vyšetření umožňuje interpretaci a může poskytnout informace nejen o infekčním agens, ale i o jeho citlivosti k antibiotikům. Zároveň na základě klinické diagnózy a znalosti farmakokinetiky jednotlivých léčiv může mikrobiolog doporučit optimální preparát.³

1.3 Princip antibiotické léčby

Smyslem správné, účinné a bezpečné antibiotické terapie je potlačení nebo vyléčení infekce vzniklé primárním nebo oportunním patogenem. V některých

² Antibiotická rezistence bakterií – hrozba selhání léčby infekcí neustále sílí. In: Medical Tribune CZ [online]. 2012 [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/25673-antibioticka-rezistence-bakterii-hrozba-selhani-lecby-infekci-neustale-sili>

³ Reg. č. o/000/221. *DOPORUČENÉ POSTUPY PRO PRAKTICKÉ LÉKAŘE: Zásady léčby antibiotiky I.* Česká republika, 2002. Dostupné z: www.cls.cz/dokumenty2/postupy/t221.rtf

případech, při nevhodně zvolené léčbě nebo při léčení méně závažných onemocnění, které mnohdy ani nevyžadují antibiotickou terapii, mohou antibiotika onemocnění naopak vytvářet.

Podobná chemická struktura jednotlivých antibiotik umožňuje jejich zařazení do skupin (viz příloha č.1). Antibiotika zařazená do jednotlivých skupin jsou si podobná nejen svou strukturou, ale i řadou podobných účinků a vlastností.

V rámci správné antibiotické terapie je nezbytné znát spektrum účinku antibiotika, které se pacientovi podává. Dlouhodobé a nadbytečné používání širokospektrých antibiotik je jedním z největších problémů šíření antibiotické rezistence. Spektrum účinku členů jednotlivých skupin na bakterie může být značně odlišné. Podle množství druhů bakterií, na které je antibiotikum účinné, lze rozdělit antibiotika na úzkospektrá a širokospektrá. V současné době je preferován deeskalační postup léčby infekcí. Při závažné infekci, která nezprostředně ohrožuje život pacienta nasadit okamžitě širokospektrá antibiotika a odebrat vzorky pro laboratorní zpracování. Po mikrobiologické analýze vysadit širokospektrá antibiotika a pokračovat v léčbě s antibiotiky s úzkým spektrem účinku namířeným na původce určité infekce, jako je např. oxacilin s aktivitou na stafylokoky. Širokospektrá antibiotika mají vyšší výskyt specifických nežádoucích účinků sdružených s léčbou, mezi něž patří např. dysmikrobie, kvasinkové suprainfekce, postantibiotická kolitida a zejména vznik rezistence.⁴

1.3.1 Antimikrobní účinnost

Účinnost se měří podle jeho aktivity in vitro proti konkrétní bakterii. Tato hodnota je vyjádřena jako minimální inhibiční koncentrace (MIC) a posuzuje, zda je dané antibiotikum k bakterii citlivé nebo rezistentní. Důležitou veličinou je minimální baktericidní koncentrace, která udává nejmenší koncentraci

⁴ MAREK, Josef. Farmakoterapie vnitřních nemocí. 4., zcela přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2010, xxiv, 777 s. ISBN 978-802-4726-397.

antibiotika, která je schopná usmrtit bakterii. Rozdíl mezi těmito dvěma hodnotami určuje, zda je účinek látky spíše baktericidní nebo bakteriostatický. Pokud je účinnost antibiotika narušena nějakým typem rezistence, závažně to ovlivňuje celou léčbu. Nejvíce jsou ohroženi jedinci se závažným onemocněním nebo poraněním, jejichž imunitní systém je oslaben nemocí nebo léčebnými preparáty. Tito pacienti nejsou schopni se účinně bránit vlastními protilátkami, a jsou zcela závislí na antibiotické terapii.⁴

1.3.2 Mechanismus účinku

V současné době termín antibiotika označuje léky schopné inhibovat růst a množení nebo zcela inaktivovat citlivé bakterie. Toxicita antibiotik je pro člověka většinou minimální, což je způsobeno rozdíly mezi eukaryotickými a prokaryotickými buňkami. Rozdíly ve složení umožňují antibiotiku přesně zacílit svůj účinek na esenciální komponenty bakteriálních buněk. Mechanismus účinku se rozděluje podle toho, na jakou část se zaměřují. Nejčastěji jsou to buněčná stěna, proteosyntéza, syntéza nukleových kyselin, metabolismus bakterie a porušení buněčné membrány.^{2, 5}

1.3.2.1 Buněčná stěna

Antibiotika s mechanismem účinku na buněčnou stěnu jsou pro člověka téměř netoxická vzhledem k tomu, že lidské buňky buněčnou stěnu nemají. Buněčná

⁴ MAREK, Josef. Farmakoterapie vnitřních nemocí. 4., zcela přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2010, xxiv, 777 s. ISBN 978-802-4726-397.

² Antibiotická rezistence bakterií – hrozba selhání léčby infekcí neustále sílí. In: Medical Tribune CZ [online]. 2012 [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/25673-antibioticka-rezistence-bakterii-hrozba-selhani-lecby-infekci-neustale-sili>

⁵ BEDNÁŘ, Marek. Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.

stěna bakterií obsahuje peptidoglykan (murein), který se podílí na její odolnosti vůči vnějšímu prostředí. Beta-laktamová antibiotika inhibují syntézu bakteriální stěny tím, že se váží na enzymy podílející se na příčném zpevnění buněčné stěny. Schopnost vazby je dána podobností beta-laktamového kruhu a D-alanyl-D-alanyl-dipeptidu mureinu.

Glykopeptidová antibiotika mají odlišný mechanismus účinku, inhibují syntézu stěnového pentapeptidu a tím zabraňují syntéze celé stěny. Tento mechanismus účinkuje pouze na grampozitivní (G+) bakterie, protože buněčná stěna G- je pro glykopeptidy neprostupná.

Bacitracin inhibuje přenos hotového stavebního bloku přes cytoplasmatickou membránu.^{5,6}

1.3.2.2 Proteosyntéza

Syntéza bílkovin probíhá v ribosomech, proto jsou místem účinku syntézy bílkovin právě ribosomy. Mechanismus účinku je například ireverzibilní vazba na podjednotku ribosomu a tím zabraňují aminoacyl-t-RNA vázat se na tuto podjednotku. Výsledkem je, že nejsou k dispozici aminokyseliny pro syntézu peptidového řetězce. Tento princip uplatňují tetracyklíny.

Na stejnou podjednotku se váží i aminoglykosidy. Jejich vazba je také ireverzibilní a způsobuje inhibici tvorby iniciačního komplexu. Následkem je předčasné ukončení translace a vznikají mutilované molekuly bílkovin.

Účinek makrolidů a linkosamidů závisí na vazbě s S50. Tato vazba zabraňuje podjednotce S70 posun k dalšímu kodonu mRNA.^{5,6}

⁵ BEDNÁŘ, Marek. Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.

⁶ Úvod do farmaceutické mikrobiologie. In: DEMNEROVÁ, Kateřina a Igor HOCHER. Vysoká škola chemicko-technologická [online]. [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://biomikro.vscht.cz/vyuka/fm/Farmaka3.pdf>

1.3.2.3 Syntéza nukleových kyselin

Nejznámějšími zástupci této skupiny jsou chinolony, které inhibují replikaci DNA vazbou na DNA gyrázu, resp. topoisomerázu. Pro účinek chinolonů je důležitý mechanismus průniku do buňky, což je závislé na struktuře buňky (pronikají hlavně poriny). Některé další skupiny antibiotik inhibují DNA dependentní RNA polymerázu (rifampiciny). Tento účinek se uplatňuje pouze před zahájením transkripce, v průběhu procesu jsou již antibiotika neúčinná.⁵

1.3.2.4 Metabolismus bakterie

Mechanismus účinku je založen na inhibici syntézy kyseliny listové, která je esenciální pro některé bakterie. Příkladem této skupiny jsou sulfonamidy nebo trimetoprim.^{5,6}

1.3.2.5 Porušení buněčné membrány

Antibiotika, která se zaměřují na porušení buněčné membrány mění permeabilitu buněčné stěny a tím způsobují ztrátu její osmotické celistvosti. Antibiotika obsahují hydrofilní a lipofilní oblasti, lipofilní část se váže na

⁵ BEDNÁŘ, Marek. Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.

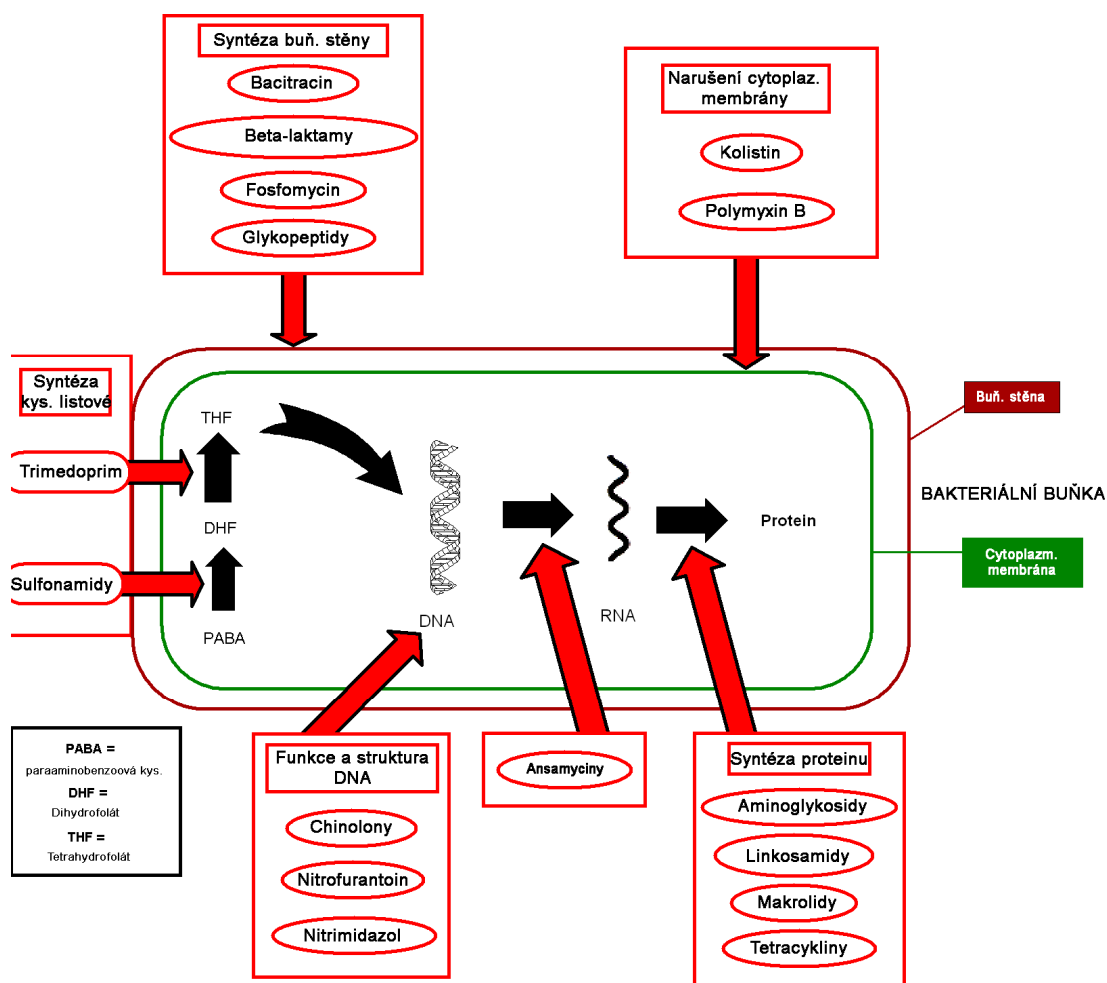
⁶ Úvod do farmaceutické mikrobiologie. In: DEMNEROVÁ, Kateřina a Igor HOCHER. Vysoká škola chemicko-technologická [online]. [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://biomikro.vscht.cz/vyuka/fm/Farmaka3.pdf>

fosfolipidy a lipopolysacharidy vnější části buněčné membrány. Vodou, kterou s sebou nesou, zvětšují povrch buňky dokud se membrána nezhroutí. Jejich efektivita závisí na množství fosfolipidů v buněčné membráně a jejich schopnosti pronikat stěnou buňky. Mnoho z těchto látek je toxických, což je vylučuje ze systematického používání.^{6,7}

⁶ Úvod do farmaceutické mikrobiologie. In: DEMNEROVÁ, Kateřina a Igor HOCHER. Vysoká škola chemicko-technologická [online]. [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://biomikro.vscht.cz/vyuka/fm/Farmaka3.pdf>

⁷ CHMELARŮVÁ, Eva. Kolistin v dětském věku. In: Antibiotická politika [online]. 2012 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: http://www.bpp.cz/atb_centra/

Schéma č. 1: Mechanismus účinku některých bakterií⁸



1.3.3 Klinická účinnost

Z hlediska klinické účinnosti je důležitá již výše zmíněná antimikrobní účinnost a mechanismus rezistence. Nejsou to ale jediné faktory podmiňující efektivní léčbu infekce. Kriticky důležitá je také biologická dostupnost antibiotika

⁸ DocCheck Pictures. *DocCheck* [online]. 2012 [cit. 2013-04-29]. Dostupné z: <http://pictures.doccheck.com/en/photos/12494/7151/>

v místě infekce, kde musí být v dostatečné koncentraci a účinné formě. Jedná se o farmakokinetické a farmakodynamické vlastnosti antibiotika. Proto je důležité znát místo působení patogenní bakterie. Intracelulární patogeny mohou být ovlivněny pouze antibiotiky s dobrým průnikem do vnitřního prostředí buňky. Účinnost také ovlivňuje přítomnost cizích těles v lidském organismu. Na povrchu těchto komponentů kolonizují bakterie a vytváří bakteriální biofilm. Bakterie v této formě mají několikanásobně vyšší rezistenci k antibiotikům, ke kterým by za normálních okolností byly citlivé.

Antibiotika, pokud jsou správně aplikována, nám velice dobře slouží k eliminaci nebo alespoň zastavení růstu bakterií. Je nutné si uvědomit, že největší podíl na eliminaci patogenů má přirozená imunita lidského organismu. Antibiotika mu dávají příležitost se s ní snáze a rychleji vyrovnat a proto jejich klinická účinnost přímo závisí na kondici imunitního systému každého jedince.^{4,9}

1.4 Beta-laktamová antibiotika

Jako beta-laktamová antibiotika se označují všechna antibiotika v jejichž struktuře je přítomen beta-laktamový kruh. Jeho neporušenost je základem účinnosti antibiotika na infekční mikroorganismus. Další podmínkou pro úspěšnost léčby je místo na bakteriální stěně, kde se antibiotika naváží na cílové enzymy známé jako peniciliny vázající protein (Penicilin - binding Proteins). Jak bylo již zmíněno, uplatňuje se zde mechanismus inhibice syntézy buněčné stěny. Bakterie ztrácí svou osmotickou i tvarovou stabilitu a během jedné nebo několika málo generací zaniká. Účinek je proto baktericidní.

⁴ MAREK, Josef. Farmakoterapie vnitřních nemocí. 4., zcela přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2010, xxiv, 777 s. ISBN 978-802-4726-397.

⁹ ČERMÁK, Pavel. Klinická mikrobiologie - biofilm. In: Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky [online]. [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: http://ukb.lf1.cuni.cz/ppt/cermak/klinicka_mikrobiologie-biofilm.pdf

Většina beta-laktamů se poměrně rychle vylučuje močí a účinná hladina antibiotika se po podání rychle snižuje. Je proto nutné dávkovat častěji, většinou po 6 až 8 hodinách. Výjimku tvoří například ceftriaxon, který se dává jen jednou denně. Spektrum účinnosti jednotlivých beta-laktamů je různé a liší se v rámci jednotlivých podskupin. Toxicita těchto antibiotik je téměř zanedbatelná, ale je důležité mít na paměti možné alergické reakce, které se objevují nejčastěji po podání penicilinu nebo ampicilinu. Podskupiny beta-laktamů jsou peniciliny, cefalosporiny, karbapenemy a monobaktamy.^{10, 11}

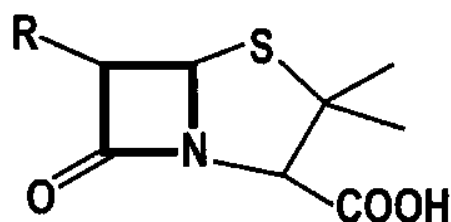
1.4.1 Peniciliny

Peniciliny jsou vysoce účinná antibiotika získaná z kultury plísně *Penicillium chrysogenum* a dalších, které produkují kyselinu 6-aminopenicilanovou. V její molekule je beta-laktamový kruh konjugován s pětičlenným thiazolidinovým kruhem. Biochemické substituce této molekuly vedou k mnoha druhům penicilinů odlišných svým spektrem účinku, stabilitě vůči nízkému pH a účinku betalaktamáz. Peniciliny rozdělujeme do šesti podskupin, jsou to acidolabilní a acidostabilní peniciliny, peniciliny odolné vůči stafylokokové penicilináze, aminopeniciliny, ureidopeniciliny a karboxypeniciliny.¹¹

¹⁰ FINCH, R a Lawrence Paul GARROD. Antibiotic and chemotherapy: anti-infective agents and their use in therapy. 8th ed., 2003. Reprinted 2003. New York: Churchill Livingstone, 2003, xii, 964 p. ISBN 04-430-7129-2.

¹¹ VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie obecná. Brno: Neptun, 2001, 247 s. ISBN 80-902-8962-2.

Schéma č. 2: Obecný vzorec penicilinů ¹¹



Acidolabilní penicilin je přirozenou formou penicilinu, díky jeho nestabilitě v prostředí s nízkým pH ho lze podávat pouze parenterálně. Zástupci jsou Benzylpenicilin (Penicilin G), který se podává ve formě draselné soli intravenózně a používá se například u závažných streptokokových infekcí, pneumokokových pneumonií nebo meningokokových onemocnění. Dalším zástupcem je Prokain benzylpenicilin (Prokain penicilin G), který se podává intramuskulárně ve formě špatně rozpustné soli. Při podání se benzylpenicilin uvolňuje pomalu, a udržuje jen nízké plazmatické hladiny. Používá se například u infekcí způsobených bakterií *Streptococcus pyogenes*.

Acidostabilní Phenoxymethylpenicilin (Penicilin V) účinně vzdoruje působení kyselého prostředí žaludeční šťávy a je vhodný pro perorální podání. Jeho spektrum účinku je totožné s Penicilinem G.

Přirozené peniciliny jsou účinné na celou škálu patogenních bakterií, ale jejich nedostatek spočívá především v neúčinnosti na stafylokokové infekce. Nejdůležitějším zástupcem penicilinů odolávající stafylokokové beta-laktamáze je Oxacilin (v zahraničí především Methicilin). Oxacilin je účinný na stejné druhy bakterií jako přirozené peniciliny, ale s mnohem menší intenzitou než benzylpenicilin, používá se proto především na stafylokokové infekce.

Na rozdíl od předchozích penicilinů aminopenicilin působí na širší spektrum bakterií. Účinný je na některé enterokoky, hemofily nebo na některé fermentující G- tyčky (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, salmonely, shigelly). Je však

¹¹ VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie obecná. Brno: Neptun, 2001, 247 s. ISBN 80-902-8962-2.

rezistentní k beta-laktamázám, které se přirozeně vyskytují u některých druhů G-tyček (například *Pseudomonas aeruginosa*). Zástupci této skupiny jsou Ampicilin a Amoxicilin.

Ureidopeniciliny a karboxypeniciliny jsou antibiotika se širokým spektrem účinku (včetně *Pseudomonas aeruginosa*). Jsou vnímavé k některým druhům beta-laktamázu a proto se nejčastěji podávají v kombinaci s některým inhibátorem beta-laktamázu (například Tazobactam, kys. Klavulanová).^{2, 10, 11}

1.4.2 Cefalosporiny

Základem všech cefalosporinů je kyselina 7-aminocefalosporinová jejíž součástí je také beta-laktamový kruh. Všechna antibiotika odvozená od této kyseliny jsou polysyntetické deriváty. Během dlouhodobého vývoje této skupiny antibiotik se používalo na 70 různých cefalosporinů. Některé se udržely a používají se dodnes, jiné byly nahrazeny novějšími preparáty. Spektrum účinku je obecně široké, působí na G⁺ i G⁻ bakterie, ale šíře spektra se výrazně liší u jednotlivých skupin (cefalosporiny I. – IV. generace).^{5, 10, 11}

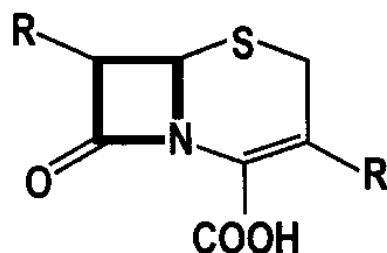
² Antibiotická rezistence bakterií – hrozba selhání léčby infekcí neustále sílí. In: Medical Tribune CZ [online]. 2012 [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/25673-antibioticka-rezistence-bakterii-hrozba-selhani-lecby-infekci-neustale-sili>

¹⁰ FINCH, R a Lawrence Paul GARROD. Antibiotic and chemotherapy: anti-infective agents and their use in therapy. 8th ed., 2003. Reprinted 2003. New York: Churchill Livingstone, 2003, xii, 964 p. ISBN 04-430-7129-2.

¹¹ VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie obecná. Brno: Neptun, 2001, 247 s. ISBN 80-902-8962-2.

⁵ BEDNÁŘ, Marek. Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.

Schéma č.3: Obecný vzorec cefalosporinů ¹¹



Cefalosporiny se v dnešní době široce využívají jak v terapii tak v profylaxi nejrůznějších onemocnění. Po zavedení cefalosporinů, byla tato antibiotika široce dostupná a jejich nadměrným a neuváženým používáním (hlavně v případě vyšších generací cefalosporinů) postupně došlo k selekci bakterií, které produkují širokospektrou beta-laktamázu. Díky tomuto enzymu se cefalosporiny stávají neúčinnými.

Cefalosporiny I. generace mají vysokou účinnost na G⁺ mikroorganismy, ale nejsou již tolik účinné na G⁻ mikroorganismy a na *Pseudomonas aeruginosa* nepůsobí vůbec. To je dáno jejich špatným průnikem přes stěnu G⁻ bakterií. Vůči působení většiny beta-laktamáz jsou nestabilní. Cefalosporiny II. generace mají poněkud nižší účinnost na G⁺ mikroorganismy, vyšší účinnost na G⁻ a na anaeroby. Stejně jako u I. generace jsou neúčinné na *Pseudomonas aeruginosa* a mají omezený průnik přes stěnu G⁻ bakterií. Výhodou je jejich stabilita vůči působení některých beta-laktamáz. Cefalosporiny III. generace jsou obvykle méně účinné na G⁺ mikroorganismy než cefalosporiny předchozích generací. Na G⁻ bakterie jsou ale výrazně účinnější než II. generace cefalosporinů. Dále působí na řadu kmenů *Pseudomonas aeruginosa* (velmi účinný je např. ceftazidim). Jsou stabilní vůči působení většiny beta-laktamáz a jejich průnik buněčnou stěnou bakterií je dobrý. Cefalosporinová antibiotika IV. generace mají vysokou účinnost na *Pseudomonas aeruginosa* a vyšší účinnost na G⁺ mikroorganismy ve srovnání s cefalosporiny předchozích generací. Jsou stabilní vůči beta-laktamázám a opět

¹¹ VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie obecná. Brno: Neptun, 2001, 247 s. ISBN 80-902-8962-2.

mají velmi dobrý průnik přes bakteriální buněčnou stěnu. Cefalosporinová antibiotika mají obvykle krátký biologický poločas. Výjimku tvoří např. ceftriaxon, který má biologický poločas naopak dlouhý a lze jej podávat v jedné denní dávce. S výjimkou ceftriaxonu a cefoperazonu se cefalosporiny z organismu vylučují prakticky úplně močí. Proto je nutné při těžší poruše funkce ledvin redukovat dávku nebo prodloužit interval dávkování. Průnik do tkání a sekretů je obecně dobrý. Průnik do CNS je u některých cefalosporinů relativně nízký, a to i při zánětech CNS (meningitida).^{12, 13}

Tabulka č. 1: Rozdělení cefalosporinů⁵

Generace	Spektrum účinku	Užití v humánní medicíně
Cefalosporiny 1. generace	Úzké spektrum účinku zvláště na G+ koky vč. stafylokoků s produkcí penicilináz	Cefalotin, cefazolin, cefapirin, cefalexin, cefadroxil
Cefalosporiny 2. generace	Rozšířené spektrum účinnosti o některé G-bakterie	Cefuroxim, cefaclor, cefuroxim axelit, cefprozil,
Cefalosporiny 3. generace	Širokospektrá antibiotika se zvýšenou odolností vůči betalaktamázám	Cefotaxim, ceftriaxon, cefixim
Cefalosporiny 4. generace	Nejširší spektrum účinku vůči G- bakteriím, vyšší stabilita vůči betalaktamázám než u 3. generace	Cefepim

¹² KOVAŘÍK, Zdeněk. Přehled antibakteriálních léčiv užívaných v ambulantní terénní i klinické praxi. *Lékařské listy*. 2005, č. 10. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/prehled-antibakterialnich-leciv-uzivanych-v-ambulantni-terenni-i-165572>

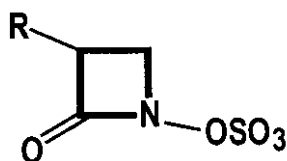
¹³ PŘÍBORSKÝ, Jan. *Cefalosporiny: farmakologie a klinická farmakologie*. 1. vyd. Praha: MAXDORF-JESSENIUS, c1999, 107 s. ISBN 80-858-0030-6.

⁵ BEDNÁŘ, Marek. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.

1.4.3 Ostatní beta-laktamová antibiotika

Jediným zástupcem monobaktamů je aztreonam, který se používá na léčbu infekcí způsobených G- tyčkami (je účinný na *Pasteurella multocida* nebo na aeromonády). Aztreonam má špatnou absorpci při per orálním podání, proto se podává parenterálně, kromě mozkomíšního moku má i dostatečný průnik do tkání. Je poměrně hodně stabilní vůči beta-laktamázám, ale zvyšuje riziko superinfekce zejména G+ bakteriemi, proto je vhodné doplnit léčbu ještě o antibiotikum účinné na tyto druhy bakterií.^{5, 14}

Schéma č. 4: Obecný vzorec monobaktamů¹¹



Karbapenemy mají neobyčejně široké spektrum (G+, G- i pseudomonády, aeroby i anaeroby, včetně kmenů *S. pneumoniae* vysoce rezistentních vůči penicilinu). Používají se zejména jako rezervní antibiotika v léčbě závažných, mnohdy polymikrobiálních infekcí vyvolaných multirezistentními mikroorganismy. V současnosti jsou v České republice k dispozici tři zástupci karbapenemů: imipenem, meropenem a ertapenem. Karbapenemy jsou stabilní vůči působení většiny beta-laktamáz. Výjimku tvoří metallo-beta-laktamázy, které

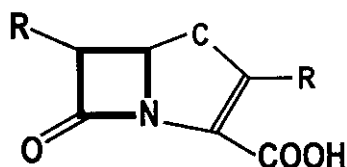
⁵ BEDNÁŘ, Marek. Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.

¹⁴ LINCOVÁ, Dagmar a Hassan FARGHALI. Základní a aplikovaná farmakologie. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, 2007, xxiv, 672 s. ISBN 978-807-2623-730.

¹¹ VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie obecná. Brno: Neptun, 2001, 247 s. ISBN 80-902-8962-2.

rozkládají všechna beta-laktamová antibiotika a jsou produkovány především kmeny *Pseudomonas aeruginosa*, případně dalšími *Enterobacteriaceae* a vzácně i *Bacterioides fragilis*.^{5, 15}

Schéma č. 5: Obecný vzorec karbapenemů¹¹



1.5 Ekologie antibiotické rezistence

Předpokládá se, že produkce antibiotik je přirozený jev, jímž bakterie již od svého vzniku uplatňovali výhodu před jinými mikroby, a geny rezistence jim sloužily k ochraně před inhibicí vlastními antibiotiky. Determinanty rezistence tedy existují v přírodě velmi dlouho a vznikly dávno před zavedením antibiotik do lékařské praxe. Antibiotická rezistence je přirozený jev, který se uplatňuje v evoluci mikrobů jako jeden z mechanismů adaptace na nové podmínky v prostředí.

Mikrobi, kteří získali geny rezistence, případně se stali rezistentní mutacemi, musejí být v prostředí fixováni. Musí dojít k výraznému pomnožení rezistentní populace, která je schopná v konkurenci ostatních mikrobů přežít. Látky s

⁵ BEDNÁŘ, Marek. Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.

¹⁵ Karbapenemy: přehled a porovnání základních údajů. Remedía. 2008, č. 3. ISSN 0862-8947. Dostupné z: <http://www.remedia.cz/Archiv-rocniku/Rocnik-2008/3-2008/Karbapenemy-prehled-a-porovnani-zakladnich-udaju/e-9q-a3-jy.magarticle.aspx>

¹¹ VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie obecná. Brno: Neptun, 2001, 247 s. ISBN 80-902-8962-2.

antimikrobním účinkem (antibiotika, dezinfekční prostředky, těžké kovy) potlačují citlivou populaci mikrobů a umožňují přežití a množení mikrobů rezistentních, které nakonec nad citlivou populací převládnu.

Rezistence může vznikat například mutacemi ve stávající genetické výbavě bakterie. Mutace v promotorech genů mohou ovlivňovat produkci látek zodpovědných za rezistenci. Některé enzymy zodpovědné za rezistenci mohou svoji substrátovou specificitu rozšiřovat. Beta-laktamázy se pravděpodobně vyvinuly z enzymů zodpovědných za syntézu peptidoglykanu (PBP).

Druhým mechanismem je akvizice genů zodpovědných za rezistenci. Bakterie mají schopnost předávat genetickou informaci třemi způsoby:

- konjugace – při tomto způsobu se molekula DNA přenáší z donorové buňky na příjemce. Buňky jsou v těsném kontaktu, obvykle zprostředkovaném vazbou sex pilu přítomného u donorové buňky. Takto se přenášejí nejčastěji plasmidy, případně transpozony
- transformace – bakterie absorbuje volnou nukleovou kyselinu z prostředí a začlení ji do svého genomu. Poprvé byl tento mechanismus popsán před osmdesáti lety u *Streptococcus pneumoniae* v souvislosti s přenosem genů zodpovědným za virulenci a až později bylo prokázáno, že tyto bakterie, stejně jako meningokoky, jsou schopny transformací získat geny rezistence k penicilinu od nepatogenních bakterií
- transdukce – genetická informace je přenášena jako součást fágové nukleové kyseliny při infekci buňky bakteriofágy. Přenos genetické informace je významným mechanismem šíření především u G- tyček. Některé bakterie jsou schopny velmi efektivního předávání nukleových kyselin. Rovněž i některé plasmidy kódující geny rezistence jsou epidemicky úspěšné – velmi rychle se šíří a v nových hostitelských buňkách fixují.²

² Antibiotická rezistence bakterií – hrozba selhání léčby infekcí neustále sílí. In: Medical Tribune CZ [online]. 2012 [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/25673-antibioticka-rezistence-bakterii-hrozba-selhani-lecby-infekci-neustale-sili>

Geny rezistence bývají často sdruženy v určitých klastrech – na transpozonech, jako genové kazety integronů, případně obecně na plasmidech. Bakterie nesoucí tyto genetické elementy jsou proto rezistentní k několika skupinám antibiotik najednou. Velmi častá je například sdružená rezistence k beta-laktamovým antibiotikům, aminoglykosidům, fluorochinolonům a sulfonamidům. Popis uspořádání genů rezistence na molekulární úrovni umožňuje, na rozdíl od statistických metod, predikovat jednotlivá antibiotika zodpovědná za selekci antibiotické rezistence. Ale nejsou to je antibiotika, která jsou zodpovědná za šíření antibiotické rezistence.

Masivní používání dezinfekčních prostředků ve zdravotnictví, veterinářství, zemědělství a zejména každodenně v domácnostech ve formě čisticích prostředků se jeví být významnější hrozbou pro šíření rezistence než samotná antibiotika. Spotřeba dezinfekčních prostředků, které zcela ztratily účinek na nemocniční bakterie, se přesunula za mohutné reklamní kampaně do komunity, v níž je namířena na zcela zbytečné, a dokonce škodlivé potlačování běžně se vyskytujících bakterií. Dezinfekční prostředky, zejména je-li jejich účinnost na bakterie znehodnocena naředěním do nízkých koncentrací, stimulují činnost efluxních pump, schopných z buněk bakterií odstraňovat různé škodlivé látky včetně mnoha antibiotik, a tak vytvářet multirezistentní kmeny. Předpokládá se, že právě používání dezinfekčních prostředků v komunitě stimulovalo výskyt a šíření komunitních Methicilin rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus*.

Selekce a šíření rezistentních kmenů neúspěšněji probíhá v prostředí s vysokou koncentrací lidí nebo zvířat, kde se často aplikují antibiotika nebo dezinfekční prostředky. Mezi prostředí umožňující vznik a šíření rezistentních kmenů patří zejména nemocniční zařízení, ústavy sociální péče a podobná zařízení nebo velkochovy zvířat.

Pokud dojde k akvizici genu rezistence bakteriálním kmenem, který má vyšší schopnost přežití v prostředí, dochází k tzv. klonálnímu šíření. Epidemicky úspěšné bakteriální klony se vyznačují např. vyšší schopností kolonizovat gastrointestinální trakt, přežívají lépe v prostředí, mohou disponovat některými

faktory patogenity atd. Rezistentní bakterie se následně mohou dostávat do prostředí odpadními vodami, případně kontaminují potraviny.^{2, 16, 17, 18}

1.6 Rezistence u gramnegativních tyčků

Dominance epidemicky úspěšných klonů se vyskytuje u G- i G+ bakterií. G- tyčky (především rody *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* a *Acinetobacter*) jsou schopny velmi rychle reagovat na zavedení nových antibiotik. Záhy po zavedení cefalosporinů III. generace došlo u enterobakterií k selekci širokospektrých beta-laktamáz (ESBL). Tyto enzymy se rozšířily pomocí epidemicky úspěšných plasmidů a následně klonů. V současnosti jsou producenti ESBL rozšířeni v komunitě, ale i v chovech hospodářských zvířat.

ESBL jsou enzymy jež hydrolyzují cefalosporiny s rozšířeným spektrem účinku (např. cefotaxim, ceftazidim) a monobaktamy. Jsou inhibovány inhibitory beta-laktamáz (např. kyselinou klavulanovou) a nehydrolyzují cefamyciny (např. cefoxitin). Z biochemického hlediska se jedná o enzymy se serinem v aktivním místě. I když byla navržena řada klasifikací beta-laktamáz, nejvíce používanou je klasifikace podle Amblera a klasifikace, kterou navrhli Bush, Jacoby a Medeiros (viz tabulka č. 2). Dle Amblerovy klasifikace spadá většina ESBL do skupiny A, menší část do skupiny D. Enzymy skupiny A se vyznačují hydrolýzou penicilinů, skupiny D hydrolýzou kloxacilinu. Zmíněná klasifikace je sice dosud používána,

² Antibiotická rezistence bakterií – hrozba selhání léčby infekcí neustále sílí. In: Medical Tribune CZ [online]. 2012 [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/25673-antibioticka-rezistence-bakterii-hrozba-selhani-lecby-infekci-neustale-sili>

¹⁶ Nozokomiálne koinfekcie u septických pacientov. *Nozokomiální nákazy*. 2012, roč. 11, č. 2. ISSN 1336-3859. Dostupné z: http://www.mediconsulting.cz/index.php?option=com_content&view=article&id=88&Itemid=28

¹⁷ BENEŠ, Jiří. *Infekční lékařství*. 1. vyd. Praha: Galén, c2009, xxv, 651 s. ISBN 978-807-2626-441.

¹⁸ PODSTATOVÁ, Renata a Rastislav MAĎAR. *Protiepidemiologická opatření při výskytu gramnegativních tyčinek v nemocničním prostředí*. Banská Bystrica: DUMAS, 2005. ISBN 80-968999-5-3.

avšak z hlediska substrátové specifity se jednotlivé skupiny vyznačují značnou heterogenitou. Podle klasifikace, kterou navrhli Bush, Jacoby a Medeiros, zohledňující substrátovou specifitu a citlivost k různým inhibitorům, spadají ESBL do funkční skupiny 2be a část do skupiny 2d.^{2, 19}

1.7 Rozdělení ESBL

Zavedení cefalosporinů třetí generace do klinické praxe počátkem osmdesátých let minulého století zpočátku naznačovalo průlom v boji s mikroorganismy produkujícími beta-laktamázy. Jejich výhody spočívaly v účinku proti bakteriím produkujícím beta-laktamázy hydrolyzující ampicilin (např. TEM-1, TEM-2 u *E. coli* a SHV-1 u *K. pneumoniae*) a nízké nefrotoxicitě ve srovnání např. s aminoglykosidy a polymyxiny. Prvním plasmidem nesená ESBL, odvozená od beta-laktamázy inherentně přítomné u druhu *K. pneumoniae*, byla popsána v Německu v roce 1983 a označena vzhledem k svému původu SHV-2. Podobně první ESBL, odvozená od beta-laktamáz TEM-1 a TEM-2, popsána v roce 1989, nese označení TEM-3. Od té doby bylo popsáno několik různých skupin ESBL, které souhrnně čítají několik set příslušníků. Jejich počet neustále přibývá.

² Antibiotická rezistence bakterií – hrozba selhání léčby infekcí neustále sílí. In: Medical Tribune CZ [online]. 2012 [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/25673-antibioticka-rezistence-bakterii-hrozba-selhani-lecby-infekci-neustale-sili>

¹⁹ Klinicky významné β -laktamázy gramnegativních bakterií: širokospektré β -laktamázy (ESBL). Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie. 2007, č. 3, s. 103-111. DOI: Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie. Dostupné z: http://www.prolekare.cz/epidemiologie-clanek/klinicky-vyznamne--laktamazy-gramnegativnich-bakterii-sirokospektre--laktamazy-esbl-3597?confirm_rules=1

Tabulka č.2: Rozdělení ESBL²⁰

Bush-Jacoby-Medeiros group	1989 Bush group (44)	Richmond-Sykes class (253)	Mitsuhashi-Inoue type (194) ^a	Molecular class (2, 121, 132)	Preferred substrates	Inhibited by:		Representative enzymes
						CA ^b	EDTA	
1	1	Ia, Ib, Id	CSase	C	Cephalosporins	-	-	AmpC enzymes from gram-negative bacteria; MIR-1
2a	2a	Not included	PCase V	A	Penicillins	+	-	Penicillinases from gram-positive bacteria
2b	2b	III	PCase I	A	Penicillins, cephalosporins	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2b'	Not included except K1 in class IV	CXase	A	Penicillins, narrow-spectrum and extended-spectrum cephalosporins, monobactams	+	-	TEM-3 to TEM-26, SHV-2 to SHV-6, <i>Klebsiella oxytoca</i> K1
2br	Not included	Not included	Not included	A	Penicillins	±	-	TEM-30 to TEM-36, TRC-1
2c	2c	II, V	PCase IV	A	Penicillins, carbimicillin	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	2d	V	PCase II, PCase III	D	Penicillins, cloxacillin	±	-	OXA-1 to OXA-11, PSE-2 (OXA-10)
2e	2e	Ic	CXase	A	Cephalosporins	+	-	Inducible cephalosporinases from <i>Proteus vulgaris</i>
2f	Not included	Not included	Not included	A	Penicillins, cephalosporins, carbapenems	+	-	NMC-A from <i>Enterobacter cloacae</i> , Sme-1 from <i>Serratia marcescens</i>
3	3	Not included	Not included	B	Most β-lactams, including carbapenems	-	+	L1 from <i>Xanthomonas mal-tophilia</i> , CcrA from <i>Bacteroides fragilis</i>
4	4	Not included	Not included	ND ^c	Penicillins	-	?	Penicillinase from <i>Pseudomonas cepacia</i>

²⁰ BUSH, K., G. A. JACOBY a A. A. MEDEIROS. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1995-06-01, roč. 39, č. 6, s. 1211-1233. ISSN 0066-4804. DOI: 10.1128/AAC.39.6.1211. Dostupné z: <http://aac.asm.org/cgi/doi/10.1128/AAC.39.6.1211>

1.7.1 Skupina TEM

Jedná se o nejpočetnější skupinu beta-laktamáz. „Ke vzniku nových odvozených enzymů dochází záměnou některých aminokyselin. Tyto substituce mění fenotyp ESBL, tedy schopnost hydrolyzovat jednotlivé cefalosporiny a mění rovněž izoelektrický bod molekuly. Nejčastěji se s ESBL typu TEM lze setkat u *E. coli* a *K. pneumoniae*. Byly však detekovány i u dalších příslušníků čeledi *Enterobacteriaceae*, jako např. u druhů *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri*, *Providencia stuartii*, a u salmonel. Enzym TEM-42 byl popsán u *Pseudomonas aeruginosa*.“^{2, 19}

1.7.2 Skupina SHV

Enzymy skupiny SHV jsou nejčastěji nalézány u druhu *K. pneumoniae*. „Jejich původ pravděpodobně spočívá v konstitutivních beta-laktamázách rodu *Klebsiella*. Oproti enzymům skupiny TEM se liší relativně menším počtem příslušníků. To je dáno tím, že v genu *blaSHV*, který kóduje enzymy skupiny SHV, dochází mutacemi k menšímu počtu variant, než v případě TEM. Většina záměn v molekule enzymu SHV je vázána na substituci serinu za glycin. Tyto enzymy jsou nalézány rovněž u druhů *Citrobacter diversus*, *E. coli* a *P. aeruginosa*.“^{2, 19}

² Antibiotická rezistence bakterií – hrozba selhání léčby infekcí neustále sílí. In: Medical Tribune CZ [online]. 2012 [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/25673-antibioticka-rezistence-bakterii-hrozba-selhani-lecby-infekci-neustale-sili>

¹⁹ Klinicky významné β-laktamázy gramnegativních bakterií: širokospektré β-laktamázy (ESBL). Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie. 2007, č. 3, s. 103-111. DOI: Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie. Dostupné z: http://www.prolekare.cz/epidemiologie-clanek/klinicky-vyznamne-laktamazy-gramnegativnich-bakterii-sirokospektre--laktamazy-esbl-3597?confirm_rules=1

1.7.3 Skupina CTX-M

„Tato skupina je poměrně mladou skupinou ESBL vázaných na plasmidu. Její příslušníci se vyznačují hydrolýzou cefotaximu a jsou nalézány především u druhu *Salmonella enterica* serovar Typhimurium a *E.coli*. Předpokládá se, že jsou odvozeny od beta-laktamázy inherentně přítomných u rodu *Kluyvera*. Například enzym KLUG-1 nalezený na chromozomu *Kluyvera georgiana* vykazuje 99% podobnost s enzymem označovaným CTX-M-8. V Polsku tvoří enzym CTX-M-3 dominantní typ ESBL u *E. coli*. V České republice je v současnosti u *E. coli* dominantní typ CTX-M-15.“^{2, 19}

1.7.4 Skupina OXA

Další rostoucí skupinou ESBL je skupina označovaná jako OXA. „Podle Amblerovy klasifikace její příslušníci náleží do třídy D, podle Bushové a spol. do skupiny 2d. Enzymy skupiny OXA jsou charakteristické hydrolýzou oxacilinu a jsou pouze slabě inhibované kyselinou klavulanovou. Skupina se vyznačuje slabou genotypovou podobností (homologie mezi jednotlivými příslušníky může být menší než 20 %). Tyto enzymy byly nalezeny převážně u druhu *P. aeruginosa*.“^{2,}

19

² Antibiotická rezistence bakterií – hrozba selhání léčby infekcí neustále sílí. In: Medical Tribune CZ [online]. 2012 [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/25673-antibioticka-rezistence-bakterii-hrozba-selhani-lecby-infekci-neustale-sili>

¹⁹ Klinicky významné β -laktamázy gramnegativních bakterií: širokospektré β -laktamázy (ESBL). Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie. 2007, č. 3, s. 103-111. DOI: Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie. Dostupné z: http://www.prolekare.cz/epidemiologie-clanek/klinicky-vyznamne--laktamazy-gramnegativnich-bakterii-sirokospektre--laktamazy-esbl-3597?confirm_rules=1

1.7.5 Ostatní skupiny

Kromě výše zmíněných skupin jsou popisovány ještě další skupiny, jejichž význam však zatím není tak zásadní jako u skupin TEM, SHV, CTX-M a OXA. Jedná se například o skupiny BES, FEC, GES, CME, PER a VEB.^{2, 19}

1.8 Péče o pacienty s výskytem ESBL pozitivních kmenů

Na zvyšujícím se výskytu ESBL kmenů v nemalé míře podílí nedostatečné dodržování hygienicko-epidemiologického režimu a bariérového přístupu k jednotlivým pacientům, kteří jsou kolonizováni nebo infikováni těmito kmeny. Důležité je zaměřit se na riziková oddělení jako jsou JIP nebo ARO. Na těchto odděleních se nejčastěji vyskytuje nejvíce ohrožená skupina pacientů. Riziko vyplývá z náročnosti provozu, vysoké zátěže pacientů invazivními zákroky (umělá plicní ventilace, centrální žilní katétr, močová katetrizace a jiné). Navíc jsou tito pacienti oslabení základním těžkým onemocněním nebo polytraumatem.

Podle Podstatové a Maďara je nutné dodržovat šest základních principů.

1. Izolace pacienta – pacienty, u nichž byl izolován ESBL pozitivní kmen, je nutné izolovat na samostatném pokoji, který musí být viditelně označen jako „Izolační pokoj“. Při ošetrovatelských a jiných

² Antibiotická rezistence bakterií – hrozba selhání léčby infekcí neustále sílí. In: Medical Tribune CZ [online]. 2012 [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/25673-antibioticka-rezistence-bakterii-hrozba-selhani-lecby-infekci-neustale-sili>

¹⁹ Klinicky významné β -laktamázy gramnegativních bakterií: širokospektré β -laktamázy (ESBL). Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie. 2007, č. 3, s. 103-111. DOI: Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie. Dostupné z: http://www.prolekare.cz/epidemiologie-clanek/klinicky-vyznamne-laktamazy-gramnegativnich-bakterii-sirokospektre--laktamazy-esbl-3597?confirm_rules=1

léčebných úkonech je třeba používat materiál a nástroje určené pouze pro tento pokoj. Pohyb osob na Izolačním pokoji omezit na nejmenší možnou míru.

2. Péče o pacienta – při práci s izolovaným pacientem je nezbytné dodržovat bariérový ošetřovatelský režim. Při vstupu do Izolačního pokoje vždy použít jednorázový ochranný oděv (popř. čepici a ústenku) a rukavice. Při výstupu z pokoje provést důkladnou hygienickou dezinfekci rukou a ochranné pomůcky odhodit do vyčleněného koše.
3. Hygiena rukou – hygiena rukou musí probíhat vždy před i po práci s pacientem. Důležité je nejprve si mechanicky umýt ruce mýdlem a vodou, poté opláchnou a utřít do sucha. Následuje dezinfekce rukou, nejčastěji alkoholovým dezinfekčním prostředkem, který se nechá zaschnout.
4. Péče o přístroje a zdravotnické pomůcky – při práci s připojenými systémy, jako jsou výměna hadic, kanyl, katétrů nebo infúzních setů, je třeba dodržovat zásady asepse. Veškerý použitý materiál se ihned odhazuje do vyčleněného koše a likviduje jako infekční odpad.
5. Odstraňování odpadu, dezinfekce a úklid – veškerý materiál i prádlo v izolačním pokoji se považuje za infekční. A musí se likvidovat nebo dezinfikovat podle zákona č. 185/2001 o odpadech a o změně některých dalších zákonů. Osobní pomůcky pacienta je potřeba dezinfikovat každý den a vybavení pokoje včetně podlah a WC uklízet třikrát denně.
6. Závěrečná dezinfekce – po propuštění pacienta z izolačního pokoje se provede závěrečná důkladná dekontaminace a dezinfekce všech ploch, předmětů a přístrojů v pokoji. Poté se pokoj nechá 24 hodin uzavřený a následně se z kritických míst pokoje odeberou vzorky k bakteriologickému vyšetření. Teprve po vyhovujících výsledcích je

možné pokoj znovu obsadit.^{18, 20, 21, 22, 23}

1.8.1 Riziková skupina

Jak již bylo výše zmíněno k rizikovým faktorům kolonizace a následné infekce ESBL pozitivním kmenem patří aktuální stav pacienta. Stav jeho imunitního systému, závažná choroba a podobně. Jedna z nejrizikovějších skupin jsou pacienti s polytraumatem. Pojmem polytrauma je označováno současné poranění nejméně dvou tělesných systémů, přičemž poranění alespoň jednoho z nich nebo jejich kombinace bezprostředně ohrožují základní životní funkce. Jde o stav, který bez odborné lékařské pomoci vede k letálnímu konci. Mezi nejčastější mechanismy úrazu patří dopravní nehody (sražení chodce vozidlem, sražení cyklisty vozidlem), pády z výšky či v opilosti, nárazy vlaku, rvačky nebo hromadné havárie. Při hromadných haváriích se riziko zvyšuje ještě velkým počtem pacientů, kteří mají závažná poranění. Pro rychlé a efektivní ošetření není vždy možné dodržovat zásady asepse a bariérového přístupu. Tito pacienti, jsou

¹⁸ PODSTATOVÁ, Renata a Rastislav MAĎAR. Protiepidemiologická opatření při výskytu gramnegativních tyčinek v nemocničním prostředí. Banská Bystrica: DUMAS, 2005. ISBN 80-968999-5-3.

²⁰ Multirezistentní *Acinetobacter baumannii* nesoucí geny pro karbapenamázy NDM-1 a OXA-23 importovaný do České republiky. Zprávy epidemiologie a mikrobiologie. 2012, roč. 21, č. 11. ISSN 1803-6422. Dostupné z:
http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/20_2011/08_srpen/295_298.pdf

²¹ ŠRÁMOVÁ, Helena. Prevalenční studie nozokomiálních infekcí v ĚR na oddíleních ARO a JIP s invazivní umilou plicní ventilací v roce 2009. Zprávy epidemiologie a mikrobiologie. 2009, roč. 18, č. 12. Dostupné z:
http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/18_2009/12_prosinec/365_NI.pdf

²² VYHLÁŠKA: kterou se upravují podmínky předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a hygienické požadavky na provoz zdravotnických zařízení a ústavů

²³ ZÁKON: o odpadech a o změně některých dalších zákonů. In:
<http://portal.gov.cz/app/zakony/zakonPar.jsp?idBiblio=51365&nr=185~2F2001&rpp=15#local-content>. 2001.

často v bezvědomí a jejich život závisí na pomoci nemocničních přístrojů a pomůcek jako jsou plicní ventilátory, žilní katétrů pro podávání výživy a léčiv. Vzhledem k jejich imobilitě je nutné také zavádění močových katétrů. Všechny tyto život zachraňující pomůcky jsou ale možným zdrojem kmenů produkující ESBL.

Většina infekcí ESBL kmeny vzniká kolonizací kůže a migrací mikroorganismů podél katétru nebo kontaminací spojek katétrů během manipulací, která je také spojena s tvorbou biofilmu uvnitř lumina katétru. Další možností je hematogenní rozsev ze vzdáleného ložiska se sekundárním usazením mikroorganismů na katétru. Poslední možností infekce je kontaminace podávaného roztoku. Roztoky pro parenterální výživu a tukové emulze výrazně podporují růst bakterií. Tento způsob přenosu je však poměrně vzácný.

Většina chirurgických ranných infekcí je způsobena mikroorganismy zavlečenými do rány během operačního výkonu, jedná se tedy o exogenní infekce. Mezi preventivní opatření patří šetrná operační technika, zachování dobré perfúze tkání během výkonu, k negativním faktorům patří také hypotermie. Antibiotická profylaxe má být prováděna selektivně podle druhu výkonů a jeho infekčního rizika, má být dobře časována tak, aby byla zajištěna maximální hladina ATB v krvi v době incize a její trvání má být omezeno maximálně na 24 hodin. Pokračování v profylaktickém podávání ATB vede k zvyšování rezistence mikroorganismů.

Nejslabším článkem systému zůstávají ruce personálu a horizontální přenos mezi nemocnými.²⁴

1.8.2 Kazuistiky

Kazuistiky publikované Džupou a kolektivem (2008) ukazují výskyt infekčních komplikací u pacientů po úrazech způsobených nehodou nebo jiným

²⁴ Pacient s diagnózou polytrauma na traumatologické JIP. Sestra. 2006, č. 11. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/sestra/pacient-s-diagnozou-polytrauma-na-traumatologicke-jip-278904>

způsobem. Ve všech případech se jednalo o závažné polytrauma s okamžitou nutností operace.

V prvním případě se jednalo o 31 letou ženu, která byla převezena na traumacentrum po pádu z 10 metrů. Utrpěla otřes mozku, pravostranný hemothorax, pohmožděn plic a pravé ledviny, tříštivou zlomeninu lebky s těžkým ochrnutím dolních končetin, zlomeninu pánve a zlomeninu střední části pravé kosti pažní. Po příjmu byla pacientka intubovaná a napojena na umělou plicní ventilaci. Po pravo-stranné hrudní drenáži a nezbytné přípravě byla urgentně operovaná. Osmý den po příjmu po stabilizaci celkového stavu byla pacientce provedena rekonstrukční operace pánve. Neurologický nález po zlomenině lebky se postupně zlepšoval. Osmnáctý den po operaci pánve došlo k rozvoji hnisavé sekrece z rány, proto byla rána revidována a provedena drenáž. Ze stěrů a z tkání odebraných z operační rány byly izolovány kmeny *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter koseri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*. Rána se zhojila po zavedení vhodné antibiotické terapie (amikacin) doporučené mikrobiologem po stanovení citlivosti všech izolovaných bakterií. Pacientka byla hospitalizovaná 53 dní, z toho prvních 26 dní na anesteziologicko-resuscitačním lůžku.

Z tohoto případu není zcela jasné, zda se jednalo o kmeny G- tyček produkující ESBL, ale pro jejich velký počet bylo zavedeno širokospektré antibiotikum ze skupiny aminoglykosidů. Pooperační infekce výrazně prodloužila léčbu závažného stavu pacientky a ohrozila komplikovanou rekonstrukci pánve.

Druhá kazuistika ukazuje 38 letého řidiče, který byl po autonehodě přivezen se subarachnoidálním krvácením a pohmožděním mozku, několikanásobnou zlomeninou žeber vlevo a levostranným hemothoraxem, protrženou bránicí, hematodem jater, zlomeninou pánve a zlomeninu pravé kosti holenní. Pacient byl po úspěšné kardiopulmonální resuscitaci a intubaci okamžitě operován. Byla provedena revize dutiny břišní a hrudní, spojení bránice a hrudní drenáž a dále narovnání a zevní fixace zlomeniny kosti holenní. Sedmý den po příjmu byla pacientovi provedena rekonstrukce pánve. Stav byl komplikován rozvojem hnisavé sekrece z operační rány, proto 5. den po operaci pánve byla rána

revidována a vyčištěna. Ze stěrů a z tkání odebraných z operační rány byl izolován rezistentní kmen *Staphylococcus aureus* (MRSA – methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*). Pro recidivu hnisavé sekrece bylo po dalších 18 dnech opět provedeno čištění a drenáž. Rána se v dalším průběhu zhojila při odpovídající antibiotické terapii (vankomycin, kortimoxazol). Hospitalizace trvala 68 dní, z toho prvních 21 dní na anesteziologicko-resuscitačním lůžku.

V tomto případě se infekci rány rezistentním kmenem *Staphylococcus aureus*, který je vedle G- tyček jedním z nejčastějších původců nozokomiální infekcí u pacientů s polytraumatem. Opět se zde objevuje prodloužení terapie a nebezpečí spojené s infekcí rekonstrukčního materiálu, který byl použit při operaci pánve.

Jak již bylo zmíněno, polytrauma je velmi zatěžující po stránce fyzické, ale neméně důležité jsou také dopady psychické. Stres je multifaktoriální a zahrnuje mnoho aspektů: samotný úraz (znetvoření, znehybnění, chybění části těla), konfrontace s vlastní smrtí, cizí prostředí, nedostatek informací, bolest, nesoběstačnost, chybění blízké osoby, invazivní léčba, diagnostické metody, pocit viny (při zavinění nehody), strach z budoucnosti (zaměstnání, finance) a mnoho dalších. Prodlužování léčby v důsledku kolonizace a infekce rezistentními kmeny je proto pro pacienta dalším nesmírně zatěžujícím faktorem při celkové terapii.²⁵

1.9 Evropská legislativa

Za krátké období od roku 2000 došlo ke vzestupu rezistence některých významných původců infekcí až o desítky procent. Nebezpečný trend se týká většiny evropských zemí včetně ČR, kde je situace u některých mikrobů jedna z nejhorších v Evropě. V roce 2001 vydala Rada Evropské unie (EU) doporučení pro uvážlivé používání antibiotik v humánní medicíně (Council Recommendation

²⁵ Infekční komplikace operační léčby zlomenin pánve. *Acta chirurgiae orthopaedicae et traumatologiae czechoslovaca*. 2008, roč. 75, č. 4, s. 293-296. DOI: 0001-5415. Dostupné z: <http://www.achot.cz/detail.php?stat=198>

on Prudent Use of Antimicrobials in Human Medicine). Dokument vychází ze závěrů některých konferencí (zejména The Microbial Threat, Kodaň 1998), stanoviska formulovaného Ekonomickým a sociálním výborem EU (materiál Antimicrobial Resistance as Threat to Public Health) i z dokumentů World health organization (WHO).

Toto doporučení Rady EU popisuje základní principy a mechanismy účinné prevence a kontroly antibiotické rezistence, jež mají být realizovány členskými zeměmi EU. Doporučení předpokládá implementaci tzv. mezisektorového koordinačního mechanismu, formulaci strategie a akčních plánů komplexního programu zaměřeného na prevenci a kontrolu antibiotické rezistence v jednotlivých členských zemích EU. „Národní mezisektorový mechanismus má zahrnovat surveillance rezistence a spotřeby antibiotik, intervence cílené na zlepšování preskripce antibiotik a optimalizaci jejich používání, oblast kontroly infekcí včetně vakcinace, oblast vzdělávání zdravotnických profesionálů i laické veřejnosti a v neposlední řadě také agendu bezpečného používání antibiotik v zemědělství a veterinární medicíně.“^{26,27}

1.10 Národní antibiotický program

Na základě výše zmíněného doporučení Rady EU a důkazů o nárůstu rezistentních kmenů bakterií byl v rámci Usnesení Vlády ČR ustanoven Věstníkem 9/2009 ministerstva zdravotnictví Národní antibiotický program

²⁶ Léčba a situace v ČR. In: *Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. 2011 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/hodnoceni-vyvoje-distribuce-vybrane-skupiny-lecivych-3>

²⁷ Národní antibiotický program v České republice. *Medical tribune*. Praha: Medical Tribune CZ, 2010, č. 4. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/16873-narodni-antibioticky-program-v-ceske-republice>

(NAP). Hlavní činnosti a funkce NAP jsou vyjmenovány a podrobně rozvedeny v Akčním plánu NAP pro období let 2012 až 2013.

Mezi 11 prioritních aktivit patří:

- surveillance antibiotické rezistence v humánní a veterinární oblasti;
- surveillance spotřeby antibiotik v humánní a veterinární oblasti;
- doporučené postupy pro používání antibiotik a kontrolu antibiotické rezistence;
- indikátory kvality používání antibiotik;
- podpora racionální preskripce antibiotik a kontrola antibiotické rezistence v primární a ambulantní péči;
- implementace nemocničních antibiotických programů;
- zlepšení informovanosti a posílení spoluzodpovědnosti laické veřejnosti za zachování účinnosti antibiotik a omezení šíření antibiotické rezistence;
- inovace činnosti antibiotických středisek;
- informační podpora a propagace činnosti NAP;
- vzdělávání předepisujících lékařů a zdravotnického personálu v uvážlivém používání antibiotik a kontrole antibiotické rezistence;
- agenda infekcí spojených se zdravotní péčí.

Používání antibiotik v primární a ambulantní péči reprezentuje přibližně 90 % jejich celkové spotřeby v humánní medicíně. Přitom je dokumentováno, že nejméně 40 - 50 % všech indikací antibiotické léčby je nevhodných (např. léčba antibiotiky při virovém respiračním onemocnění). Velmi často a zbytečně jsou volena alternativní, širokospektrá, a také nákladná antibiotika. Dlouhodobě příznivý stav rezistence bakteriálních patogenů v komunitě v ČR se v posledních letech rychle mění a nebezpečně narůstá. Optimalizace používání antibiotik ve smyslu omezení jejich nadužívání, případně nesprávného používání, je základním nástrojem pro omezení vzestupu antibiotické rezistence a zachování dostatečných možností účinné léčby infekcí v nemocnici.

Vhodným způsobem je začlenění Antibiotického programu do nemocničního programu kvality a bezpečnosti. K tomuto účelu výborně slouží Antibiotická střediska (AS), která se u nás tradují od sedmdesátých let dvacátého století. V současnosti je jejich dlouhodobá existence mezinárodně oceňována, protože do značné míry koresponduje s požadavky Doporučení Rady EU (2002/77/ES) o obezřetném používání antimikrobiálních látek v lékařství. Primární funkcí AS bylo sledování antibiotické rezistence a schvalování tzv. vázaných antibiotik, jejichž použití bylo vyčleněno pouze pro určené situace („rezervní antibiotika“). Po roce 1990 sice antibiotická střediska ztratila legislativní ukotvení, ale jejich činnost byla zachována. Většina zdravotnických zařízení i zdravotních pojišťoven považovala jejich služby za přínosné (zejména z hlediska kontroly nákladů na antibiotika). Kliničtí lékaři běžně využívají konzultačních služeb specialistů AS v každodenní praxi k optimalizaci antibiotické terapie. Většina antibiotických středisek existuje v rámci pracovišť klinické mikrobiologie a jejich síť je rovnoměrně rozprostřena ve všech regionech ČR. V současnosti je třeba AS nejenom zachovat jako základní výkonnou jednotku NAP, ale současně zajistit jejich pevnější legislativní ukotvení, zlepšit podmínky pro jejich činnost a inovovat jejich aktivity způsobem odpovídajícím současným požadavkům. S tímto přímo souvisí začlenění principů národní antibiotické politiky, prevence a kontroly antibiotické rezistence do systému pregraduálního, postgraduálního a kontinuálního vzdělávání lékařů a zdravotníků.

Dalším důležitým způsobem je zvyšování povědomí široké veřejnosti o problému antibiotické rezistence a zdůraznit realistická očekávání veřejnosti o předepisování antibiotik lékařem ve smyslu užití antibiotické terapie. Organizování vzdělávacích a informačních kampaní přispívá ke zvrácení negativních trendů šíření antibiotické rezistence a rozšíření povědomí o správné

praxi v prevenci a kontrole multirezistentních mikroorganismů.^{27, 28, 29, 30}

1.10.1 Organizační uspořádání NAP

Fungování takto rozsáhlého projektu vyžaduje pevné organizační uspořádání, rozdělení jednotlivých úkolů a jejich kontrolu. Struktura NAP zahrnuje složky s řídicí, koordinační a výkonnou funkcí, a to na národní, regionální a lokální úrovni. Hlavní organizační složky NAP jsou Centrální koordinační skupina NAP (CKS), Regionální koordinační skupiny, AS, Národní referenční laboratoř pro antibiotika a Subkomise pro antibiotickou politiku ČLS JEP (SKAP).^{27, 28, 29, 30}

²⁷ Národní antibiotický program v České republice. *Medical tribune*. Praha: Medical Tribune CZ, 2010, č. 4. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/16873-narodni-antibioticky-program-v-ceske-republice>

²⁸ Ustanovení Národního antibiotického programu v České republice. *Zprávy Epidemiologie a Mikrobiologie Státní Zdravotní Ústav = Bulletin of epidemiology and microbiology*. 2011, roč. 20, č. 8. ISSN 1804-8676.

²⁹ Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013 Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013. In: Státní zdravotní ústav [online]. 2011 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/akcni-plan-nap?>

³⁰ Council recommendation 2002/77/EC: on the prudent use of antimicrobial agents in human medicine. In: Official Journal of the European Communities. Brussels, 2001. Dostupné z: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF\(2002/77/EC\)](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF(2002/77/EC))

1.10.2 Centrální koordinační skupina NAP

Pro řízení NAP je zřízena mezioborová a mezisektorová centrální koordinační skupina, která je poradním orgánem ministra zdravotnictví. Je složena ze zástupců ministerstva zdravotnictví, Státního zdravotního ústavu, Subkomise pro antibiotickou politiku ČLS JEP, Státního ústavu pro kontrolu léčiv, zdravotních pojišťoven, ministerstva zemědělství a Státní veterinární správy. Jejím úkolem je formulace dlouhodobé strategie NAP a jeho akční plány. Navrhuje nezbytné zdroje a podmínky jejich realizace, dohlíží na tuto realizaci včetně projektů řešených v rámci jednotlivých bodů akčního plánu a hodnotí jejich výsledky. Podílí se na přípravě legislativního a metodického zajištění činnosti NAP. Ve spolupráci se SKAP formuluje zásady národní antibiotické politiky a doporučuje postupy včetně podpory jejich implementace. Koordinuje spolupráci institucí, organizací a dalších subjektů které se aktivně podílejí v oblasti používání antibiotik, prevenci a kontrole antibiotické rezistence. Koordinuje informování a vzdělávání odborné i laické veřejnosti v oblasti uvážlivého používání antibiotik a antibiotické rezistence nezávisle na farmaceutickém průmyslu. Zajišťuje distribuci informací o činnosti a prioritách NAP. Vydává výroční zprávu o činnosti NAP, kterou předává ministru zdravotnictví, ministru zemědělství a zveřejňuje ji na internetových stránkách NAP. Výroční zpráva obsahuje detailní informace

o plnění jednotlivých bodů akčního plánu a její součástí jsou rovněž výstupy surveillance antibiotické rezistence a spotřeby antibiotik v humánní i veterinární oblasti.^{27, 29, 30}

1.10.3 Regionální koordinační skupiny

Koncepce NAP předpokládá vznik regionálních koordinačních skupin NAP, jejichž úkolem je koordinace aktivit NAP na úrovni krajů, a to ve spolupráci s Centrální koordinační skupinou NAP a AS.²⁹

1.10.4 Antibiotická střediska

Jako výkonnou strukturou NAP na lokální úrovni jsou již výše zmíněná AS, která zajišťují jednotlivé dílčí programy v terénní zdravotnické praxi. Činnost AS upravuje zvláštní metodický pokyn (Metodický pokyn pro činnost antibiotických středisek v ČR). Registr AS vede SNAP. Jejich základními činnostmi jsou:

²⁷ Národní antibiotický program v České republice. *Medical tribune*. Praha: Medical Tribune CZ, 2010, č. 4. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/16873-narodni-antibioticky-program-v-ceske-republice>

²⁹ Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013 Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013. In: Státní zdravotní ústav [online]. 2011 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/akcni-plan-nap?>

³⁰ Council recommendation 2002/77/EC: on the prudent use of antimicrobial agents in human medicine. In: Official Journal of the European Communities. Brussels, 2001. Dostupné z: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF\(2002/77/EC\)](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF(2002/77/EC))

- aktivně ovlivňují a kontrolují dodržování zásad správné antibiotické praxe v zájmu uvážlivého používání antibiotik v lůžkové, ambulantní i primární péči;
- zajišťují sledování a analýzu údajů o lokální a regionální epidemiologii antibiotické rezistence a ukazatelů spotřeby a používání antibiotik;
- poskytují podklady pro národní a mezinárodní surveillance antibiotické rezistence;
- koordinují vytváření a aktualizaci lokálních postupů pro používání antibiotik vycházejících z národních odborných doporučení garantovaných SKAP;
- zajišťují vzdělávání a informování odborné i laické veřejnosti, podílejí se na prevenci a kontrole šíření multirezistentních mikrobů a infekcí spojených se zdravotní péčí v nemocnicích (jejich správné fungování musí být podpořeno lokálním pracovištěm lékařské mikrobiologie, které poskytuje klinicky relevantní podklady pro cílenou antibiotickou léčbu a surveillance antibiotické rezistence).^{29, 30}

1.10.5 Národní referenční laboratoř (NRL) pro antibiotika

NRL pro antibiotika provádí referenční a metodickou činnost v oblasti laboratorních metod a surveillance antibiotické rezistence. Ve spolupráci se sítí

²⁹ Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013 Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013. In: Státní zdravotní ústav [online]. 2011 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/akcni-plan-nap?>

³⁰ Council recommendation 2002/77/EC: on the prudent use of antimicrobial agents in human medicine. In: Official Journal of the European Communities. Brussels, 2001. Dostupné z: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF\(2002/77/EC\)](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF(2002/77/EC))

lokálních mikrobiologických laboratoří sdružených v Pracovní skupině pro monitorování rezistence organizuje národní surveillance antibiotické rezistence včetně typizace kmenů metodami molekulární epidemiologie. Poskytuje epidemiologické podklady pro formulaci zásad národní antibiotické politiky a ve spolupráci s European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) zajišťuje účast ČR v European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) a souvisejících projektech. Ve veterinární oblasti zajišťuje analogickou činnost NRL pro antimikrobiální rezistenci, která spolupracuje zejména s NRL pro salmonely (při Státním veterinárním ústavu Praha) a NRL pro kampylobaktery (při Státním veterinárním ústavu Olomouc). Systém veterinárních NRL je napojen na Centrální referenční laboratoř pro antimikrobiální rezistenci v Kodani.^{27, 29, 30}

1.10.6 Subkomise pro antibiotickou politiku ČLS JEP (SKAP)

SKAP je součástí organizační struktury ČLS JEP. Pro činnost NAP reprezentuje expertní zázemí v oblasti antimikrobních léčiv a antibiotické rezistence, zejména v agendě doporučených postupů nezávislých na farmaceutickém průmyslu (konsensus používání antibiotik, léčba a profylaxe

²⁷ Národní antibiotický program v České republice. *Medical tribune*. Praha: Medical Tribune CZ, 2010, č. 4. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/16873-narodni-antibioticky-program-v-ceske-republice>

²⁹ Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013 Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013. In: Státní zdravotní ústav [online]. 2011 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/akcni-plan-nap?>

³⁰ Council recommendation 2002/77/EC: on the prudent use of antimicrobial agents in human medicine. In: Official Journal of the European Communities. Brussels, 2001. Dostupné z: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF\(2002/77/EC\)](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF(2002/77/EC))

vybraných skupin infekcí, prevence a kontrola antibiotické rezistence), a také v oblasti odborných podkladů pro kategorizaci antimikrobních léčiv (volná a vázaná antibiotika). SKAP formuluje zásady národní antibiotické politiky, jež jsou oponovány odbornými společnostmi a konsensuálně garantovány ČLS JEP. Sdružuje experty delegované odbornými společnostmi v oborech lékařská mikrobiologie, epidemiologie, farmakologie, farmacie, infekční lékařství, pediatrie, primární péče pro děti, všeobecné lékařství. Členy SKAP jsou koordinátoři evropských projektů, zástupci veterinární medicíny a národní zástupce pro agendu antibiotické rezistence pro ECDC.^{27, 29, 30}

1.11 Aktivní Surveillance

Surveillance antibiotické rezistence poskytuje nenahraditelné epidemiologické údaje o stavu a vývoji citlivosti bakteriálních původců infekcí. Tyto údaje jsou nezbytné pro predikci činnosti antibiotik v úvodní antibiotické léčbě a v určení pozice jednotlivých látek jako léků volby a léků alternativních v terapii infekcí. Jsou proto rozhodujícím podkladem pro vytváření objektivních a na farmaceutickém průmyslu nezávislých doporučených postupů pro antibiotickou léčbu i profylaxi. Určují proto priority národní antibiotické politiky, včetně kritérií

²⁷ Národní antibiotický program v České republice. *Medical tribune*. Praha: Medical Tribune CZ, 2010, č. 4. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/16873-narodni-antibioticky-program-v-ceske-republice>

²⁹ Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013 Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013. In: Státní zdravotní ústav [online]. 2011 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/akcni-plan-nap?>

³⁰ Council recommendation 2002/77/EC: on the prudent use of antimicrobial agents in human medicine. In: Official Journal of the European Communities. Brussels, 2001. Dostupné z: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF\(2002/77/EC\)](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF(2002/77/EC))

pro registraci a kategorizaci antibiotik. Výstupy surveillance jsou nepostradatelné pro efektivní implementaci opatření prevence a kontroly infekcí cílenou na omezení šíření kmenů bakterií s klinicky a epidemiologicky nebezpečnou rezistencí ve zdravotnických zařízeních i v komunitě.

Hodnocení spotřeby antibiotik poskytuje základní ukazatele pro provádění cílených analýz k určení kvantitativních a kvalitativních parametrů nevhodného předepisování a příčin, které je způsobily. Cílem je stanovení cílených, účinných a nákladově efektivních intervencí, zaměřených na zlepšování kvality používání antibiotik. Ukazatele spotřeby antibiotik objektivizují shodu jejich reálného používání v praxi s prioritami národní antibiotické politiky. Dobře strukturované údaje o spotřebě antibiotik slouží ke studiu vztahů mezi spotřebou a rezistencí.

Správné používání antibiotik předpokládá existenci srozumitelných a v praxi použitelných doporučených postupů, které zohledňují stav a trendy antibiotické rezistence původců infekcí v ČR. Tyto doporučené postupy jsou garantované relevantními odbornými pracovníky, podpořeny důkazy a jsou nezávislé na farmaceutickém průmyslu. Postupy pro cílenou antibiotickou léčbu musí být doplněny doporučením pro správnou diagnostickou praxi, včetně klinicky relevantní mikrobiologické diagnostiky a vyšetření citlivosti. Postupy zaměřené na používání antibiotik musí být doplněny doporučeními pro prevenci a kontrolu

výskytu multirezistentních mikroorganismů a musí vycházet z kvalifikovaně formulovaných zásad národní antibiotické politiky.^{27,28,29,30}

1.11.1 EPI-DAT

K zajištění kontroly výskytu infekcí byl v letech 1990-1992 vypracován v rámci Hygienické služby program Epi-Dat. Program navázal na ISPO (Informační systém přenosných onemocnění KHS Ostrava, 1982-1992) a je celostátně používán na všech odděleních epidemiologie a protiepidemických odborech. Epi-Dat je součástí Národního zdravotnického informačního systému, který slouží k zajištění povinného hlášení, evidence a analýzy výskytu infekčních nemocí v České republice. Hlášení infekčních nemocí je základem pro místní, regionální, národní a nadnárodní kontrolu šíření infekčních nemocí. Jeho zákonným podkladem jsou závazné předpisy, zejména:

- Zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného v platném znění;

²⁷ Národní antibiotický program v České republice. *Medical tribune*. Praha: Medical Tribune CZ, 2010, č. 4. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/16873-narodni-antibioticky-program-v-ceske-republice>

²⁸ Ustanovení Národního antibiotického programu v České republice. *Zprávy Epidemiologie a Mikrobiologie Státní Zdravotní Ústav = Bulletin of epidemiology and microbiology*. 2011, roč. 20, č. 8. ISSN 1804-8676.

²⁹ Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013 Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013. In: Státní zdravotní ústav [online]. 2011 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/akcni-plan-nap?>

³⁰ Council recommendation 2002/77/EC: on the prudent use of antimicrobial agents in human medicine. In: Official Journal of the European Communities. Brussels, 2001. Dostupné z: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF\(2002/77/EC\)](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF(2002/77/EC))

- Rozhodnutí Rady EU č. 2119/98/EC o zřízení sítě epidemiologického dozoru a kontroly přenosných nemocí ve Společenství;
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 581/2004, o zřízení Evropského střediska pro prevenci a kontrolu nemocí;
- předpisy závazné pro členské země Světové zdravotnické organizace.

Data jsou průběžně sledována na Krajských hygienických stanicích, celostátně v Národním referenčním centru pro analýzu epidemiologických dat (Oddělení biostatistiky a informatiky SZÚ) a na Oddělení epidemiologie infekčních nemocí (Centra epidemiologie a mikrobiologie SZÚ). Selektovaná data jsou předávána specialistům a vedoucím jednotlivých surveillance programů k informaci a případně k porovnání a upřesnění etiologie podle dat laboratorní surveillance. Data surveillance z programu Epi-dat jsou rovněž zveřejňovány v časopise Zprávy Epidemiologie a mikrobiologie.

Na nadnárodní úrovni je Epi-Dat jedním z podkladů pro plnění rozhodnutí Evropského Parlamentu a Rady 2119/98/ES, 2002/253/ES, 2003/542/ES, 2008/426/ES, podle kterých musí být členskými státy prováděna celoevropská surveillance vybraných infekčních onemocnění a data hlášena do The European Surveillance System (TESS) a dalších EU sítí řízených ECDC.^{31, 32, 33, 34, 35}

³¹ Infekce v ČR - EPIDAT. Státní zdravotní ústav [online]. [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/publikace/data/infekce-v-cr>

³² Rozhodnutí evropského parlamentu a rady č. 2119/98/ES: O zřízení sítě epidemiologického dozoru a kontroly přenosných nemocí ve Společenství. In: <http://eur-lex.europa.eu>. Brusel, 1998.

³³ Rozhodnutí Komise 2008/426/ES: kterým se mění rozhodnutí 2002/253/ES, kterým se stanoví definice případů pro hlášení přenosných nem. In: <http://eur-lex.europa.eu>. Brusel, 2008. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32008D0426:CS:NOT>

³⁴ Rozhodnutí Komise 2002/253/ES: kterou se stanoví definice případů pro hlášení přenosných nemocí do sítě Společenství podle rozhodnutí Evropského parlamentu a Rady č. 2119/98/ES. In: <http://eur-lex.europa.eu>. Brusel, 2002.

³⁵ Rozhodnutí Komise 2003/542/ES: kterým se mění rozhodnutí 2000/96/ES, pokud jde o fungování specializovaných sítí epidemiologického dozoru. In: <http://eur-lex.europa.eu>. Brusel, 2003.

1.11.2 European Centre for Disease Prevention and Control

ECDC bylo založeno v roce 2005 jako agentura EU zaměřená na posílení obranyschopnosti Evropy proti infekčním nemocem se sídlem v Stockholmu. V zájmu dosažení tohoto poslání, pracuje ECDC ve spolupráci s vnitrostátními orgány na ochraně zdraví v celé Evropě, provádí dohled nad nemocemi a na rozvíjí systému včasného varování. ECDC ke své práci využívá znalostí odborníků z celé Evropy a díky nim připravuje stanoviska ohledně rizik spojených s aktuálními infekčními nemocemi.

Jeho hlavními funkcemi jsou:

- vyhledávat, shromažďovat, třídít, hodnotit a šířit relevantní vědecké a technické údaje;
- poskytovat vědecká stanoviska a vědeckou a technickou pomoc, včetně školení;
- poskytovat včasné informace komisím, členským státům, agenturám a mezinárodním organizacím působících v oblasti veřejného zdraví;
- výměna informací, zkušeností a osvědčených postupů, usnadňování rozvoje a provádění společných akcí.

Prioritou ECDC jsou dlouhodobé perspektivy evropské surveillance infekčních nemocí. Cílem je dosažení surveillance koordinované na úrovni EU, dosažení komplexních dat s vyloučením duplicity. Nezbytným předpokladem je integrace epidemiologické a laboratorní surveillance, včetně molekulární charakterizace infekčních agens.

ECDC nemá vlastní laboratoře a veškerou mikrobiologickou práci realizuje prostřednictvím mikrobiologických laboratoří v členských zemích EU. Mezinárodní spolupráce laboratoří v EU je nezbytná zejména vzhledem k hrozbě bioterorismu a objevování nových infekcí.

Bylo definováno pět oblastí mezinárodní spolupráce EU:

- programy veřejného zdraví;
- bezpečnost;
- připravenost;
- výzkum;
- mezinárodní zdravotnické regulace.

V každé z těchto oblastí má mikrobiologie významnou úlohu a nezastupitelnou roli zde mají mikrobiologické NRL členských zemí. Pro mezinárodní výměnu informací je nezbytné zajistit vysokou kvalitu kooperace laboratoří, vytvořit komunikující síť mikrobiologických NRL v EU, sjednotit a standardizovat diagnostiku v EU na úrovni NRL i na úrovni laboratoří klinické mikrobiologie v jednotlivých zemích EU.

Pro statistické sledování výskytu širokého spektra závažných infekčních onemocnění na evropské úrovni za účelem koordinace v oblasti zdravotní politiky EU slouží systém TESS. Je to vysoce flexibilní systém pro sběr, ověřování, analýzu a šíření údajů. Jejím hlavním cílem je poskytnout základ pro kvalitní analýzu dat a interpretaci poskytující důkazy pro oblast veřejného zdraví.^{36, 37, 38, 39}

³⁶ JINDRÁK, Vlastimil, Dana HEDLOVÁ a Jana PRATTINGEROVÁ. Současný koncept prevence a kontroly infekcí spojených se zdravotnickou péčí. Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie. 2012, roč. 21, č. 4. ISSN 1804-8668.

³⁷ Mission. European Centre for Disease Prevention and Control [online]. [cit. 2013-04-09]. Dostupné z: <http://www.ecdc.europa.eu/en/aboutus/Mission/Pages/Mission.aspx>

³⁸ Evropské centrum pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC) koordinuje spolupráci členských zemí Evropské unie s cílem zajistit připravenost na ochranu proti infekčním onemocněním. Zdravotnické noviny. 2009, č. 12. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/spoluprace-pri-kontrola-infekcnich-onemocneni-429727>

³⁹ The European Surveillance System. European Centre for Disease Prevention and Control [online]. [cit. 2013-04-09]. Dostupné z: <http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/tessy/pages/tessy.aspx>

1.11.3 European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)

EARS-Net je první nezávislý, dlouhodobý projekt surveillance antibiotické rezistence na národní a Evropské úrovni. Poskytuje informace o aktuálním stavu antibiotické rezistence a jejích trendech u klinicky významných, invazivních bakterií na území Evropy, v jednotlivých evropských zemích a v lokalitách jedné země. Zjištěné výsledky informují o rozdílech v antibiotické rezistenci mezi zeměmi Evropy a jsou nezbytné k hledání příčin těchto rozdílů. V rámci jedné země lze výsledky využít ke zjištění pozice jednotlivých antibiotik vzhledem k danému druhu bakterie a stanovit tak léky volby. Zjištění vysoké frekvence výskytu rezistence nebo vzrůstajícího trendu rezistence je důvodem k případnému zahájení příslušných intervenčních aktivit.

Cílem je shromažďovat srovnatelné a validní údaje o antibiotické rezistenci pro veřejné zdravotnictví zúčastněných zemí a rychle identifikovat vznik nové rezistence na území Evropy. Sledování bylo zahájeno jako systém EARSS v roce 1998 a od roku 1999 byl zaveden ve všech zemích EU, v Norsku a Irsku. ČR se k EARSS připojila v roce 2000. V roce 2011 bylo zapojeno do EARS-Net více než 1000 mikrobiologických laboratoří z 28 zemí Evropy.

Kontrolu kvality identifikace izolátů a vyšetření antibiotické rezistence zúčastněných laboratoří zajišťuje mezinárodně uznávaný systém National External Quality Assessment Service, Colindale, Velká Británie. Koordinaci CZ-EARS-Net zajišťuje NRL pro antibiotika při SZÚ, jejíž pracovníci sbírají údaje zaslané laboratořemi, kontrolují jejich kvalitu. U zaslaných kmenů bakterií vyšetřují kvantitativní citlivost a provádějí další podrobná vyšetření. Výsledky upravují na příslušný formát požadovaný EARS-Net a zasílají je do systému TESS. V ČR je 48 participujících laboratoří kde každá nemocnice ve spádové oblasti určité laboratoře je označena kódem této laboratoře a velkým písmenem abecedy. Pro účely EARS-Net zaznamenávají zúčastněné laboratoře výsledky vyšetření citlivosti pouze k několika určitým antibiotikům, která jsou významná z hlediska

léčby invazivní infekce způsobené daným původcem nebo pro epidemiologii antibiotické rezistence.

V ČR byla vyvinuta webová aplikace pro sběr dat do EARS-Net. Přes aplikaci jsou zadávány kmeny vyšetřené v lokálních laboratořích. Další kmeny invazivních izolátů jsou soustřeďovány v NRL pro antibiotika a hromadně vyšetřovány referenčními metodami. Jedním z vyšetřovaných elementů je průkaz ESBL u *E. coli* a *K. pneumoniae*, který se vyšetřuje pomocí speciálních testů.^{40, 41}

1.12 Databáze TESS

Databáze TESS, jakožto nástroj ECDC pro plnění Evropského nařízení 2119/98 a 2000/96, podle kterého jsou Evropské státy povinni shromažďovat data o vybraných nemocech a tato data poskytovat ostatní státům, ukazuje míru výskytu rezistentních kmenů v Evropě. Data zde lze vyhledat podle rezistence k antibiotikům, vybrané země nebo lze filtrovat nárůst počtu rezistentních kmenů v jednotlivých státech.

Databáze TESS neuvádí počet kmenů podle produkce betalaktamázy nebo jiné formy rezistence, ale podle citlivosti k jednotlivým skupinám antibiotik. Kmeny produkující ESBL jsou nejčastější patogeny způsobující rezistenci ke třetí skupině cefalosporinových antibiotik. V některých případech se rezistence u této skupiny antibiotik může objevit i u hyperproducentů betalaktamázy AmpC.

⁴⁰ Metodika sběru dat. Státní zdravotní ústav [online]. [cit. 2013-04-09]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/ears-net-4/metodika-sberu-dat>

⁴¹ O EARS-Net v České republice. Státní zdravotní ústav [online]. [cit. 2013-04-09]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/ears-net-4/o-earss-v-ceske-republice>

Tabulka č. 3 ukazuje výsledky kmenů *E. coli* pro Českou republiku od roku 2001 do roku 2011. Z tabulky je patrné, že výskyt ESBL kmenů v rámci druhu *E. coli* se každým rokem zvyšuje.⁴²

Tabulka č. 3: Přehled kmenů *E. coli* rezistentních k třetí generaci cefalosporinů v ČR v letech 2001-2011⁴²

Country	Year	Antibiotic Group	S	I	R	Total N	%S	%I	%R
Czech Republic	2001	3rd gen. cephalosporins	1140	0	27	1167	97.7 %	0.0 %	2.3 %
Czech Republic	2002	3rd gen. cephalosporins	1566	0	19	1585	98.8 %	0.0 %	1.2 %
Czech Republic	2003	3rd gen. cephalosporins	1739	0	20	1759	98.9 %	0.0 %	1.1 %
Czech Republic	2004	3rd gen. cephalosporins	1932	0	33	1965	98.3 %	0.0 %	1.7 %
Czech Republic	2005	3rd gen. cephalosporins	2183	0	50	2233	97.8 %	0.0 %	2.2 %
Czech Republic	2006	3rd gen. cephalosporins	2049	0	111	2160	94.9 %	0.0 %	5.1 %
Czech Republic	2007	3rd gen. cephalosporins	2229	0	178	2407	92.6 %	0.0 %	7.4 %
Czech Republic	2008	3rd gen. cephalosporins	2468	0	270	2738	90.1 %	0.0 %	9.9 %
Czech Republic	2009	3rd gen. cephalosporins	2489	0	270	2759	90.2 %	0.0 %	9.8 %
Czech Republic	2010	3rd gen. cephalosporins	2172	53	257	2482	87.5 %	2.1 %	10.4 %
Czech Republic	2011	3rd gen. cephalosporins	2310	69	305	2684	86.1 %	2.6 %	11.4 %

V tabulce č. 4 je zobrazen výskyt rezistentních kmenů *K. pneumoniae* v České republice v letech 2005 – 2011. Z údajů je možné pozorovat počáteční růst procenta rezistentních kmenů, který se ovšem od roku 2008 drží na ustálené hladině kolem 50 %.⁴²

⁴² TESSY reports. European Centre for Disease Prevention and Control [online]. 2005-2013, 2013 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/database/Pages/maps_report.aspx

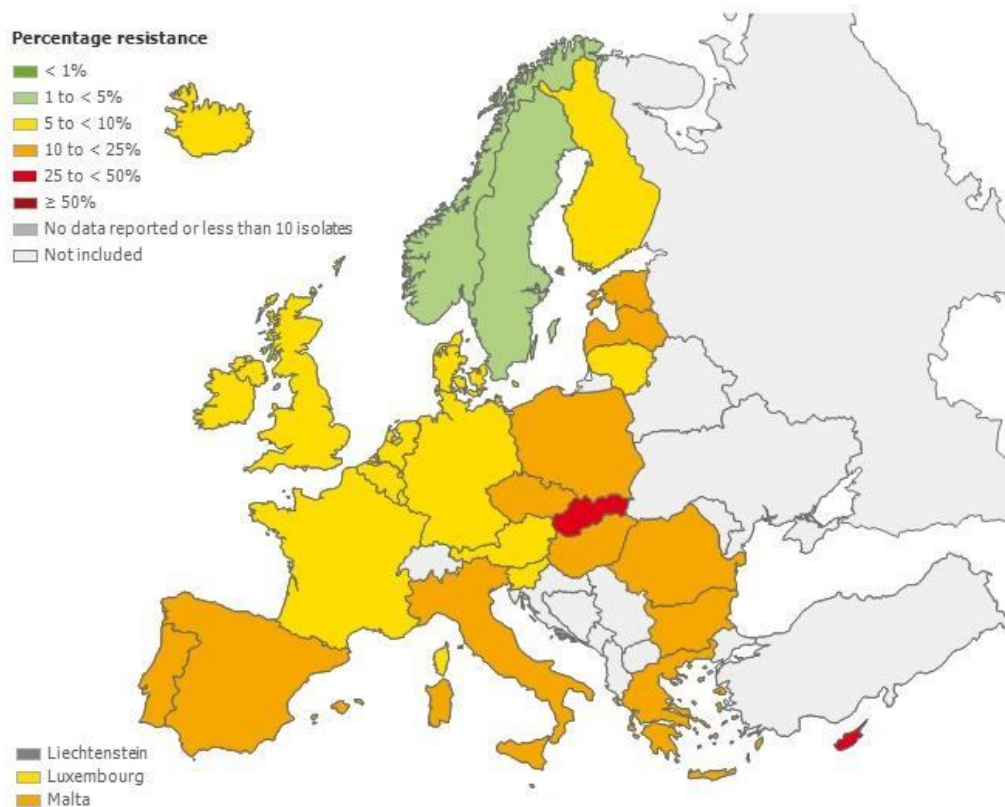
Tabulka č. 4: Přehled kmenů *K. pneumoniae* rezistentních k třetí generaci cefalosporinů v ČR v letech 2005-2011 ⁴²

Country	Year	Antibiotic Group	S	I	R	Total N	%S	%I	%R
Czech Republic	2005	3rd gen. cephalosporins	323	0	155	478	67.6 %	0.0 %	32.4 %
Czech Republic	2006	3rd gen. cephalosporins	737	0	393	1130	65.2 %	0.0 %	34.8 %
Czech Republic	2007	3rd gen. cephalosporins	667	0	563	1230	54.2 %	0.0 %	45.8 %
Czech Republic	2008	3rd gen. cephalosporins	781	0	712	1493	52.3 %	0.0 %	47.7 %
Czech Republic	2009	3rd gen. cephalosporins	678	0	737	1415	47.9 %	0.0 %	52.1 %
Czech Republic	2010	3rd gen. cephalosporins	612	42	609	1263	48.5 %	3.3 %	48.2 %
Czech Republic	2011	3rd gen. cephalosporins	623	43	621	1287	48.4 %	3.3 %	48.3 %

Situaci v Evropě v roce 2011 ukazují schémata č. 6 a 7. Schéma č. 6 ukazuje přehled kmenů *E. coli* ze kterého je patrné, že Česká republika zatím patří k Evropskému průměru. V sousedním Slovensku je situace o stupeň závažnější, vzhledem k šíření rezistentních kmenů hlavně zásluhou importovaným případů je do budoucna možné, že se bude situace v České republice zhoršovat. Ve schématu č. 7 je jasně vidět o kolik se liší situace mezi kmeny *E. coli* a *K. pneumoniae*. Rezistentní kmeny *K. pneumoniae* jsou mnohem rozšířenější než kmeny *E. coli*. Situace v České republice pro *K. pneumoniae* je téměř na nejvyšším stupni škály. Podle zhodnocených výsledků by se Česká republika měla zaměřit na kmeny *K. pneumoniae*, které vykazují nejhorší výsledky, a snažit se správnými postupy eliminovat rezistentní kmeny *K. pneumoniae*. ⁴²

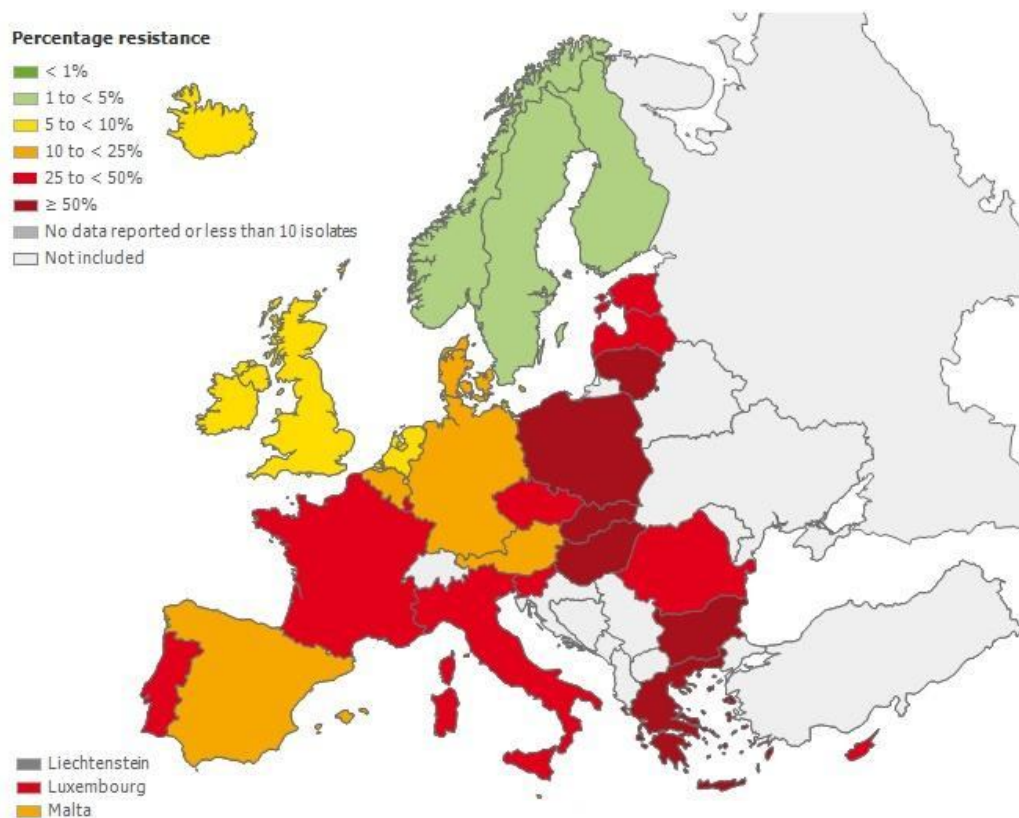
⁴² TESSY reports. European Centre for Disease Prevention and Control [online]. 2005-2013, 2013 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/database/Pages/maps_report.aspx

Schéma č. 6: Přehled kmenů ESCO rezistentních k třetí generaci cefalosporinů v Evropě v roce 2011 ⁴²



⁴² TESSY reports. European Centre for Disease Prevention and Control [online]. 2005-2013, 2013 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/database/Pages/maps_report.aspx

Schéma č. 7: Přehled kmenů KLPN rezistentních k třetí generaci cefalosporinů v Evropě v roce 2011 ⁴²



1.13 Nebezpečí šíření multirezistentních kmenů

V současnosti se do popředí dostává nová hrozba týkající se bakteriální rezistence. V mnoha zemích dochází k významnému šíření dalších multirezistentních G- bakterií, jedná se převážně o kmeny *Pseudomonas aeruginosa* (PSAE), *Acinetobakteri baumannii* (ACBA) a příslušníky čeledi *Enterobacteriaca*. Ze zprávy ECDC z roku 2012 vyplývá, že, tyto kmeny

⁴² TESSY reports. European Centre for Disease Prevention and Control [online]. 2005-2013, 2013 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/database/Pages/maps_report.aspx

produkují z epidemiologického hlediska nejvýznamnější typ beta-laktamázy, kterou označujeme jako karbapenemáza. Karbapenemáza hydrolyzuje většinu beta-laktamových antibiotik, včetně karbapenemů.

Rizikovým faktorem kolonizace a případné infekce tímto multirezistentním kmenem je předchozí nedávná hospitalizace v nemocničním zařízení cizího státu. Neboť import ze zahraničí je převážným zdrojem karbapenemáza pozitivních izolátů. Léčba infekce těmito bakteriemi je značně omezena, nejsou výjimkou ani kmeny rezistentní ke všem známým antibiotikům. Záchyt těchto kmenů byl zaznamenán i v České republice.

Situace v Evropě pro kmeny *Klebsiella pneumoniae* (KLPN) a PSAE jsou znázorněny na schématech č. 11 a 12 (výskyt kmenů je za období leden až prosinec 2011).^{43, 44}

1.13.1 Karbapenemázy

Karbapenemázy jsou členěny stejně jako ostatní beta-laktamázy, podle klasifikace navržené K. Bushem a spolupracovníky, popřípadě dle Amblera. První karbapenemáza ze skupiny metallo-beta-laktamáz byla detekována u PSAE v Japonsku v roce 1990. V dnešní době převládá produkce enzymu typu VIM, právě u kmenů PSAE.

⁴³ Dohled nad antimikrobiální situací v Evropě 2011: Shrnutí. In: Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí [online]. Stockholm, 2012 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: <http://ecdc.europa.eu/cs/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2011.pdf>

⁴⁴ HRABÁK, Jaroslav a Helena ŽEMLIČKOVÁ. Výskyt multirezistentních gramnegativních bakterií v českých nemocnicích: upozornění na problém šíření bakterií produkujících transferibilní karbapenemázy. In: Státní zdravotní ústav [online]. 2011 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/doporucene_postupy/surveillance_g/aktivni_surveillance_multirezistentnich_gramnegativnich_bakteri

Tabulka č. 5: Klinicky významné transferibilní karbapenemázy⁴⁴

Skupina dle klasifikace podle Bush/Amblera, označení	Označení karbapenemáz	Bakteriální druhy u nichž byly tyto enzymy nalezeny
Skupina 2f / A	KPC, GES, SME, IMI, NMC	<i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Serratia marcescens</i>), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i>
Skupina 3 / B, metalo-β-laktamázy	VIM, IMP, GIM, SIM, NDM, SPM, AIM, KMH, DIM, TMB	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i>
Skupina 2d / D OXA	OXA-48 Skupiny OXA-23, -58, -40	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i> ; <i>Acinetobacter baumannii</i>

1.13.1.1 Enzym *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)

Produkce karbapenemázy KPC byla poprvé potvrzena v USA v roce 1996. Jak již bylo výše zmíněno, všechna beta-laktamová antibiotika jsou proti těmto kmenům neúčinná a inhibice kyselinou Klavulanovou je oproti ESBL kmenům jen slabá a v klinické praxi nepoužitelná. Rezervoár KPC pozitivních kmenů je pravděpodobně v Řecku, USA a Izraeli. Z těchto zemí se kmeny šíří především v důsledku cestování. V České republice byl první izolát KPC nalezen v roce 2009 v severomoravské nemocnici.⁴⁴

⁴⁴ HRABÁK, Jaroslav a Helena ŽEMLIČKOVÁ. Výskyt multirezistentních gramnegativních bakterií v českých nemocnicích: upozornění na problém šíření bakterií produkujících transferibilní karbapenemázy. In: Státní zdravotní ústav [online]. 2011 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/doporucene_postupy/surveillance_g/aktivni_surveillance_multirezistentnich_gramnegativnich_bakteri

1.13.1.2 New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM)

Během posledních let došlo k rozšíření karbapenemázy ze skupiny metallo-beta-laktamáz, jedná se o enzym označený jako NDM. Poprvé byl enzym NDM popsán u kmene KLPN izolovaného od pacienta pocházejícího z Indie, který trvale žije ve Švédsku. Při cestě do Indie v roce 2007 se podrobil operačnímu zákroku v nemocnici v Novém Dillí. Po návratu do Švédska byl hospitalizován a byla mu identifikována neznámá metallo-beta-laktamáza nejprve u izobátu KLPN a následně i u kmenů *Escherichia coli* (ESCO). Později došlo k rozšíření tohoto enzymu do Velké Británie, kde se stal v roce 2009 dominantní karbapenemázou u enterobakterií. Na rozdíl od jiných metallo-beta-laktamáz mohou tyto kmeny nést současně také gen pro tvorbu ESBL.⁴⁴

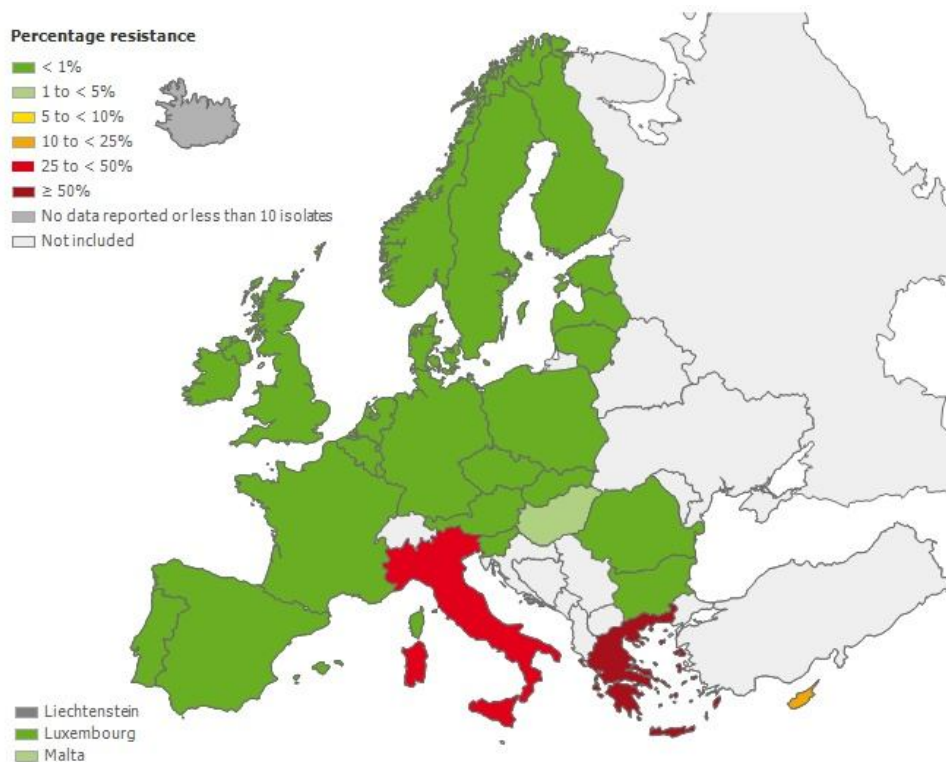
1.13.1.3 Multirezistentní *Acinetobacter baumannii*

Multirezistentní ACBA je významný původce infekcí u pacientů v nemocniční intenzivní péči. Celosvětovým problémem posledního desetiletí je rostoucí počet kmenů ACBA rezistentních ke karbapenemům, původně nejúčinnějším antibiotikům pro léčbu acinetobakterových infekcí. Tento trend neminul ani Českou republiku. ACBA produkující OXA-23 nebo nesoucí gen pro tuto karbapenemázu byl izolován v mnoha evropských zemích a výskyt tohoto genu u českého izolátu proto nepřekvapuje. Předchozí studie ukázaly, že šíření multirezistentních kmenů acinetobakterů a dalších významných podmíněných

⁴⁴ HRABÁK, Jaroslav a Helena ŽEMLIČKOVÁ. Výskyt multirezistentních gramnegativních bakterií v českých nemocnicích: upozornění na problém šíření bakterií produkujících transferibilní karbapenemázy. In: Státní zdravotní ústav [online]. 2011 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/doporucene_postupy/surveillance_g/aktivni_surveillance_multirezistentnich_gramnegativnich_bakteri

patogenů mezi českými nemocnicemi je běžné a pravděpodobně souvisí s nedostatečnými bariérovými a hygienickými opatřeními.²⁰

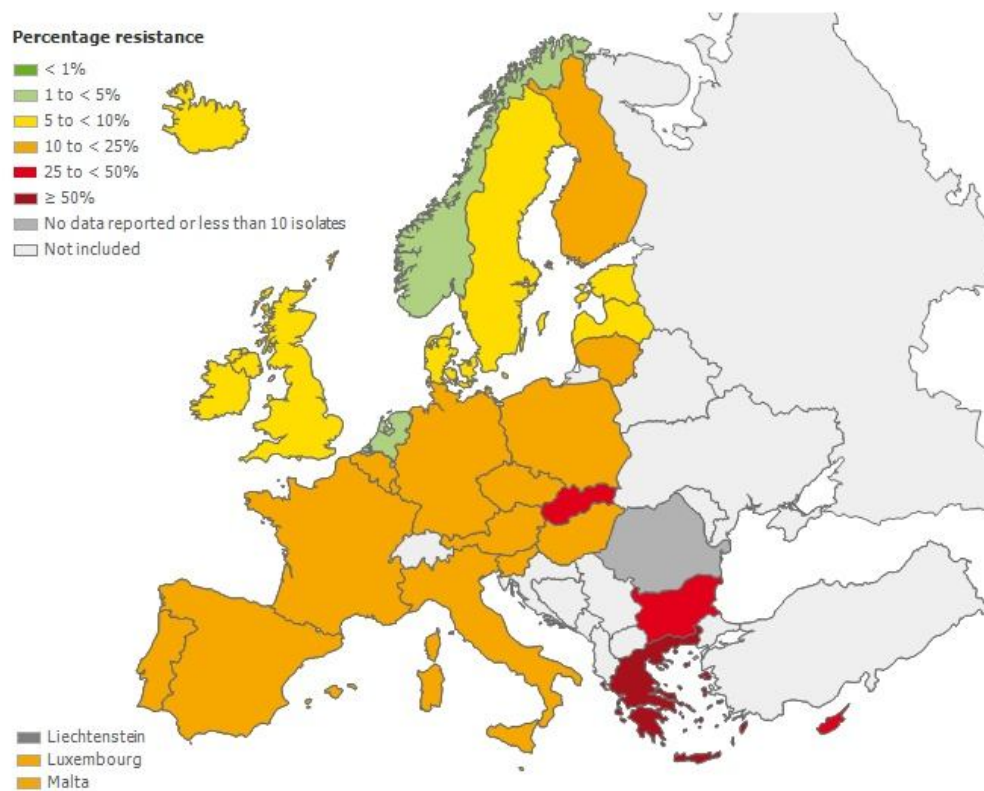
Schéma č. 8: Přehled kmenů KLPN rezistentním ke karbapenemům⁴²



²⁰ Multirezistentní *Acinetobacter baumannii* nesoucí geny pro karbapenemázy NDM-1 a OXA-23 importovaný do České republiky. Zprávy epidemiologie a mikrobiologie. 2012, roč. 21, č. 11. ISSN 1803-6422. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/20_2011/08_srpen/295_298.pdf

⁴² TESSY reports. European Centre for Disease Prevention and Control [online]. 2005-2013, 2013 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/database/Pages/maps_report.aspx

Schéma č. 9: Přehled kmenů PSAE rezistentním ke karbapenemům⁴²



⁴² TESSY reports. European Centre for Disease Prevention and Control [online]. 2005-2013, 2013 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/database/Pages/maps_report.aspx

2 Výzkumná otázka

Ze všech literárních zdrojů, které jsem pro tuto práci prostudovala, a z dlouhodobých statistik vyplývá, že počet kmenů produkujících ESBL celosvětově vzrůstá. V této práci chci zjistit, zda se výskyt těchto kmenů v čase zvyšuje i v Nemocnici České Budějovice a.s. a zda jsou tyto hodnoty srovnatelné s hodnotami dosaženými v moravských nemocnicích. Jedná se o Fakultní nemocnici Olomouc, Fakultní nemocnici Ostrava a Krajskou nemocnici T. Bati ve Zlíně.

3 Metodika

Sběr dat jsem prováděla ve spolupráci s laborantkami a lékaři v laboratoři Bakteriologie Nemocnice České Budějovice a.s. (dále jen laboratoř). Bakterie testované na průkaz produkce ESBL pocházely z biologických materiálů pacientů Nemocnice České Budějovice a.s. Od každého pacienta jsem použila vždy je jeden pozitivní vzorek, a to ten, který jsem zachytila jako první v odpovídajícím materiálu. Ke statistickému hodnocení jsem použila kmeny z klinických materiálů:

- bronchiální sekret;
- sputum;
- krev;
- moč;
- hnis;
- punktát;
- sekret z rány.

3.1 Zpracování biologického materiálu

Biologické vzorky jsem po příchodu do laboratoře zkontrolovala a označila. Podle druhu materiálu jsem je zpracovala v souladu se Standardními operačními postupy laboratoře. Při pozitivním nálezů G- tyček jsem tyto vzorky podrobila testování, které zahrnovalo identifikaci G- tyček a stanovení antibiogramu diskovou difúzní metodou pro předběžné vyhledání kmenů podezřelých na produkci ESBL. Podezřele rezistentní kmeny jsem podrobila kvantitativnímu testu citlivosti spolu se screeningovou metodou na průkaz produkce beta-laktamáz. Pro konečné potvrzení produkce ESBL jsem použila metodu Double Disk Synergy

Test (DDST) a konfirmační metodu Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

3.1.1 Bronchiální sekret a sputum

Materiály typu bronchiální sekret a sputum jsem zpracovala na pět tuhých kultivačních půd a jednu půdu tekutou. Jedná se o Columbia agar s 5% příměsí ovčí krve (CSB), Columbia agar s 5% příměsí ovčí krve a antibiotik kolistinu a kyseliny Nalidixové (CNA), Chocolate Agar + P.V.S. a přidaným antibiotikem Bacitracinem (CHOC), MacConkey Agar s Crystalovou Violetí (MCV) a Sabouraud Agar (SAB). Pro pomnožení malého množství bakterií jsem použila tekutou Thioglykolátovou půdu (PO).⁴⁵

3.1.2 Krev

Krev pacientů je do laboratoře transportována v hemokultivačních nádobkách, které jsou po příchodu okamžitě ukládány do přístroje BacT / ALERT 3D (Biomerieux). Mikroorganismy množící se v kultivačním médiu přítomném v lahvičkách vytváří CO₂. Jak se koncentrace CO₂ zvyšuje, čidlo na dně lahvičky mění barvu. Měřením odraženého světla, BacT / ALERT 3D monitoruje a detekuje barevné změny v senzoru. Pomocí tohoto jevu se monitoruje pozitivita nebo negativita přítomné krve na přítomnost bakterií.

⁴⁵ GARCIA, Lynne Shore a Henry D ISENBURG. *Clinical microbiology procedures handbook*. 3rd ed. /. Washington, DC: ASM Press, c2010, 3 v. ISBN 15-558-1527-8.

V případě positivity hemokultivační nádobky přístroj tuto skutečnost nahlásí a nádobka je vyjmuta a zpracována. Krev z pozitivních nádobek jsem zpracovala na tuhé kultivační půdy CSB a MCV.⁴⁶

3.1.3 Moč

Vzorky moči jsem zpracovala kvantitativní metodou pomocí přístroje HB&L UROQUATTRO (viz příloha č. 2). Principem vyšetření je nefelometrická detekce bakteriálního růstu ve vzorku moči. Laserový paprsek prochází skleněnou lahvičkou obsahující tekuté médium inokulované vzorkem moči. Signály rozptýleného laserového paprsku jsou detekovány, vypočteny a zobrazeny jako růstové křivky, které detailně informují o množství rostoucích bakterií.

Přístroj vyhodnocuje moče jako negativní, pozitivní s vyjádřením kvantity, kalné a abnormální. Při pozitivním vyhodnocení jsem část vzorku moče centrifugovala při 4000 ot./min a sediment použila na zhotovení mikroskopického preparátu, který jsem obarvila metodou dle Grama. V případě přítomnosti G-tyček jsem vzorek moči zpracovala na tuhou půdu UriSelect 4 (dodavatel BIO-RAD spol. s r.o).

Pokud přístroj vyhodnotil vzorek moči jako kalný nebo abnormální, nebyl schopný ho řádně proměřit a vyhodnotit. Proto jsem tyto vzorky zpracovala kvantitativní metodou na dvě kultivační půdy CSB a jednu půdu MCV (viz příloha č. 3). Na první CSB jsem umělou kličkou o objemu 10 μ l naočkovala čáru přes celý agar a vlnovitým pohybem jsem vzorek rozočkovala do zbylých míst (ředění 10³/ml moči). Stejnou kličkou jsem přenesla 10 μ l moče do zkumavky s 1 ml

⁴⁶ BacT/ALERT 3D. *Biomerieux* [online]. 1996-2013 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: http://www.biomerieux-diagnostics.com/servlet/srt/bio/clinical-diagnostics/dynPage?node=Blood_Cultures

fyziologického roztoku. Zbylé dvě půdy jsem si rozdělila na poloviny a zředěným vzorkem jsem stejným vlnovitým pohybem naočkovala nejprve horní poloviny kličkou o objemu 10 µl (ředění 10⁴/ml moči) a poté dolní poloviny kličkou o objemu 1 µl (ředění 10⁵/ml moči).^{45, 47, 48}

Tabulka č. 6: Vyhodnocení kvantitativní metody^{45, 47}

ředění 10 ³ /ml moči	do 10 kolonií	<10 ³ CFU /ml moči
	více kolonií růst pouze v tomto ředění	10 ³ CFU /ml moči
ředění 10 ⁴ /ml moči	růst pouze v tomto ředění	10 ⁴ CFU /ml moči
ředění 10 ⁵ /ml moči	do 10 kolonií	10 ⁵ CFU /ml moči
	do 100 kolonií	10 ⁶ CFU /ml moči
	> 100 kolonií	10 ⁷ CFU /ml moči

3.1.4 Hnis, punktát a sekret z rány

Vzorky hnisu, punktátu a sekretu z rány jsem zpracovala na pět pevných půd. Jsou to dvě půdy CSB (jednu jsem kultivovala v běžné atmosféře a druhou v mikroaerofilním prostředí se zvýšenou tenzí CO₂), MCV, Schaedler Vitamin K3

⁴⁵ GARCIA, Lynne Shore a Henry D ISENBERG. *Clinical microbiology procedures handbook*. 3rd ed. /. Washington, DC: ASM Press, c2010, 3 v. ISBN 15-558-1527-8.

⁴⁷ VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie: vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, 2010, 495 s. ISBN 978-808-6850-047.

⁴⁸ *URO-QUICK Screening kit*. Italy, 2010. Dostupné z: http://lm.biovendor.cz/?action=pricelist&_c_prod_id...set

Agar, Anaerobní krevní agar s obohacovadlem KV. A Dále na dvě půdy tekuté, pomnožování půda PO a THIO medium.⁴⁵

3.2 Kultivace

Kultivace vzorků naočkovaných na kultivačních půdách probíhalo za standardních podmínek při 36 ± 1 °C 18-24 hodin a v atmosféře doporučené výrobcem kultivačních půd. G- tyčky, které byly cílovou skupinou pro můj výzkum, rostou běžně na všech uvedených půdách.⁴⁵

3.3 Identifikace bakteriálních kolonií

Po uplynutí doby kultivace se u pozitivních kultivací objevily na kultivačních půdách kolonie bakterií. Tyto kolonie jsem izolovala a dále identifikovala. Kmeny izolované ze vzorků moči na diagnostické kultivační půdě UriSelect 4 rostou barevně a usnadňují tak identifikaci, přesto jsem pro jejich určení použila stejné testy jako na kmeny izolované na ostatních kultivačních půdách. Všechny izolované kmeny G- tyček jsem otestovala pomocí přístroje VITEK MS, který ve většině případů dokázal kmen určit. V případě, že přístroj nedokázal určit, o který bakteriální druh se jedná, zvolila jsem pro identifikaci biochemické testy (Švejcárova plotna, test kyseliny glutamové, test indolu a test acedamidu).

⁴⁵ GARCIA, Lynne Shore a Henry D ISEBERG. *Clinical microbiology procedures handbook*. 3rd ed. /. Washington, DC: ASM Press, c2010, 3 v. ISBN 15-558-1527-8.

3.3.1 Použité metody

UriSelect 4 - chromogenní kultivační médium UriSelect je určen k přímé identifikaci patogenů močových cest. V médiu jsou přítomny dva chromogenní substráty pro detekci β -galaktosidázy a β -glukosidázy, a tryptofan pro detekci tryptofanázové a tryptofandeaminázové aktivity.

Barva kolonií:

- růžová *Escherichia coli* (β -galaktosidáza pozitivní), potvrzení testem kys. Glutamové (viz příloha č. 4);
- modro-purpurová *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Serratia sp.* (β -galaktosidáza i β -glukosidáza pozitivní), potvrzení VITEK MS, rod *Klebsiella* potvrzení testem indol a urea (viz příloha č. 5);
- oranžovo-hnědá změna barvy agaru na hnědou – *Proteus sp.*, potvrzení testem indol *Providentia sp.*, *Morganella sp.* (tryptofandeaminázová aktivita), potvrzení VITEK MS;
- bílá nebo bezbarvá neurčeno; identifikace pomocí VITEK MS.⁴⁹

VITEK MS je systém k identifikaci bakterií a plísní, který pracuje metodou MALDI-TOF (MALDI – Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization, TOF – Time Of Flight). Na destičku (nosič) do příslušné pozice jsem aplikovala izolované kolonie G- tyček z kultivační půdy (viz příloha č. 7). Na tenkou vrstvu kolonie jsem následně naněsla matriční roztok. Nosič jsem vložila do přístroje VITEK MS, kde byl podroben opakovanému působení laserového paprsku. Matrice slouží k absorpci laserového světla a za vzniku elektrického náboje se spolu se vzorkem ionizuje. Ve vakuové trubici dochází k rozdělení iontů podle „hmotnosti“ a doby letu. Výsledky jsou zobrazeny ve formě píků, které odpovídají různým fragmentům původních molekul ve vzorku. Spektra jsou porovnávána

⁴⁹ UriSelect™ 4 Medium: Direct Identification Visibly Reliable. BIO-RAD [online]. 2012 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/cdg/literature/16364_B_UriSelect4.pdf

s databází spekter různých druhů bakterií. Po porovnání spekter je vypočítána procentuální pravděpodobnost vypovídající o míře shody vzorku s typickým spektrem daného mikroorganismu v databázi. Při dokonalé shodě je pravděpodobnost 99 %. Za pravděpodobně správné určení lze pokládat hodnoty 60-99 %. Pokud pravděpodobnost klesne pod 60 %, je vzorek považován za neidentifikovaný. Pokud není jednoznačně určen jeden druh, systém nabídne seznam možných kmenů nebo sdělí, že vzorek neodpovídá spektrům v databázi.⁵⁰

Vzorky, které nebyly identifikovány jsem otestovala biochemickými testy:

- Švejcarova plotna (viz příloha č. 6) - biochemický klín spojený s Endovým agarem je diagnostická půda (tzv. Švejcarova plotna) sloužící k rychlé a předběžné identifikaci běžných střevních patogenů a umožňující kontrolu čistoty kmene. Klín je tvořen peptonem a masovým extraktem, přidáván je thiosíran sodný a octan olovnatý (test produkce sirovodíku). Mikroorganismy s ureázou štěpí na klínu ureu za vzniku amoniaku, což vyvolá změnu barvy klínu (zvýšení pH) ze zelené na modrou. Při fermentaci glukosy vznikají kyseliny, barva klínu se mění ze zelené do žluté (snížení pH), a současně je vytvářen plyn (CO₂), který je zachytáván pod sklíčkem. Mikroorganismy produkující sirovodík vytvářejí zčernání minimálně v místě inokulace formou vpichu (sirovodík reaguje s octanem olovnatým a vzniká černý sulfid olovnatý). Endova půda obsahuje laktózu a fuchsin, který v přítomnosti aldehydů vznikajících při štěpení laktózy funguje jako Schiffovo reagens. Kolonie bakterií štěpící laktózu jsou tmavočervené,

⁵⁰ VITEK® MS. Biomerieux [online]. 1996-2013 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: http://www.biomerieux-diagnostics.com/servlet/srt/bio/clinical-diagnostics/dynPage?open=CNL_CLN_PRD&doc=CNL_CLN_PRD_G_PRD_CLN_72&pubparams.sform=1&lang=en

kolonie bakterií neštěpící laktózu jsou světlé. Při štěpení manitolu a sacharózy se kolem tablet vytváří červený dvorec;^{11, 45, 47}

- test kyseliny glutamové – slouží k rychlému orientačnímu určení střevních bakterií z čeledi Enterobacteriaceae. Test je využíván v identifikaci *Escherichia coli* a *Shigella* sp., které reagují pozitivně, a k odlišení *Citrobacter* sp., který reaguje negativně.⁵¹
- test indolu - test umožňuje rychlé orientační rozlišení některých enterobakterií na základě detekce indolu vznikajícího při štěpení tryptofanu. Přítomnost indolu je prokazována přidáním roztoku paradimethylaminobenzaldehydu (Ehrlichovo činidlo). Pozitivní reakce je patrná na povrchu suspenze s ponořeným diskem, kde se objeví červený prstenec (např. kmeny *Citrobacter* sp., *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus vulgaris*). Při negativní reakci se na povrchu suspenze s ponořeným diskem se objeví žlutý prstenec. (např. kmeny *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp.).⁵²
- test acetamidu - test je používán pro detekci schopnosti mikroorganismů využít acetamid při deaminaci pomocí enzymu acylamidasy. Deaminační schopnost je omezena pouze na několik bakteriálních druhů, proto je acetamidový test používán především pro odlišení *Pseudomonas aeruginosa* od ostatních nefermentujících G-

¹¹ VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie obecná. Brno: Neptun, 2001, 247 s. ISBN 80-902-8962-2.

⁴⁵ GARCIA, Lynne Shore a Henry D ISENBURG. *Clinical microbiology procedures handbook*. 3rd ed. / Washington, DC: ASM Press, c2010, 3 v. ISBN 15-558-1527-8.

⁴⁷ VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie: vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, 2010, 495 s. ISBN 978-808-6850-047.

⁵¹ Test kyseliny glutamové. ITEST PLUS s.r.o. Hradec Králové [online]. [cit. 2013-04-14]. Dostupné z: <http://www.itest-plus.cz/diagnosticke-pripravky-cz/pomocne-diagnosticke-testy-cz/test-kyseliny-glutamove-cz>

⁵² ITEST indol. ITEST PLUS s.r.o. Hradec Králové [online]. [cit. 2013-04-14]. Dostupné z: <http://www.itest-plus.cz/diagnosticke-pripravky-cz/diagnosticke-disky-cz/itest-indol-cz>

tyček. Tekutá bezbarvá půda obsahuje acetamid jako zdroj uhlíku a dihydrogenfosforečnan amonný jako zdroj dusíku. Při zakapání Nesslerovým činidlem dochází ve zkumavce k tvorbě oranžového zákalu.^{45, 47}

3.4 Stanovení antibiogramu

Po identifikaci izolovaných kmenů jsem všechny podrobila testu stanovení antibiogramu. Testovala jsem různá cefalosporinová antibiotika pro primární orientaci, zda se může jednat o producenta ESBL či nikoliv. Podezřelé byly ty kmeny, které byly k většině cefalosporinů rezistentní.

V první fázi testování jsem použila diskový difúzní test, který kvalitativně určil citlivost nebo rezistenci k jednotlivým antibiotikům. Kmeny podezřelé z produkce ESBL jsem podrobila přesnějšímu kvantitativnímu testu citlivosti pomocí automatického systému VITEK 2.

3.4.1 Diskový difúzní test

Jedná se o stanovení citlivosti bakteriálních agens k antimikrobiálním látkám kvalitativní metodou. Agarovou půdu určenou k testování citlivostí Mueller-Hinton agar jsem inokulovala testovaným bakteriálním kmenem a na agar jsem položila disky napuštěné antimikrobiální látkou. Během inkubace došlo k difúzi antimikrobiální látky do média, inhibici růstu citlivých bakterií a vytvoření inhibiční zóny.

⁴⁵ GARCIA, Lynne Shore a Henry D ISENBERG. *Clinical microbiology procedures handbook*. 3rd ed. /. Washington, DC: ASM Press, c2010, 3 v. ISBN 15-558-1527-8.

⁴⁷ VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie: vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, 2010, 495 s. ISBN 978-808-6850-047.

Po inkubaci jsem posuvným měřítkem změřila průměry inhibičních zón, které jsem porovnávala s break-pointy (hraničními hodnotami) stanovenými pro citlivé kmeny dle standardů British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) a European Committee on Antimicrobial Susceptibility Trstiny (EUCAST). Při hodnotách shodných nebo větších než hraničních, jsem kmen považovala za citlivý k danému antibiotiku, v opačném případě za rezistentní.^{45, 47, 53}

3.4.3 VITEK 2

Systém VITEK 2 (viz přílohy č. 8, 9, 10) je automatizovaná testovací metoda založená na technice MIC. Jedná se o zkrácenou verzi techniky dvojitého ředění pro MIC stanovené mikrodiluční metodou. Každá testovací karta obsahuje 63 mikrojamek s předem odměřeným množstvím určitých antimikrobiálních látek a kultivačním médiem, a jednou jamkou kontrolní. Testované bakteriální suspenze jsou zředěny na standardní koncentraci v 0,45% fyziologickém roztoku. Karta je poté zaplněna, uzavřena a umístěna do inkubátoru přístroje. Přístroj monitoruje růst každé jamky na kartě po stanovenou dobu. Po dokončení inkubačního cyklu jsou stanoveny hodnoty MIC pro každou antimikrobiální látku obsaženou na kartě. Systém hodnotí každý vzorek růstu mikroorganismu v přítomnosti antimikrobiální látky ve vztahu k růstu kontrolní jamky.

Ke stanovení MIC je použito několik parametrů založených na růstových charakteristikách. Interpretace MIC je v souladu s interpretacemi EUCAST, CLSI,

⁴⁵ GARCIA, Lynne Shore a Henry D ISENBERG. *Clinical microbiology procedures handbook*. 3rd ed. /. Washington, DC: ASM Press, c2010, 3 v. ISBN 15-558-1527-8.

⁴⁷ VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie: vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, 2010, 495 s. ISBN 978-808-6850-047.

⁵³ Jaké breakpointy používat pro interpretaci výsledků vyšetření citlivosti bakterií k antibiotikům. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie*. 2010, roč. 19, č. 9, s. 266-267. ISSN 1803-6422.

Société Française de Microbiologie nebo dle úpravy celosvětově nastavených hodnot v souladu s dalšími místními předpisy.⁵⁴

3.5 Testování produkce ESBL

Pro testování kmenů G- tyčků na produkci ESBL jsem použila dvě metody. Prvním testem byla diagnostická kultivační půda ChromID™ ESBL, která slouží jako orientační metoda pro stanovení produkce ESBL. Tento test jsem prováděla současně s testem v systému VITEK 2 pro stanovení kvantitativní citlivosti.

Druhou metodou byly testy založené na principu inhibice hydrolyzy antibiotika klavulanovou kyselinou. Jsou to Double disk synergy test (DDST) a Konfirmační metoda CLSI. Pro oba tyto testy platí, že se jimi dá současně s ESBL hodnotit i produkce beta-laktamázy AmpC. Při hodnocení je důležité rozlišovat, o který jev se jedná.^{55,56}

3.5.1 ChromID™ ESBL

ChromID™ ESBL je médium pro izolaci a detekci producentů ESBL z rodu Enterobacteriaceae (viz příloha č. 11). Půda obsahuje mix antibiotik včetně

⁵⁴ Jaké breakpointy používat pro interpretaci výsledků vyšetření citlivosti bakterií k antibiotikům. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie*. 2010, roč. 19, č. 9, s. 266-267. ISSN 1803-6422.

⁴⁶ VITEK® 2. Biomerieux [online]. 1996-2013 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: http://www.biomerieux-front1.heb.fr.colt.net/servlet/srt/bio/usa/dynPage?doc=USA_PRD_LST_G_PRD_USA_4

⁵⁵ ChromID® ESBL. Biomerieux [online]. 1996-2013 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: http://www.biomerieux-diagnostics.com/servlet/srt/bio/clinical-diagnostics/dynPage?open=CNL_CLN_PRD&doc=CNL_PRD_CPL_G_PRD_CLN_21&pubparams.sform=7&lang=en

⁵⁶ Detekce širokospektrých beta-laktamáz (ESBL), beta-laktamáz AmpC, metalo-beta-laktamáz (MBL) a karbapenemáz KPC u gramnegativních tyčků. *Zprávy centra mikrobiologie a epidemiologie*. 2009, roč. 18, č. 3, s. 100-106. ISSN 1804-8668.

cefepodoximu, který slouží jako marker pro rozlišení mechanismu rezistence. Použitá ATB inhibují grampozitivní bakterie a kvasinky. Další součástí jsou dva chromogenní substráty a jeden přírodní substrát umožňující identifikaci ESBL producentů:

- *Escherichia coli*: spontánní zbarvení (růžová až burgundská červeně) kmenů produkujících β -glukuronidázu;
- *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*: spontánní zbarvení do zelena, hnědozelena nebo modra u kmenů vykazujících β -glukosidázu;
- *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*: spontánní zbarvení od tmavě hnědé po světle hnědou u kmenů vykazujících deaminázu.^{55, 57, 58}

3.5.2 DDST

Metoda je založena na principu detekce deformace inhibičních zón, které vytváří testovaný kmen na Mueller-Hinton agaru mezi disky s cefalosporiny a aztreonamem, a diskem s amoxicilinem/klavulanovou kyselinou (viz příloha č. 12).

Producent ESBL vytváří zvětšenou inhibiční zónu, obvykle ve tvaru „zátky od šampaňského“, kolem disku alespoň jednoho z antibiotik (aztreonamu,

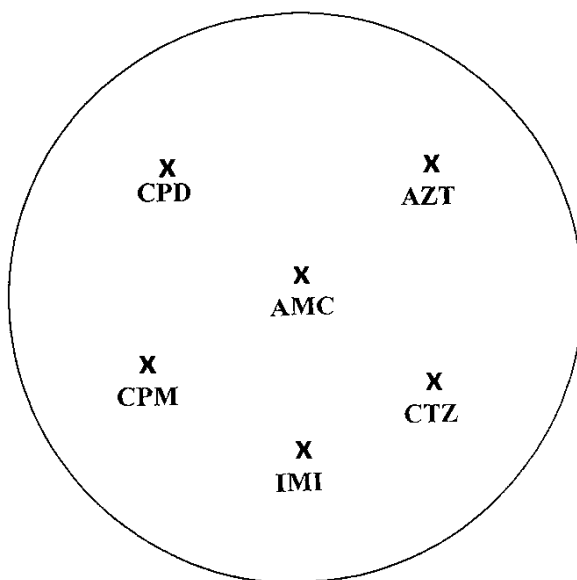
⁵⁵ ChromID® ESBL. Biomerieux [online]. 1996-2013 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: http://www.biomerieux-diagnostics.com/servlet/srt/bio/clinical-diagnostics/dynPage?open=CNL_CLN_PRD&doc=CNL_PRD_CPL_G_PRD_CLN_21&pubparams.sform=7&lang=en

⁵⁷ Selection of Abstracts. In: Biomérieux [online]. Helsinky, 2009 [cit. 2013-04-14]. Dostupné z: http://www.biomerieux-diagnostics.com/upload/ECCMID_abstracts.pdf

⁵⁸ BUSH, K., G. A. JACOBY a A. A. MEDEIROS. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1995-06-01, roč. 39, č. 6, s. 1211-1233. ISSN 0066-4804. DOI: 10.1128/AAC.39.6.1211. Dostupné z: <http://aac.asm.org/cgi/doi/10.1128/AAC.39.6.1211>

cefotaximu, ceftazidimu, cefepimu) na straně sousedící s diskem kombinace amoxicilin/klavulanová kyselina.⁵⁹

Schéma č. 10: Rozložení antibiotických disků pro DDST⁵⁹



Legenda: CPD – cefpodoxim, AZT – aztreonam, AMC – amoxicilin + klavulanová kyselina, CPM – cefepim, CTZ – ceftazidim, IMI – imipenem.

3.5.3 Konfirmační metoda CLSI

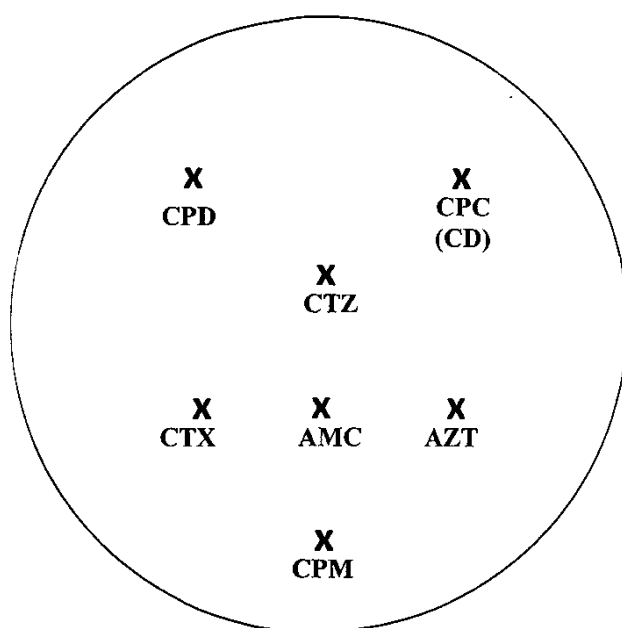
Využívá srovnání průměru inhibičních zón, které vytváří testovaný kmen na Mueller-Hinton agaru okolo disků s určitým cefalosporinem a okolo disku obsahujícím kombinaci téhož cefalosporinu s klavulanovou kyselinou (viz příloha č. 13). Je-li rozdíl průměru inhibičních zón větší než 5 mm (větší zóna musí být

⁵⁹ Průkaz β -laktamáz širokého spektra (ESBL) a typu AmpC u enterobakterií. Zprávy centra mikrobiologie a epidemiologie. 2007, roč. 16, č. 1, s. 31-36. ISSN 1804-8668.

vždy u disku s kombinací), je kmen hodnocen jako producent ESBL. Metoda platí jen pro druhy *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* a *Proteus mirabilis*.

Producent ESBL vytváří inhibiční zóny mezi diskem s cefalosporinem a diskem obsahujícím kombinaci téhož cefalosporinu s klavulanovou kyselinou, pokud je rozdíl průměrů > 5 mm ve prospěch disku s kombinací.⁵⁹

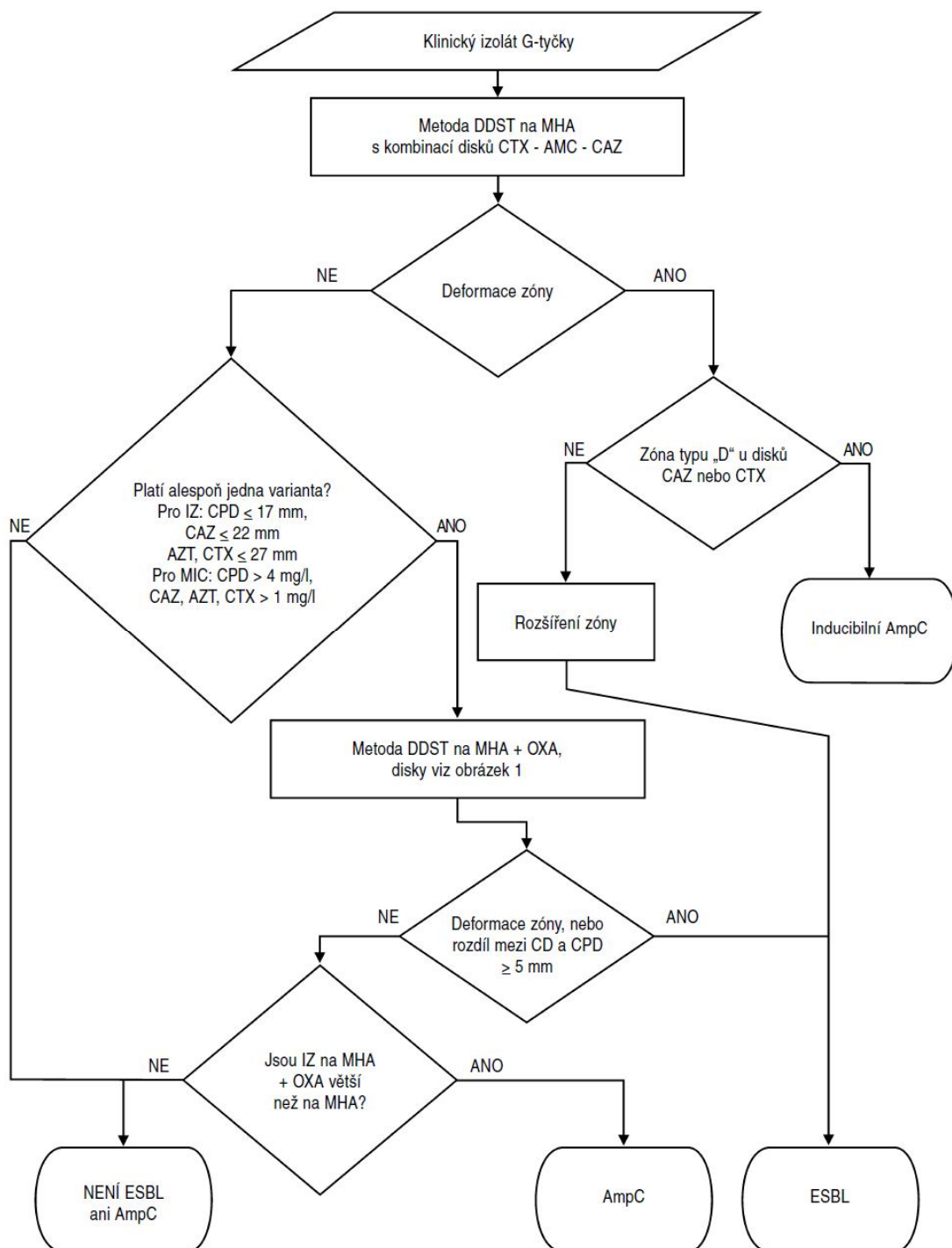
Schéma č. 11: Rozložení disků pro konfirmační metodu CLSI⁵⁹



Legenda: CPD – cefpodoxim, CPC – cefepim + klavulanová kyselina, AZT – aztreonam, AMC – amoxicilin + klavulanová kyselina, CPM – cefepim, CTZ – ceftazidim, CTX – cefotaxim.

⁵⁹ Průkaz β -laktamáz širokého spektra (ESBL) a typu AmpC u enterobakterií. Zprávy centra mikrobiologie a epidemiologie. 2007, roč. 16, č. 1, s. 31-36. ISSN 1804-8668.

Schéma č. 12: Algoritmus průkazu ESBL a AmpC



Legenda

- MHA – Müller-Hinton agar, MHA+OXA - Müller-Hinton agar s 128 mg/l oxacilinu;
- Kódové označení disků: AMC – amoxicilin/klavulanová kys., AZT – aztreonam, CAZ – ceftazidim, CPD – cefpodoxim, CP – cefpodoxim/klavulanová kys., CTX – cefotaxim, FEP – cefepim⁵⁹

⁵⁹ Průkaz β -laktamáz širokého spektra (ESBL) a typu AmpC u enterobakterií. Zprávy centra mikrobiologie a epidemiologie. 2007, roč. 16, č. 1, s. 31-36. ISSN 1804-8668.

4 Výsledky

4.1 Celkový přehled

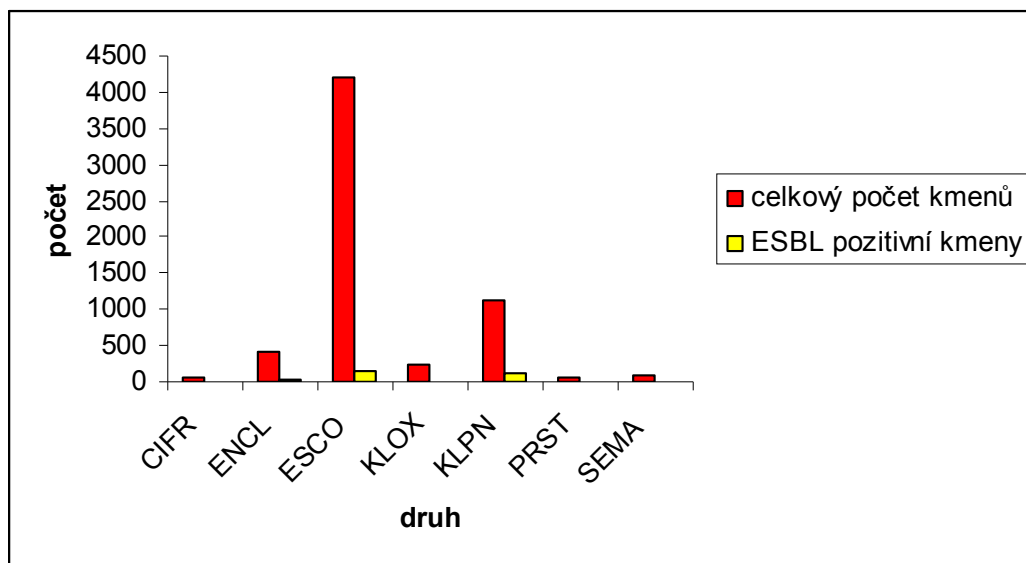
V roce 2012 bylo v nemocnici České Budějovice a.s. identifikováno 6134 kmenů G- tyček těch druhů, u kterých se vyskytla alespoň v jednom případě produkce ESBL. Byly to druhy *Citrobacter freundii* (CIFR), *Enterobacter cloacae* (ENCL), ESCO, *Klebsiella oxytoca* (KLOX), *Klebsiella pneumoniae* (KLPN), *Providencia stuartii* (PRST) a *Serratia marcescens* (SEMA). Z těchto kmenů bylo 321 pozitivních na produkci ESBL.

Tabulka č. 7: Přehled izolovaných enterobakterií, včetně ESBL pozitivních kmenů

druh	celkový počet kmenů	ESBL pozitivní kmeny	ESBL pozitivní kmeny (%)
Citrobakter freundii	64	3	4,69
Enterobakter cloacae	400	42	10,50
Escherichia coli	4192	140	3,34
Klebsiella oxytoca	223	4	1,79
Klebsiella pneumoniae	1121	130	11,60
Providencia stuartii	50	1	2,00
Serratia marcescens	84	1	1,19
celkem	6134	321	5,23

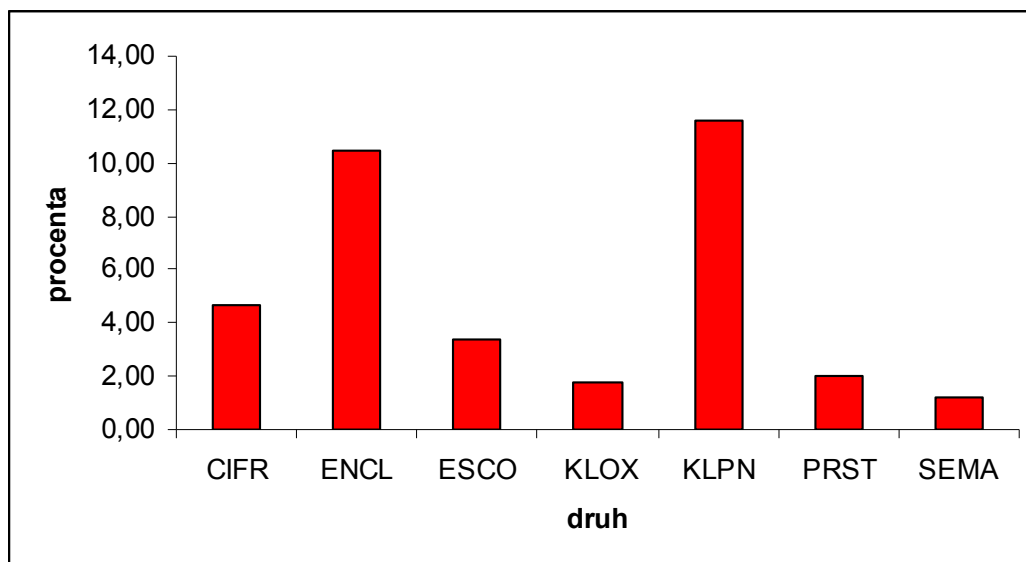
Vlastní zdroj

Graf č. 1: Přehled izolovaných enterobakterií, včetně ESBL pozitivních kmenů



Vlastní zdroj

Graf č. 2: Přehled ESBL pozitivních izolátů vůči celkovému počtu enterobakterií daného druhu (vyjádření v procentech)



Vlastní zdroj

4.2 Přehled podle typu nemocniční péče

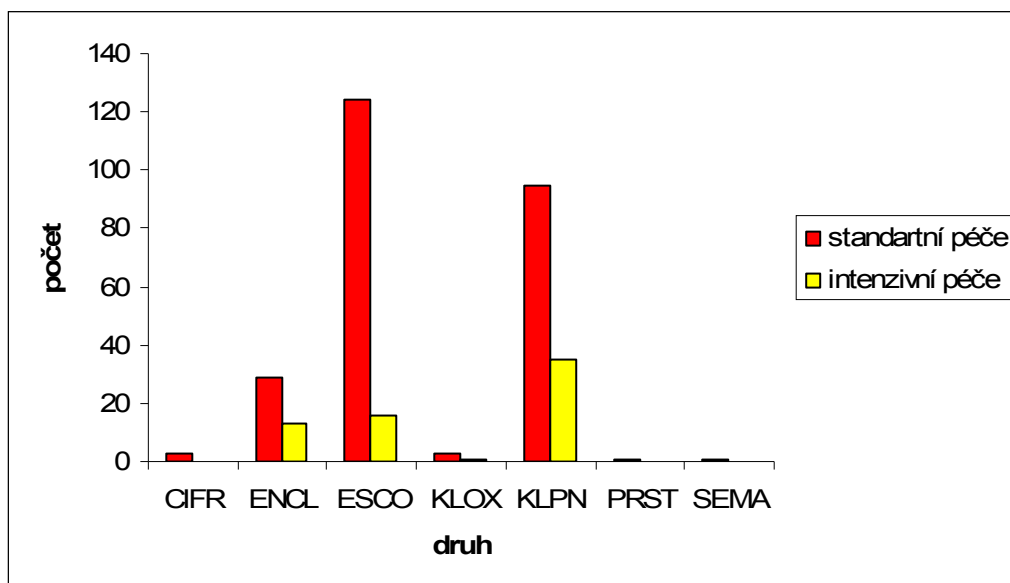
V tomto přehledu je výskyt zaměřen na typ nemocniční péče. V části intenzivní péče jsou zařazeny všechny Jednotky intenzivní péče (JIP), které se nacházejí v Nemocnici České Budějovice a.s. a dále dvě Anesteziologicko-resuscitační oddělení (ARO). Všechny ostatní oddělení jsou zařazeny v části standardní péče.

Tabulka č. 8: Výskyt ESBL pozitivních enterobakterií podle typu nemocniční péče.

druh	standartní péče		intenzivní péče	
	celkem (počet)	Celkem (%)	celkem (počet)	Celkem (%)
Citrobakter freundii	3	100	0	0
Enterobakter cloacae	29	69	13	31
Escherichia coli	124	88,5	16	11,5
Klebsiella oxytoca	3	75	1	15
Klebsiella pneumoniae	95	73	35	27
Providencia stuartii	1	100	0	0
Serratia marcescens	1	100	0	0

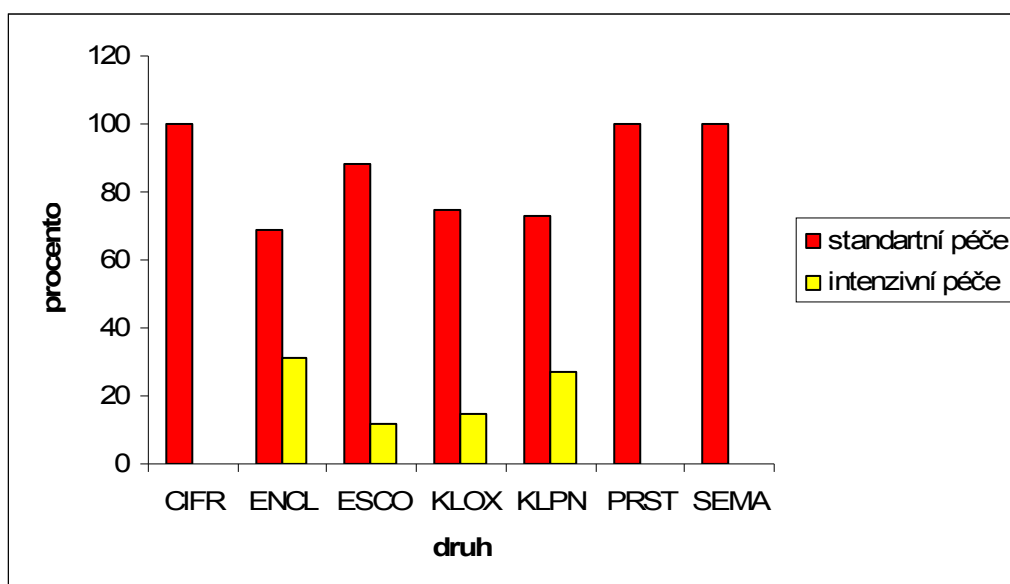
Vlastní zdroj

Graf č. 3: Výskyt ESBL pozitivních enterobakterií podle typu nemocniční péče



Vlastní zdroj

Graf č. 4: Výskyt ESBL pozitivních enterobakterií podle typu nemocniční péče (vyjádření v %)



Vlastní zdroj

4.3 Přehled podle typu nemocničního oddělení

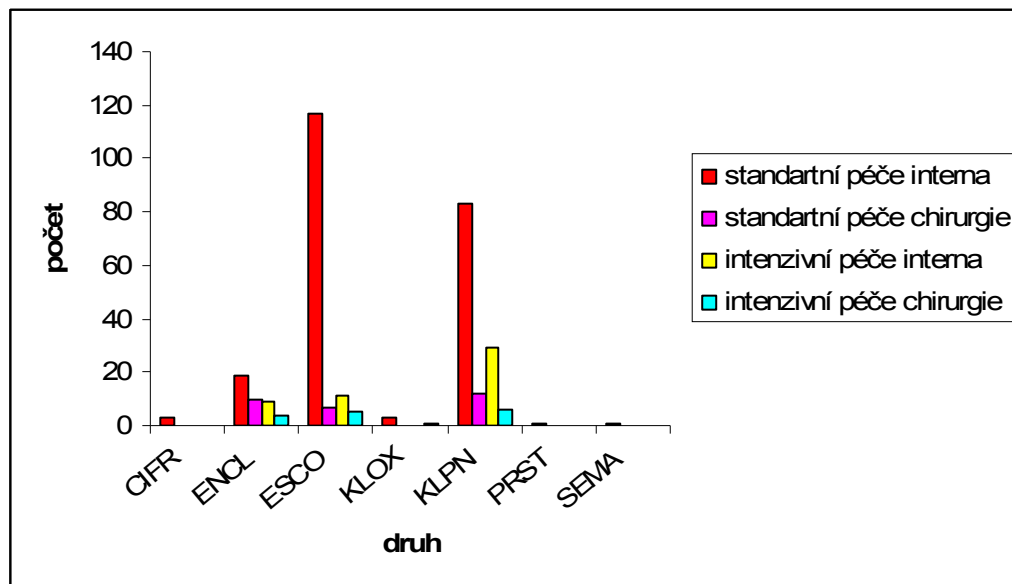
V této části je přehled rozšířen nejen na typ nemocniční péče, ale také na to, zda se jedná o chirurgické oddělení nebo oddělení interní. Do části chirurgie byly zahrnuty oddělení chirurgie, úrazové chirurgie, neurochirurgie a kardiouchirurgie. Zbytek oddělení byl zařazen do části interna.

Tabulka č. 9: Výskyt ESBL pozitivní enterobakterií podle typu nemocničního oddělení

druh	standartní péče		intenzivní péče	
	interna	chirurgie	interna	chirurgie
Citrobakter freundii	3	0	0	0
Enterobakter cloacae	19	10	9	4
Escherichia coli	117	7	11	5
Klebsiella oxytoca	3	0	0	1
Klebsiella pneumoniae	83	12	29	6
Providencia stuartii	1	0	0	0
Serratia marcescens	1	0	0	0

Vlastní zdroj

Graf č. 5: Výskyt ESBL pozitivní enterobakterií podle typu nemocničního oddělení



Vlastní zdroj

4.4 Výskyt podle typu biologického vzorku

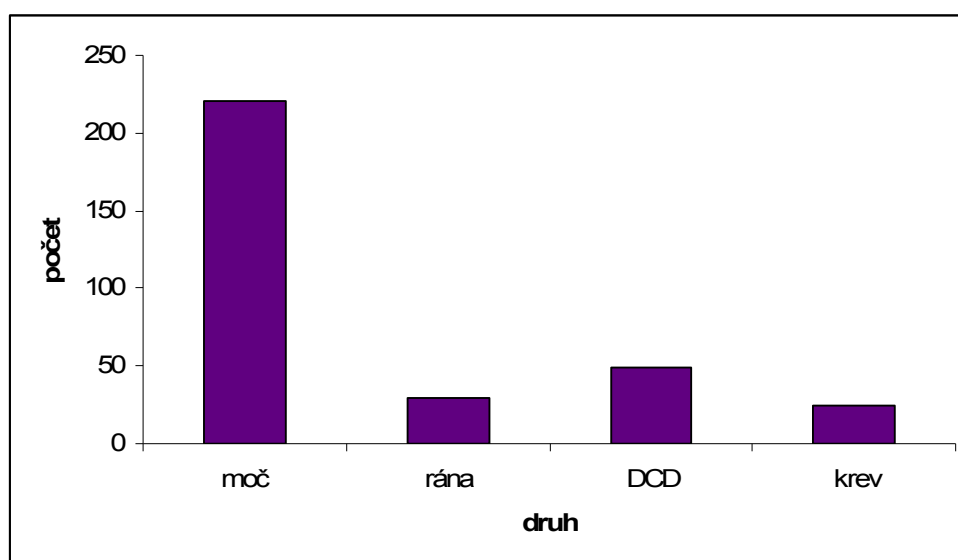
V této části jsou data hodnocena podle typu biologických vzorků, ve kterých se ESBL producenti vyskytovaly. Jednalo se o vzorky moč, rána (do této kategorie byly zařazeny vzorky typu hnis, punktát a sekret z rány), krev a DCD (do této kategorie byly zařazeny vzorky typu bronchiální sekret a sputum). Data byla současně zhodnocena podle druhu bakteriálního kmene.

Tabulka č. 10: Výskyt ESBL pozitivních enterobakterií podle typu biologických vzorků

druh	moč	rána	DCD	krev
Citrobakter freundii	2	0	1	0
Enterobakter cloacae	17	9	14	2
Escherichia coli	120	11	6	5
Klebsiella oxytoca	3	0	1	0
Klebsiella pneumoniae	77	8	27	18
Providencia stuartii	1	0	0	0
Serratia marcescens	0	1	0	0
celkem	220	29	49	25
celkem (%)	68,54	9,03	15,26	7,79

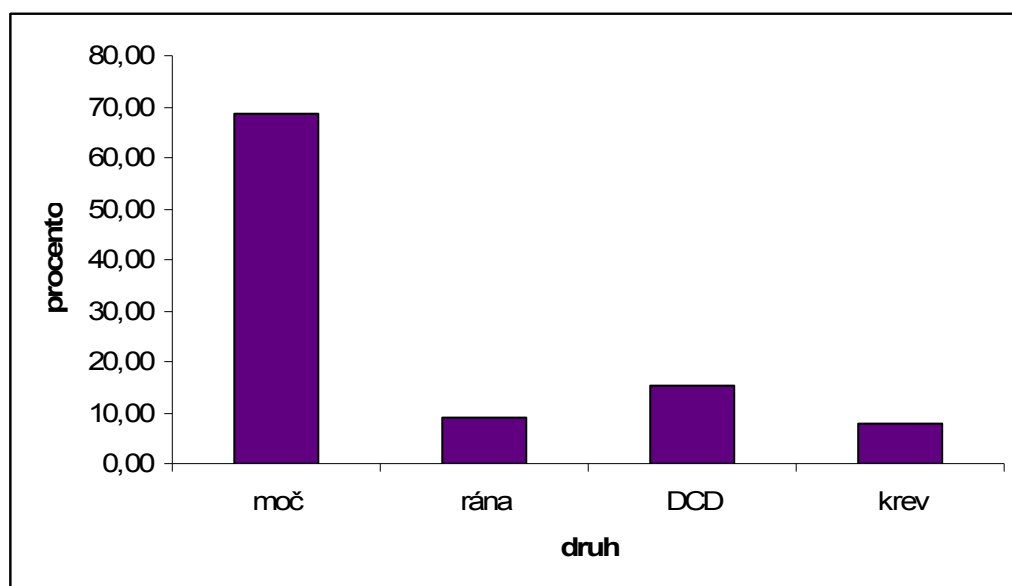
Vlastní zdroj

Graf č. 6: Výskyt ESBL pozitivních enterobakterií podle typu biologických vzorků



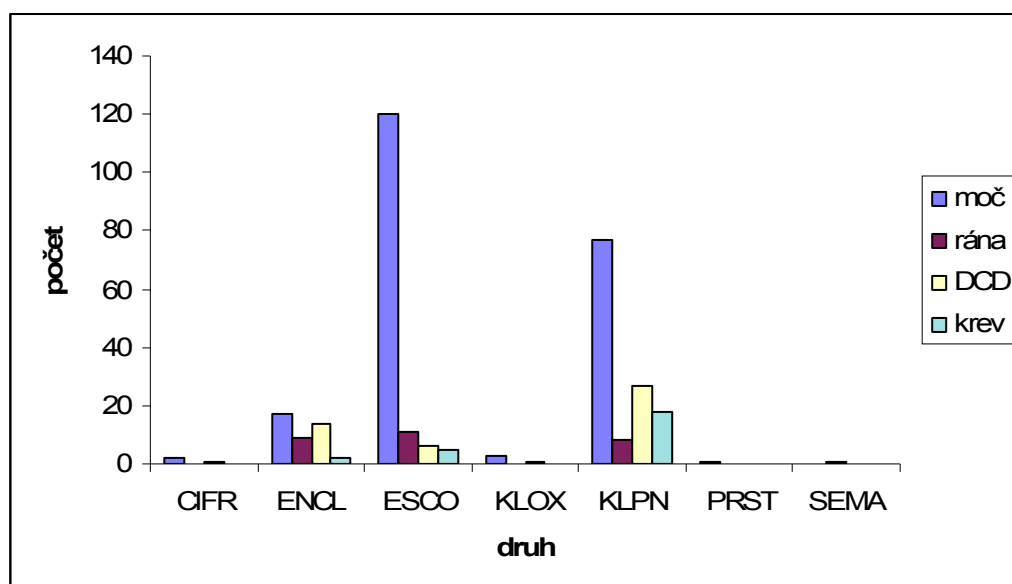
Vlastní zdroj

Graf č. 7: Výskyt ESBL pozitivních enterobakterií podle typu biologických vzorků (vyjádření v %)



Vlastní zdroj

Graf č. 8: Výskyt ESBL pozitivních enterobakterií podle druhu a typu biologických vzorků



Vlastní zdroj

5 Diskuze

5.1 Zhodnocení výsledků pro rok 2012

V rámci surveillance bakterií, které produkují ESBL, v Nemocnici České Budějovice a.s. (dále jen Nemocnice Č. Budějovice) za rok 2012 bylo izolováno celkem 6134 různých kmenů enterobakterií z nichž 321 kmenů produkovalo ESBL. Největší počet ESBL producentů byl zaznamenán u druhu ESCO (140 kmenů), těsně následován druhem KLPN (130 kmenů). Významné hodnoty dosáhl druh ENCL (42 kmenů) a ostatní druhy se vyskytovaly jen v ojedinělých případech. Na rozdíl od minulých let byl zaznamenán nový výskyt ESBL u druhů SEMA a PRST. Důležitým ukazatelem hodnot je poměr ESBL producentů ku celkovému počtu izolátů shodného druhu. I když ESCO dosáhlo nejvyššího celkového počtu kmenů produkujících ESBL, je to druh KLPN, který má největší procentuální výskyt těchto kmenů v rámci svého druhu (11,6 %). Druhé nejvyšší procento zastává druh ENCL, který má oproti KLPN asi třetinový počet ESBL kmenů, ale výskyt ESBL kmenů je u něj 10,5 %. Z toho plyne, že nejčastější infekce byly způsobeny druhem ESCO, ale mnohem nebezpečnější pro výskyt ESBL jsou druhy KLPN a ENCL.

Další část výzkumu byla zaměřena na rozdíl ve výskytu ESBL producentů na standardní ošetrovatelské péči a na intenzivní péči. V intenzivní péči je mnohem více pacientů náchylných ke kolonizaci a infekci ESBL kmeny. Jsou to pacienti s postižením obranných schopností organismu, s těžkým úrazem, polytraumatem a po rozsáhlých operačních výkonech, se zavedenými cizími materiály (močové a cévní katétry, tracheální rourky apod.). Z výsledků vyplývá, že procento výskytu u pacientů z intenzivní péče rozhodně není zanedbatelné. Ve všech případech se sice vyšší výskyt objevuje u standardní péče, ale výsledky jsou ovlivněny rozdílným počtem lůžek v jednotlivých péčích. Alarmující výsledky se opět objevují u druhů

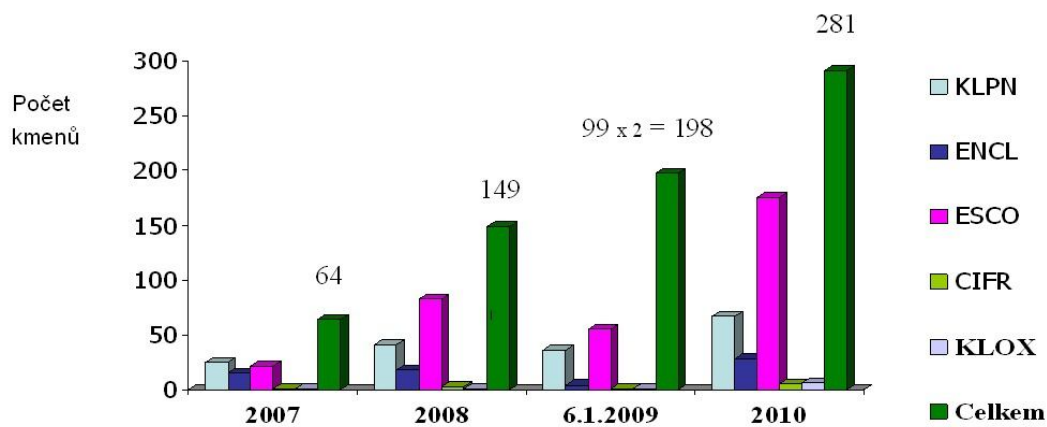
KLPN (27 %) a ENCL (31 %). U ESCO jsou hodnoty nižší (11,5 %) a zbytek kmenů se vyskytoval pouze v ojedinělých případech, které na tento ukazatel nemají velký vliv. Dále bylo v rámci sledování rozdílů ve výskytu ESBL kmenů podle typu péče zhodnoceno, zda se kmeny více vyskytují v interních nebo chirurgických oborech. Ve všech případech byly hodnoty vyšší u interních oborů, ale výsledky jsou opět zatíženy rozdílným počtem lůžek v jednotlivých oborech.

Poslední část výzkumu se zabývala výskytem ESBL kmenů podle druhu biologického materiálu, ze kterého byly izolovány. Výsledky ukazují, že nejvíce ESBL kmenů bylo izolováno ze vzorků moči (68,5 %). Druhé nejčastější byly kmeny izolované ze vzorků dolních cest dýchacích (15,3 %). Nejnižší výskyt byl pozorován u vzorků z rány (9 %) a z krve (7,8 %). Zajímavým ukazatelem je, že kmeny ESCO, které byly izolovány nejčastěji, se téměř výlučně vyskytují u vzorků moče. Kmeny KLPN a ENCL jsou mnohem více zastoupeni i v ostatních materiálech. Navíc KLPN se v nejvíce případech přesunula z původního místa kolonizace až do krevního řečiště, ze kterého byla teprve poté izolována.

5.2 Porovnání výsledků roku 2012 s výsledky z předchozích let

Přehled ESBL pozitivních kmenů z minulých let jsem získala z interních statistických zdrojů s pomocí MUDr. Magdaleny Horníkové. V letech 2007 – 2010 jsou data pouze o celkovém výskytu ESBL pozitivních kmenů s rozdělením podle jednotlivých druhů G- tyček. V roce 2009 jsou data pouze za první polovinu roku z důvodu přechodu na nový laboratorní informační systém. V roce 2011 jsou data již konkrétnější, zaměřená též na typ zdravotnické péče a druh nemocničního oddělení. Rovněž jsou data zaměřená na rozdělení ESBL pozitivních kmenů dle druhu biologického materiálu.

Graf č. 9: Výskyt ESBL pozitivních enterobakterií v období 2007 – 2010



Tabulka č. 11: Přehled izolovaných enterobakterií, včetně ESBL pozitivních kmenů v roce 2011

druh	celkem počet kmenů	ESBL pozitivní kmeny (počet)	ESBL pozitivní kmeny (%)
Citrobacter freundii	113	2	1,77
Enterobacter cloacae	505	20	3,96
Escherichia coli	4186	138	3,30
Klebsiella oxytoca	250	5	2,00
Klebsiella pneumoniae	1089	66	6,06
celkem	6143	231	3,76

Tabulka č. 12: Výskyt ESBL pozitivních enterobakterií podle typu nemocniční péče v roce 2011

druh	standartní		intenzivní	
	počet	%	počet	%
Citrobacter freundii	1	50	1	50
Enterobacter cloacae	13	65	7	35
Escherichia coli	113	82	25	18
Klebsiella oxytoca	3	60	2	40
Klebsiella pneumoniae	42	63,5	24	36,5
celkem	172	74,5	59	25,5

Tabulka č. 13: Výskyt ESBL pozitivní enterobakterií podle typu nemocničního oddělení v roce 2011

druh	standratní		intenzivní	
	interna	chirurgie	interna	chirurgie
Citrobacter freundii	1	0	0	1
Enterobacter cloacae	6	7	2	5
Escherichia coli	106	9	16	7
Klebsiella oxytoca	3	0	2	0
Klebsiella pneumoniae	40	2	18	6
celkem počet	156	18	38	19
celkem %	67,5	7,8	16,5	8,2

Tabulka č. 14: Výskyt ESBL pozitivních enterobakterií podle typu biologických vzorků v roce 2011

Druh	moč	rána	DCD	krev
Citrobacter freundii	0	1	1	0
Enterobacter cloacae	4	12	3	1
Escherichia coli	106	16	10	6
Klebsiella oxytoca	4	0	1	0
Klebsiella pneumoniae	52	3	8	3
celkem počet	166	32	23	10
celkem %	71,8	13,9	9,9	4,4

Pokud se při porovnání výsledků zaměřím na celkový počet ESBL kmenů, které byly izolovány od roku 2007, mají hodnoty vzestupnou tendenci. Zatímco v roce 2007 bylo zjištěno jen 64 kmenů o rok později se počet více než zdvojnásobil. V roce 2010 se hodnoty vyšplhaly na 281 kmenů a ve sledovaném roce 2012 dosáhl počet na 321 kmenů. Výskyt ESBL kmenů se od roku 2007 navýšil asi pětkrát. Poznatky o rostoucím množství ESBL kmenů se shodují se všemi zdroji, které jsem pro tuto práci prostudovala i s údaji publikovaným v rámci celé Evropy. Kromě zvyšující se tendence lze z dlouhodobého hlediska říci, že se výrazně změnilo spektrum výskytu jednotlivých druhů v produkci ESBL. V roce 2007 to byly kmeny KLPN, které dominovaly statistikám, ale postupem času se do popředí dostávaly kmeny ESCO. Hodnoty z roku 2012 ale ukazují, že výskyt ESBL kmenů KLPN je opět téměř srovnatelný s počtem kmenů ESCO.

Při porovnání výsledků s hodnotami dosaženými v roce 2011 se vyskytly rozdíly u jednotlivých druhů. Zatímco v roce 2011 bylo dosaženo 66-ti ESBL

kmenů KLPN, v roce 2012 to byl téměř dvojnásobný počet (130 kmenů). Stejný případ je i u kmenů ENCL, které se z původních 20 vyšplhaly až na 42 ESBL kmenů. Kmen ESCO naproti tomu dosahoval v obou letech téměř shodných výsledků. Také byl nejčastěji izolovanou bakterií a měl i největší počet ESBL producentů (138 kmenů v roce 2011 a 140 kmenů v roce 2012).

Při srovnání výskytu ESBL kmenů mezi standardní a intenzivní péčí se výsledky lišily jen o málo procent. U intenzivní péče byl zaznamenán mírný pokles oproti roku 2011 u třech nejčastěji se vyskytujících druhů, ESCO, KLPN a ENCL. Tento trendu je, podle mého názoru, možné připsat zlepšujícímu přístupu k pacientům kolonizovaným nebo infikovaným kmeny produkujícími ESBL a přísnějším dodržováním bariérového ošetrovatelského postupu.

Výskyt kmenů podle typu biologického vzorku se v letech 2011 a 2012 významně nelišil. V obou souborech byl převažující výskyt ve vzorcích moči. U vzorků z rány se v roce 2012 objevil mírný pokles, z 15 % na 9 %, a naopak vzorky z dolních cest dýchacích zaznamenaly mírný vzestup, z 10 % na 15 %. Mírný vzestup byl zaznamenán také u vzorků z krevního řečiště, jejich nárůst byl ze 4 % na 7,8 %. Tento faktor může poukazovat na zvyšující se nebezpečí průchodu ESBL kmenů až do krevního řečiště.

5.3 Porovnání výsledků s publikací Prevelance ESBL pozitivních enterobakterií ve velkých moravských nemocnicích

Tato studie publikovaná v odborném časopise *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* probíhala v období 1. 1. – 31. 12. 2009. Cílem práce bylo stanovení frekvence výskytu ESBL pozitivních enterobakterií ve třech velkých moravských nemocnicích. Jednalo se o Fakultní nemocnici Olomouc, Fakultní nemocnici Ostrava a Krajskou nemocnici T. Bati ve Zlíně.

Enterobakterie byly izolovány z klinického materiálu tracheální endoskelet, bronchoalveolární laváž, sputum, krev, moč, hnis, punktát a sekret z rány v

průběhu roku 2009. K identifikaci a stanovení antibiogramu byly použity standardní mikrobiologické postupy. Produkce širokospektrých beta-laktamáz typu ESBL byla stanovena pomocí modifikovaného Double Disk Synergy Testu.⁶⁰

Tabulka č. 15: Přehled izolovaných enterobakterií, včetně kmenů s produkcí ESBL⁶⁰

Druh	Fakultní nemocnice Olomouc			Fakultní nemocnice Ostrava			Krajská nemocnice T. Bati Zlín		
	Celkový počet kmenů	ESBL-pozitivní kmeny (počet)	ESBL-pozitivní kmeny (%)	Celkový počet kmenů	ESBL-pozitivní kmeny (počet)	ESBL-pozitivní kmeny (%)	Celkový počet kmenů	ESBL-pozitivní kmeny (počet)	ESBL-pozitivní kmeny (%)
<i>Citrobacter</i> sp.	121	1	0,8	49	0	0,0	8	0	0,0
<i>Enterobacter</i> sp.	378	21	5,5	896	0	0,0	99	2	2,0
<i>Escherichia coli</i>	1 399	116	8,3	2 454	61	2,5	1 608	51	3,2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	325	37	11,4	229	3	1,3	27	2	7,4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 161	285	24,5	1 336	232	17,4	621	61	9,8
<i>Morganella morganii</i>	118	5	4,2	221	0	0,0	74	3	4,1
<i>Proteus mirabilis</i>	344	3	0,9	554	0	0,0	247	0	0,0
<i>Proteus vulgaris</i>	72	1	1,4	129	0	0,0	1	0	0,0
<i>Providencia rettgeri</i>	57	6	10,5	1	0	0,0	11	0	0,0
<i>Salmonella</i> sp.	13	0	0,0	5	0	0,0	6	0	0,0
<i>Serratia</i> sp.	171	17	9,9	144	0	0,0	43	0	0,0
celkem	4 159	492	11,8	6 018	296	4,9	2 745	119	4,3

⁶⁰ Prevalence ESBL-pozitivních enterobakterií ve velkých moravských nemocnicích. Klinická mikrobiologie a infekční lékařství: Interdisciplinární časopis pro klinickou a laboratorní medicínu, vydávaný pod záštitou Společnosti infekčního lékařství, Společnosti pro lékařskou mikrobiologii a Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně. Praha: Trios, 2010, roč. 16, č. 5, s. 152-157. ISSN 1211-264x.

Tabulka č. 16: Výskyt ESBL-pozitivních enterobakterií ve sledovaných nemocnicích podle typu nemocniční péče (porovnání celkového počtu ESBL-pozitivních izolátů na standardních lůžkových odděleních na odděleních intenzivní péče)⁶⁰

Druh	Fakultní nemocnice Olomouc				Fakultní nemocnice Ostrava				Krajská nemocnice T. Bati Zlín			
	Standardní péče		Intenzivní péče		Standardní péče		Intenzivní péče		Standardní péče		Intenzivní péče	
	celkem (počet)	celkem (%)	celkem (počet)	celkem (%)	celkem (počet)	celkem (%)	celkem (počet)	celkem (%)	celkem (počet)	celkem (%)	celkem (počet)	celkem (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	132	46,3	153	53,7	109	47,0	123	53,0	29	47,5	32	52,5
<i>Escherichia coli</i>	84	72,4	32	27,6	32	52,5	29	47,5	40	78,4	11	21,6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	11	29,7	26	70,3	0	0,0	3	100,0	1	50,0	1	50,0
ostatní	15	27,8	39	72,2	0	0,0	0	0,0	3	60,0	2	40,0
celkem	242	49,2	250	50,8	141	47,6	155	52,4	73	61,3	46	38,7

Tabulka č. 17: Výskyt ESBL-pozitivních enterobakterií ve sledovaných nemocnicích podle typu oddělení (porovnání počtu ESBL-pozitivních kmenů na interních a chirurgických odděleních)⁶⁰

Druh	Fakultní nemocnice Olomouc				Fakultní nemocnice Ostrava				Krajská nemocnice T. Bati Zlín			
	Standardní péče		Intenzivní péče		Standardní péče		Intenzivní péče		Standardní péče		Intenzivní péče	
	Interna	Chir.	Interna	Chir.	Interna	Chir.	Interna	Chir.	Interna	Chir.	Interna	Chir.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	96	36	98	55	66	43	70	53	19	10	21	11
<i>Escherichia coli</i>	63	21	24	8	18	14	20	9	25	15	3	8
<i>Klebsiella oxytoca</i>	7	4	22	4	0	0	0	3	1	0	1	0
ostatní	8	7	14	25	0	0	0	0	2	1	0	2
celkem (počet)	174	68	158	92	84	57	90	65	47	26	25	21
celkem (%)	35,4	13,8	32,1	18,7	28,4	19,3	30,4	21,9	39,5	21,9	21,0	17,6

Legenda: Interna – interní oddělení; Chir. – chirurgická oddělení

⁶⁰ Prevalence ESBL-pozitivních enterobakterií ve velkých moravských nemocnicích. Klinická mikrobiologie a infekční lékařství: Interdisciplinární časopis pro klinickou a laboratorní medicínu, vydávaný pod záštitou Společnosti infekčního lékařství, Společnosti pro lékařskou mikrobiologii a Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně. Praha: Trios, 2010, roč. 16, č. 5, s. 152-157. ISSN 1211-264x.

Tabulka č. 18: Výskyt ESBL-pozitivních enterobakterií ve sledovaných nemocnicích podle klinických materiálů⁶⁰

Druh	Fakultní nemocnice Olomouc					Fakultní nemocnice Ostrava					Krajská nemocnice T. Bati Zlín				
	Moč	Stěr	DCD	Hem.	Ostatní	Moč	Stěr	DCD	Hem.	Ostatní	Moč	Stěr	DCD	Hem.	Ostatní
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	102	27	41	17	,98	61	21	49	21	80	26	5	12	7	11
<i>Escherichia coli</i>	56	16	9	2	33	30	5	6	6	14	34	3	3	4	7
<i>Klebsiella oxytoca</i>	9	3	8	1	16	0	0	2	0	1	1	0	0	0	1
ostatní	17	10	11	0	16	0	0	0	0	0	2	0	0	0	3
celkem (počet)	184	56	69	20	163	91	26	57	27	95	63	8	15	11	22
celkem (%)	37,4	11,4	14,0	4,1	33,1	30,7	8,8	19,3	9,1	32,1	52,9	6,8	2,6	9,2	18,5

Legenda: Stěr – hnis, punktát, sekret z rány; DCD – materiál z dolních cest dýchacích (tracheální endosekret, bronchoalveolární laváž, sputum); Hem. – hemokultura

V celkovém přehledu všech producentů ESBL jsou hodnoty nemocnice České Budějovice (5,23 %) srovnatelné s hodnotami v Ostravě (4,9 %) a ve Zlíně (4,3 %). Počet kmenů v nemocnici v Olomouci je oproti Č. Budějovicím asi dvakrát vyšší (11,8 %). České Budějovice se v tomto porovnání řadí spíše k nemocnicím s nižším výskytem ESBL producentů. Hlavním rozdílem při porovnání s nemocnicemi v Olomouci, Ostravě a Zlíně je, že v jejich nemocnicích jasně převládá počet ESBL kmenů u druhu KLPN. A to i přesto, že největšího počtu všech izolovaných enterobakterií dosáhl druh ESCO, stejně jako v Č. Budějovicích. Studie moravských nemocnic se uskutečnila v roce 2009, kdy v Č. Budějovicích jasně dominovaly ESBL kmeny ESCO. V poslední době se ale počet obou druhů v Č. Budějovicích vyrovnává. Je důležité si povšimnout, že v nemocnici Olomouc byl zaznamenán zvýšený počet ESBL kmenů druhu KLOX, tento jev se v jiné nemocnici neobjevil.

Nejlépe Nemocnice Č. Budějovice dopadla při hodnocení výskytu ESBL kmenů podle typu nemocniční péče. V prostředí s nejrizikovějšími pacienty na JIP

⁶⁰ Prevalence ESBL-pozitivních enterobakterií ve velkých moravských nemocnicích. Klinická mikrobiologie a infekční lékařství: Interdisciplinární časopis pro klinickou a laboratorní medicínu, vydávaný pod záštitou Společnosti infekčního lékařství, Společnosti pro lékařskou mikrobiologii a Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně. Praha: Trios, 2010, roč. 16, č. 5, s. 152-157. ISSN 1211-264x.

a ARO byl výskyt ESBL kmenů 20 %. Na rozdíl od toho nemocnice ve Zlíně dosáhla hodnoty 38,7 % a nemocnice v Olomouci a v Ostravě dosáhli alarmujících hodnot kolem 50 % všech výskytů ESBL kmenů právě na těchto rizikových odděleních.

Srovnání podle druhu biologických vzorků se v jednotlivých nemocnicích výrazně neliší. Ve všech jasně převládá výskyt ve vzorcích moči. V nemocnici Č. Budějovice je tato převaha (68 %) mnohem výraznější než u ostatních nemocnic (Zlín – 52,9 %, Ostrava – 30,7 %, Olomouc – 37,4 %). Ve vzorcích z dolních cest dýchacích, rány a krevního řečiště se všichni téměř shodují. Mírného rozdílu dosahuje nemocnice Zlín, která má nižší výskyt ve vzorcích dolních cest dýchacích a rány, ale naopak vyšší u vzorků z krevního řečiště.

Z celkového hlediska nemocnice Č. Budějovice nevykazuje zvýšený počet ESBL producentů oproti ostatním nemocnicím a dosahuje nejlepších výsledků u rizikových pacientů na intenzivní péči. Tyto pozitivní výsledky podle mého názoru vyplývají z dobré politiky nemocnice Č. Budějovice, z jejího antibiotického programu, surveillance podezřelých kmenů a dobrého přístupu ošetřujícího personálu při kontaktu s pacientem.

5.4 Nebezpečí šíření ESBL pozitivní kmenů

Z výsledků mé práce je patrné, že i když si Nemocnice vedla lépe než ostatní porovnávané nemocnice, procento výskytu ESBL kmenů stále stoupá. Zatímco v roce 2011 bylo 3,76 % kmenů producenty ESBL v roce 2012 to bylo již 5,23 %. Nebezpečí spojená s nárůstem kmenů rezistentních k cefalosporinovým antibiotikům jsou velmi závažná pro budoucí léčbu těchto infekcí. Nákaza je v současné době pravděpodobná hlavně u rizikových pacientů s pobytem v nemocničním zařízení. V posledních letech jsou stále více zachycovány případy nákazy mimo tato pracoviště, kdy bakterie infikují i pacienty v komunitě. Tito pacienti mohou být i nosiči ESBL pozitivních kmenů bakterií a tyto bakterie

v některých případech šířit dále. Zatímco v nemocničních prostředích máme účinná opatření pro pozastavení šíření nákazy (bariérový přístup, izolace pacienta), v komunitním prostředí jsou tato opatření nemožná. Pro zabránění šíření je potřeba informovanost a uvědomělost všech občanů.

Šíření ESBL kmenů velice prospívá neinformovanost a nezodpovědnost pacientů, kteří lehkomyšlně užívají antibiotika zkrácenou dobu nebo si je ponechají „na příště“. Takovýto přístup oslabí citlivé kmeny a dá prostor pro množení a šíření kmenů rezistentních. Výsledkem bývá většinou návrat infekce s horším průběhem nebo vypuknutí infekce s odstupem doby při oslabení organismu.

Při závažném rozšíření ESBL producentů by nastal velmi vážný problém při léčbách i jednoduchých infekčních onemocnění. Při kolonizaci a následné infekci rány způsobené při běžném životě (pořezání, odřenina, malá popálenina), která se v současné době řeší ambulantním ošetřením a podáním antibiotik v podobě tablet, by bylo nutné ošetření a následná péče v lůžkovém zařízení. Antibiotika citlivá pro takto rezistentní bakterie jsou podávána pouze injekčně a často je nutné sledování hladiny antibiotika v krevním řečišti.

Jak již bylo zmíněno v subkapitole 1.13, v současné době se na scénu dostávají nové typy antibiotické rezistence, které jsou rezistentní ke všem známým antibiotikům. Léčba těchto infekcí je tak plně závislá pouze na dezinfekci rány a stavu imunitního systému člověka.

5.5 Nebezpečí při nehodách a závažných haváriích

Rozšíření ESBL producentů v komunitě bude mít také velmi závažný dopad pro řešení závažných a hromadných havárií. Při těchto mimořádných událostech je na prvním místě integrovaného záchranného systému záchrana života. Pro tento úkol je nutné postarat se o velké množství postižených lidí s různým stupněm a charakterem poranění. Při těchto pracích se dbá hlavně o udržení základních

funkcí lidských orgánů a péče o tržné rány, otevřené zlomeniny nebo závažné popáleniny. Hledisko sterility je v těchto chvílích druhořadé. Ke kontaminaci může docházet hlavně pomocí kontaminovaných rukou záchránců nebo zdravotnického materiálu.

Při kontaminaci rezistentním ESBL kmenem, který se usídí v otevřené ráně může okamžitě docházet k rozsevu krevním řečištěm do dalších částí těla. Při rozsáhlém postižení, ke kterému dochází při závažných haváriích není tělo samo schopné tyto kontaminace účinně eliminovat. Po zachycení rezistentní bakterie ve vnitřním prostředí dochází k jejímu pomnožení a poté začne vznikat infekce. Tato infekce tělo nadále oslabuje a zabraňuje mu tak v rychlém a efektivním hojení. Čím delší dobu má bakterie pro své nerušené množení, tím účinněji zasáhne tělo postiženého. Třídění postižených v místě havárie se řídí podle traumatologického plánu a podle metody START (snadné třídění a rychlá terapie). Postižení jsou tříděni podle závažnosti svého poranění a nejprve jsou ošetřováni a přesouváni lidé, kteří jsou pro své zranění bezprostředně ohroženi na životě. Postižení se středně těžkým a lehkým poraněním, které většinou zahrnuje řezné a tržné rány, popáleniny nebo jiná otevřená poranění jsou odsouváni do nemocničních zařízení až v dalších vlnách.

Při příjmu v nemocničních zařízeních jsou pacienti s podezřením na kontaminaci otevřené rány ošetřeni a jsou jim podána profylaktická antibiotika. Tato antibiotika mají širokospektré účinky, aby pokryla co největší škálu bakterií. Rezistentní bakterie mohou být ale k těmto antibiotikům rezistentní a profylaktická léčba je neúčinná. Rezistentní bakterie se v těle pacienta nadále šíří a množí, což ale v prvních dnech hospitalizace není na klinickém stavu patrné. Až po dostatečném pomnožení se klinický stav zhoršuje a ošetřující lékař hledá příčinu. Po odhalení vzniklé infekce a nalezení jejího ložiska se opět nasazují širokospektrá antibiotika. Pro stanovení původce infekce je nutné provést mikrobiologické vyšetření a stanovit antibiogram. Toto vyšetření trvá běžně 48 hodin. Pokud nasazená širokospektrá antibiotika budou k rezistentnímu kmenu

necitlivá, stav pacienta se bude nadále horšit a může dojít až k septickému stavu a smrti.

6 Závěr

Přestože jsme v posledních letech svědky výrazného medicínského pokroku, zůstávají infekce rezistentními kmeny bakterií stále velkým problémem současné medicíny. Komplexní poznání a uvědomění si patofyziologie jejich vzniku, šíření a možností prevence se zdá být cestou ke snížení jejich výskytu. Tento proces však vyžaduje širokou multidisciplinární spolupráci, počínaje surveillancí, přes důsledné uplatňování preventivních opatření až po přísnou antibiotickou politiku.

Prvním cílem této práce bylo zjistit, zda se výskyt producentů ESBL v Nemocnici České Budějovice v čase zvyšuje. Podle statistických dat, které mi byly pro tuto práci poskytnuty a podle mých výsledků za rok 2012 vyplývá, že výskyt ESBL producentů stále roste. Významným podílem přispívají oddělení s intenzivní péčí, které se starají o nejrizikovější pacienty například ohroženými polytraumaty apod. Nebezpečí vzrůstajícího výskytu se promítá i do komunitních kmenů, které ohrožují obyvatelstvo.

Druhým cílem práce bylo porovnat situaci v Českých Budějovicích se shodnými daty ve Fakultní nemocnici Olomouc, Fakultní nemocnici Ostrava a Krajskou nemocnici T. Bati ve Zlíně. Tato data byla shromážděna za rok 2009 a publikována v odborném časopise *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. Z výsledků vyplývá, že České Budějovice měli ze všech nemocnic nejmenší množství ESBL producentů a to i přes to, že porovnávané výsledky z Českých Budějovicích byly za rok 2012.

Nemocnice České Budějovice se nachází pod celorepublikovým průměrem, což vychází z jejího propracovaného systému péče o pacienty s kolonizací nebo infekcí ESBL kmeny a ze systému kontroly antibiotické terapie pomocí antibiotického střediska. Tyto výsledky mohou sloužit Nemocnici České Budějovice ke statistickým účelům a také k návrhům na zlepšování péče o pacienty.

Nelze opomenout ani šíření kmenů v komunitě, protože tyto kmeny bezprostředně ohrožují obyvatelstvo, které nemusí být ohroženo dlouhodobým pobytem v lůžkovém zařízení. Mohou být kolonizováni při poraněních doma, při nehodách nebo závažných haváriích, kde se riziko mnohonásobně zvyšuje v důsledku velkého počtu závažně poraněných osob.

7 Seznam informačních zdrojů

- 1 Státní zdravotní ústav [online]. 2012 [cit. 2013-01-15]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/EAAD_2012/Tiskova_zprava_SZU_EAAD_2012.pdf
- 2 Antibiotická rezistence bakterií – hrozba selhání léčby infekcí neustále sílí. In: Medical Tribune CZ [online]. 2012 [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/25673-antibioticka-rezistence-bakterii-hrozba-selhani-lecby-infekci-neustale-sili>
- 3 Reg. č. o/000/221. DOPORUČENÉ POSTUPY PRO PRAKTICKÉ LÉKAŘE: Zásady léčby antibiotiky I. Česká republika, 2002. Dostupné z: www.cls.cz/dokumenty2/postupy/t221.rtf
- 4 MAREK, Josef. Farmakoterapie vnitřních nemocí. 4., zcela přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2010, xxiv, 777 s. ISBN 978-802-4726-397.
- 5 BEDNÁŘ, Marek. Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.
- 6 Úvod do farmaceutické mikrobiologie. In: DEMNEROVÁ, Kateřina a Igor HOCHER. Vysoká škola chemicko-technologická [online]. [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://biomikro.vscht.cz/vyuka/fm/Farmaka3.pdf>
- 7 CHMELÁŘOVÁ, Eva. Kolistin v dětském věku. In: Antibiotická politika [online]. 2012 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: http://www.bpp.cz/atb_centra/
- 8 DocCheck Pictures. DocCheck [online]. 2012 [cit. 2013-04-29]. Dostupné z: <http://pictures.doccheck.com/en/photos/12494/7151/>
- 9 ČERMÁK, Pavel. Klinická mikrobiologie - biofilm. In: Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky [online]. [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: http://ukb.lf1.cuni.cz/ppt/cermak/klinicka_mikrobiologie-biofilm.pdf
- 10 FINCH, R a Lawrence Paul GARROD. Antibiotic and chemotherapy: anti-infective agents and their use in therapy. 8th ed., 2003. Reprinted 2003. New York: Churchill Livingstone, 2003, xii, 964 p. ISBN 04-430-7129-2.
- 11 VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie obecná. Brno: Neptun, 2001, 247 s. ISBN 80-902-8962-2.

- 12 KOVAŘÍK, Zdeněk. Přehled antibakteriálních léčiv užívaných v ambulantní terénní i klinické praxi. Lékařské listy. 2005, č. 10. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/prehled-antibakterialnich-leciv-uzivanych-v-ambulantni-terenni-i-165572>
- 13 PŘÍBORSKÝ, Jan. Cefalosporiny: farmakologie a klinická farmakologie. 1. vyd. Praha: MAXDORF-JESSENIUS, c1999, 107 s. ISBN 80-858-0030-6.
- 14 LINCOVÁ, Dagmar a Hassan FARGHALI. Základní a aplikovaná farmakologie. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, 2007, xxiv, 672 s. ISBN 978-807-2623-730.
- 15 Karbapenemy: přehled a porovnání základních údajů. Remedia. 2008, č. 3. ISSN 0862-8947. Dostupné z: <http://www.remedia.cz/Archiv-rocniku/Rocnik-2008/3-2008/Karbapenemy-prehled-a-porovnanizakladnich-udaju/e-9q-a3-jy.magarticle.aspx>
- 16 Nozokomiálne koinfekcie u septických pacientov. Nozokomiální nákazy. 2012, roč. 11, č. 2. ISSN 1336-3859. Dostupné z: http://www.mediconsulting.cz/index.php?option=com_content&view=article&id=88&Itemid=28
- 17 BENEŠ, Jiří. Infekční lékařství. 1. vyd. Praha: Galén, c2009, xxv, 651 s. ISBN 978-807-2626-441.
- 18 PODSTATOVÁ, Renata a Rastislav MAĎAR. Protiepidemiologická opatření při výskytu gramnegativních tyčinek v nemocničním prostředí. Banská Bystrica: DUMAS, 2005. ISBN 80-968999-5-3.
- 19 Klinicky významné β -laktamázy gramnegativních bakterií: širokospektré β -laktamázy (ESBL). Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie. 2007, č. 3, s. 103-111. DOI: Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie. Dostupné z: http://www.prolekare.cz/epidemiologie-clanek/klinicky-vyznamne--laktamazy-gramnegativnich-bakterii-sirokospektre--laktamazy-esbl-3597?confirm_rules=1
- 20 Multirezistentní *Acinetobacter baumannii* nesoucí geny pro karbapenemázy NDM-1 a OXA-23 importovaný do České republiky. Zprávy epidemiologie a mikrobiologie. 2012, roč. 21, č. 11. ISSN 1803-6422. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/20_2011/08_srpen/295_298.pdf

- 21 ŠRÁMOVÁ, Helena. Prevalenční studie nozokomiálních infekcí v ČR na odděleních ARO a JIP s invazivní umělou plicní ventilací v roce 2009. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie*. 2009, roč. 18, č. 12. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/18_2009/12_prosinec/365_NI.pdf
- 22 VYHLÁŠKA: kterou se upravují podmínky předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a hygienické požadavky na provoz zdravotnických zařízení a ústavů
- 23 ZÁKON: o odpadech a o změně některých dalších zákonů. In: <http://portal.gov.cz/app/zakony/zakonPar.jsp?idBiblio=51365&nr=185~2F2001&rpp=15#local-content>. 2001.
- 24 Pacient s diagnózou polytrauma na traumatologické JIP. *Sestra*. 2006, č. 11. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/sestra/pacient-s-diagnozou-polytrauma-na-traumatologicke-jip-278904>
- 25 Infekční komplikace operační léčby zlomenin pánve. *Acta chirurgiae orthopaedicae et traumatologiae czechoslovaca*. 2008, roč. 75, č. 4, s. 293-296. DOI: 0001-5415. Dostupné z: <http://www.achot.cz/detail.php?stat=198>
- 26 Léčba a situace v ČR. In: Státní ústav pro kontrolu léčiv [online]. 2011 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/hodnoceni-vyvoje-distribuce-vybrane-skupiny-lecivych-3>
- 27 Národní antibiotický program v České republice. *Medical tribune*. Praha: Medical Tribune CZ, 2010, č. 4. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/16873-narodni-antibioticky-program-v-ceske-republice>
- 28 Ustanovení Národního antibiotického programu v České republice. *Zprávy Epidemiologie a Mikrobiologie Státní Zdravotní Ústav = Bulletin of epidemiology and microbiology*. 2011, roč. 20, č. 8. ISSN 1804-8676.
- 29 Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013. Akční plán Národního antibiotického programu pro období 2011-2013. In: Státní zdravotní ústav [online]. 2011 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/akcni-plan-nap>
- 30 Council recommendation 2002/77/EC: on the prudent use of antimicrobial agents in human medicine. In: *Official Journal of the European Communities*. Brussels, 2001. Dostupné z: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF\(2002/77/EC\)](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:034:0013:0016:EN:PDF(2002/77/EC))

- 31 Infekce v ČR - EPIDAT. Státní zdravotní ústav [online]. [cit. 2013-04-07].
Dostupné z: <http://www.szu.cz/publikace/data/infekce-v-cr>
- 32 Rozhodnutí evropského parlamentu a rady č. 2119/98/ES: O zřízení sítě epidemiologického dozoru a kontroly přenosných nemocí ve Společenství.
In: <http://eur-lex.europa.eu>. Brusel, 1998.
- 33 Rozhodnutí Komise 2008/426/ES: kterým se mění rozhodnutí 2002/253/ES, kterým se stanoví definice případů pro hlášení přenosných nem. In:
<http://eur-lex.europa.eu>. Brusel, 2008. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32008D0426:CS:NOT>
- 34 Rozhodnutí Komise 2002/253/ES: kterou se stanoví definice případů pro hlášení přenosných nemocí do sítě Společenství podle rozhodnutí Evropského parlamentu a Rady č. 2119/98/ES. In: <http://eur-lex.europa.eu>. Brusel, 2002.
- 35 Rozhodnutí Komise 2003/542/ES: kterým se mění rozhodnutí 2000/96/ES, pokud jde o fungování specializovaných sítí epidemiologického dozoru. In: <http://eur-lex.europa.eu>. Brusel, 2003.
- 36 JINDRÁK, Vlastimil, Dana HEDLOVÁ a Jana PRATTINGEROVÁ.
Současný koncept prevence a kontroly infekcí spojených se zdravotnickou péčí. Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie. 2012, roč. 21, č. 4. ISSN 1804-8668.
- 37 Mission. European Centre for Disease Prevention and Control [online]. [cit. 2013-04-09]. Dostupné z:
<http://www.ecdc.europa.eu/en/aboutus/Mission/Pages/Mission.aspx>
- 38 Evropské centrum pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC) koordinuje spolupráci členských zemí Evropské unie s cílem zajistit připravenost na ochranu proti infekčním onemocněním. Zdravotnické noviny. 2009, č. 12. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/spoluprace-pri-kontrola-infekcnich-onemocneni-429727>
- 39 The European Surveillance System. European Centre for Disease Prevention and Control [online]. [cit. 2013-04-09]. Dostupné z:
<http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/tessy/pages/tessy.aspx>
- 40 Metodika sběru dat. Státní zdravotní ústav [online]. [cit. 2013-04-09]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/ears-net-4/metodika-sberu-dat>

- 41 O EARS-Net v České republice. Státní zdravotní ústav [online]. [cit. 2013-04-09]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/ears-net-4/o-earss-v-ceske-republice>
- 42 TESSY reports. European Centre for Disease Prevention and Control [online]. 2005-2013, 2013 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/database/Pages/maps_report.aspx
- 43 Dohled nad antimikrobiální situací v Evropě 2011: Shrnutí. In: Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí [online]. Stockholm, 2012 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: <http://ecdc.europa.eu/cs/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2011.pdf>
- 44 HRABÁK, Jaroslav a Helena ŽEMLIČKOVÁ. Výskyt multirezistentních gramnegativních bakterií v českých nemocnicích: upozornění na problém šíření bakterií produkujících transferibilní karbapenemázy. In: Státní zdravotní ústav [online]. 2011 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/doporucene_postupy/surveillance_g/aktivni_surveillance_multirezistentnich_gramnegativnich_bakterii.pdf
- 45 GARCIA, Lynne Shore a Henry D ISENBERG. Clinical microbiology procedures handbook. 3rd ed. /. Washington, DC: ASM Press, c2010, 3 v. ISBN 15-558-1527-8.
- 46 BacT/ALERT 3D. Biomerieux [online]. 1996-2013 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: http://www.biomerieux-diagnostics.com/servlet/srt/bio/clinical-diagnostics/dynPage?node=Blood_Cultures
- 47 VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie: vyšetřovací metody. Brno: Neptun, 2010, 495 s. ISBN 978-808-6850-047.
- 48 URO-QUICK Screening kit. Italy, 2010. Dostupné z: http://lm.biovendor.cz/?action=pricelist&_c_prod_id...set
- 49 UriSelect™ 4 Medium: Direct Identification Visibly Reliable. BIO-RAD [online]. 2012 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/cdg/literature/16364_B UriSelect4.pdf
- 50 VITEK® MS. Biomerieux [online]. 1996-2013 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: http://www.biomerieux-diagnostics.com/servlet/srt/bio/clinical-diagnostics/dynPage?open=CNL_CLN_PRD&doc=CNL_CLN_PRD_G_PRD_CLN_72&pubparams.sform=1&lang=en

- 51 Test kyseliny glutamové. ITEST PLUS s.r.o. Hradec Králové [online]. [cit. 2013-04-14]. Dostupné z: <http://www.itest-plus.cz/diagnosticke-pripravky-cz/pomocne-diagnosticke-testy-cz/test-kyseliny-glutamove-cz>
- 52 ITEST indol. ITEST PLUS s.r.o. Hradec Králové [online]. [cit. 2013-04-14]. Dostupné z: <http://www.itest-plus.cz/diagnosticke-pripravky-cz/diagnosticke-disky-cz/itest-indol-cz>
- 53 Jaké breakpointy používat pro interpretaci výsledků vyšetření citlivosti bakterií k antibiotikům. Zprávy epidemiologie a mikrobiologie. 2010, roč. 19, č. 9, s. 266-267. ISSN 1803-6422.
- 54 VITEK® 2. Biomerieux [online]. 1996-2013 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: http://www.biomerieux-front1.heb.fr.colt.net/servlet/srt/bio/usa/dynPage?doc=USA_PRD_LST_G_PRD_USA_4
- 55 ChromID® ESBL. Biomerieux [online]. 1996-2013 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: http://www.biomerieux-diagnostics.com/servlet/srt/bio/clinical-diagnostics/dynPage?open=CNL_CLN_PRD&doc=CNL_PRD_CPL_G_PRD_CLN_21&pubparams.sform=7&lang=en
- 56 Detekce širokospektrých beta-laktamáz (ESBL), beta-laktamáz AmpC, metalo-beta-laktamáz (MBL) a karbapenemáz KPC u gramnegativních tyčiek. Zprávy centra mikrobiologie a epidemiologie. 2009, roč. 18, č. 3, s. 100-106. ISSN 1804-8668.
- 57 Selection of Abstracts. In: Biomerieux [online]. Helsinky, 2009 [cit. 2013-04-14]. Dostupné z: http://www.biomerieux-diagnostics.com/upload/ECCMID_abstracts.pdf
- 58 BUSH, K., G. A. JACOBY a A. A. MEDEIROS. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1995-06-01, roč. 39, č. 6, s. 1211-1233. ISSN 0066-4804. DOI: 10.1128/AAC.39.6.1211. Dostupné z: <http://aac.asm.org/cgi/doi/10.1128/AAC.39.6.1211>
- 59 Průkaz β-laktamáz širokého spektra (ESBL) a typu AmpC u enterobakterií. Zprávy centra mikrobiologie a epidemiologie. 2007, roč. 16, č. 1, s. 31-36. ISSN 1804-8668.

60 Prevalence ESBL-pozitivních enterobakterií ve velkých moravských nemocnicích. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství: Interdisciplinární časopis pro klinickou a laboratorní medicínu*, vydávaný pod záštitou Společnosti infekčního lékařství, Společnosti pro lékařskou mikrobiologii a Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně. Praha: Trios, 2010, roč. 16, č. 5, s. 152-157. ISSN 1211-264x.

8 Přílohy

Příloha č. 1: Třídění antibiotik⁵

β-Laktamy	Peniciliny	<i>Přirozené peniciliny</i>	penicilin V		
		<i>Peniciliny rezist. k β-laktamázám</i>	oxacilin	penicilin G	fluoxacilin
		<i>Aminopeniciliny</i>	ampicilin	amoxicilin	dicloxacilin
		<i>Peniciliny protipseudomonádové</i>	ticarcilin	amoxicilin/klavulamáť	ampicilin/sulbactam
	Cefalosporiny	<i>Cefalosporiny 1.generace</i>	cefalotin	ticarcilin/sulbactam	mezlocilin
		<i>Cefalosporiny 2.generace</i>	cefuroxim	cefazolin	cefalexin
		<i>Cefalosporiny 3.generace</i>	ceftriaxon	cefuroxim axetil	cefamandol
		<i>Cefalosporiny 4.generace</i>	cefepim	cefotaxim	cefoperazon
	Karbapenemy		imipenem	cefpirom	cefazidim
	Monobactamy		aztreonam	meropenem	moxalactam
	Aminoglykosidy		streptomycin	kanamycin	gentamicin
	Tetracykliny		tetracyklin	doxycyklin	gentamicin tobramycin
	Makrolidy		erythromycin	roxitromycin	minocyklin
	Linkosamidy		linkosycin	clindamycin	azitromycin
	Glykopeptidy		vancunycin	tetraplanin	josamycin
	Chinolony		ciprofloxacilin	norfloxacilin	ofloxacilin
	Antimykotika		amphotericin B	ketoconazol	ofloxacilin pefloxacilin
			chloramfenikol		fluconazol
			spectinomycin		clotrimazol
			rifampin		flucylozin
			colistin		miconazol
			fusidová kyselina		
	Sulfonamidy		sulfametoxazol	sulfonamid/trimetoprim	

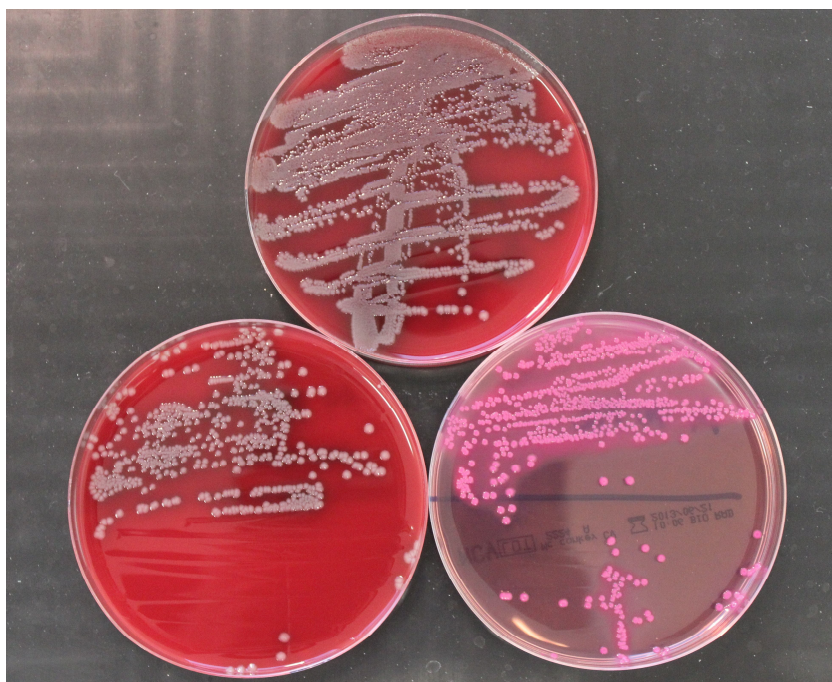
⁵ BEDNÁŘ, Marek. Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.

Příloha č. 2: Přístroj HB&L UROQUATTRO



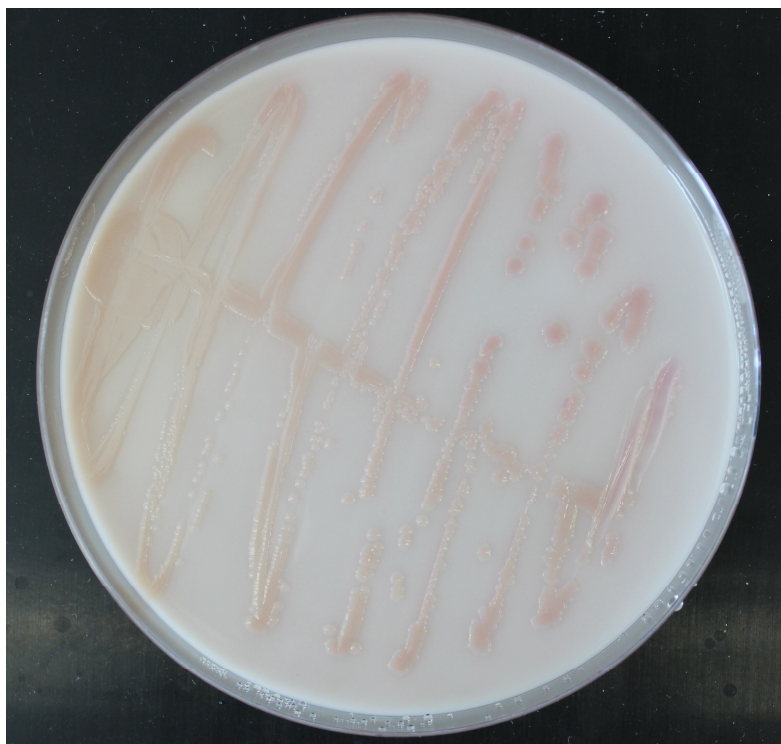
Vlastní zdroj

Příloha č. 3: Kultivace moči kvantitativní metodou, nárůst ESCO



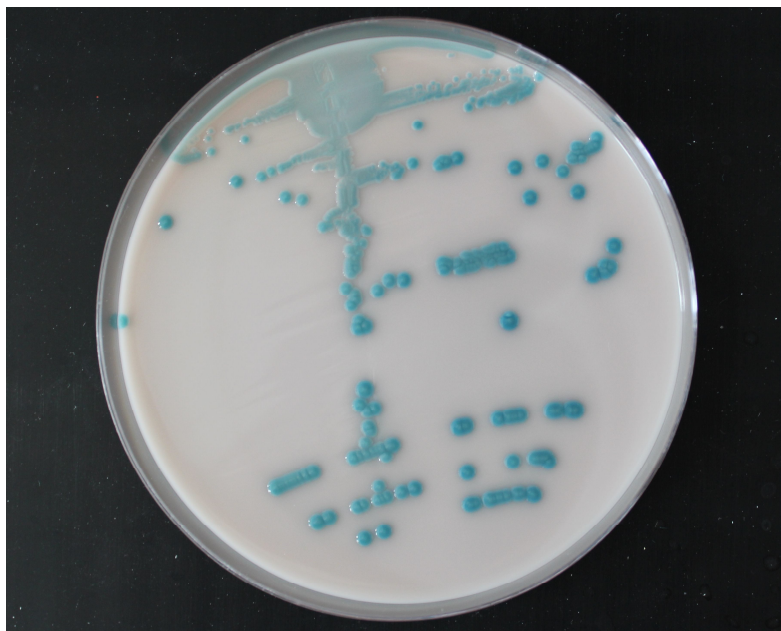
Vlastní zdroj

Příloha č. 4: Nárůst ESCO na diagnostické půdě UriSelect 4



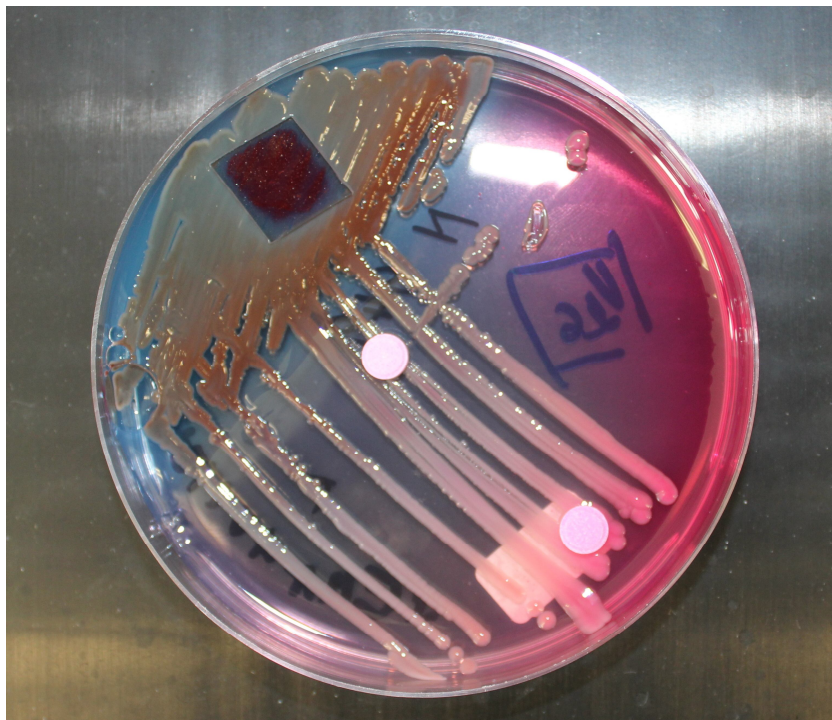
Vlastní zdroj

Příloha č. 5: Nárůst KLPN na diagnostické půdě UriSelect 4



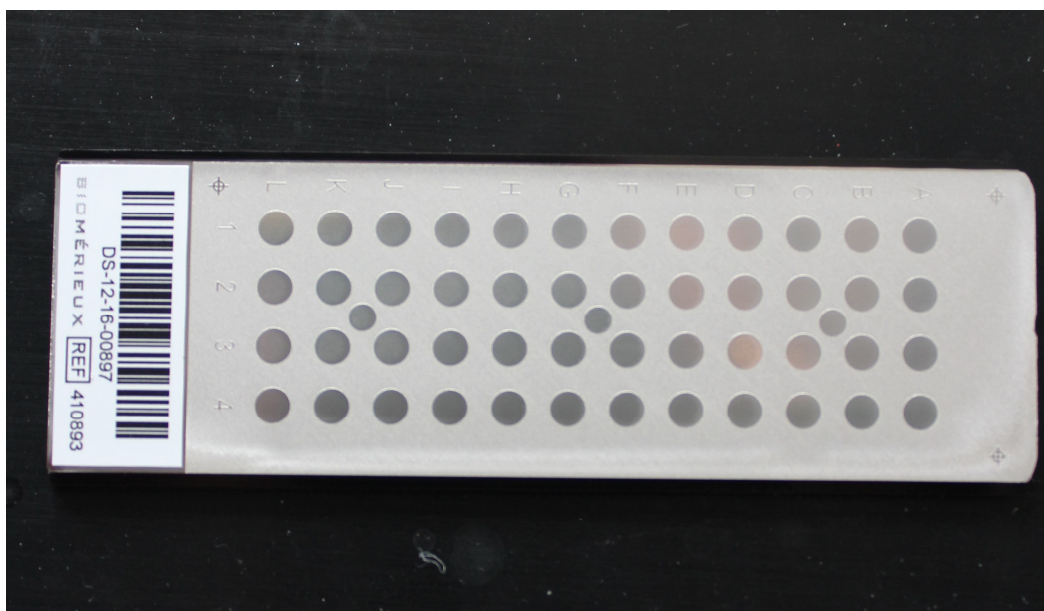
Vlastní zdroj

Příloha č. 6: Nárůst SEMA na diagnostické Švejcarově plotně



Vlastní zdroj

Příloha č. 7: Destička pro aplikaci bakteriálních kolonií pro přístroj VITEK MS



Vlastní zdroj

Příloha č. 8: Příklad VITEK 2



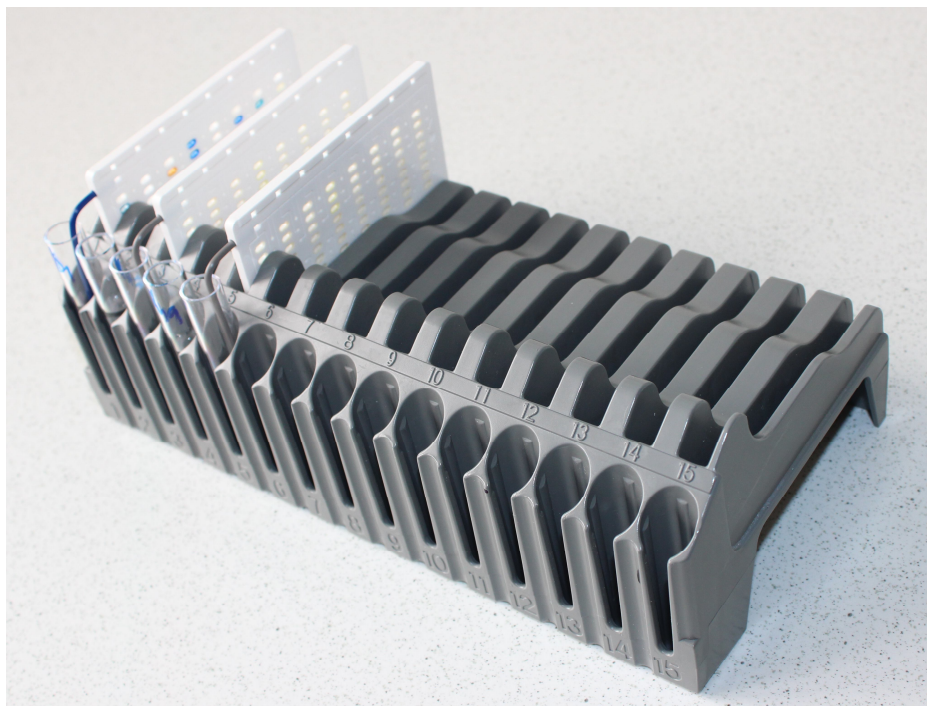
Vlastní zdroj

Příloha č. 9: Zadávací stanice přístroje VITEK 2



Vlastní zdroj

Příloha č. 10: Kazeta pro vzorky přístroje VITEK 2



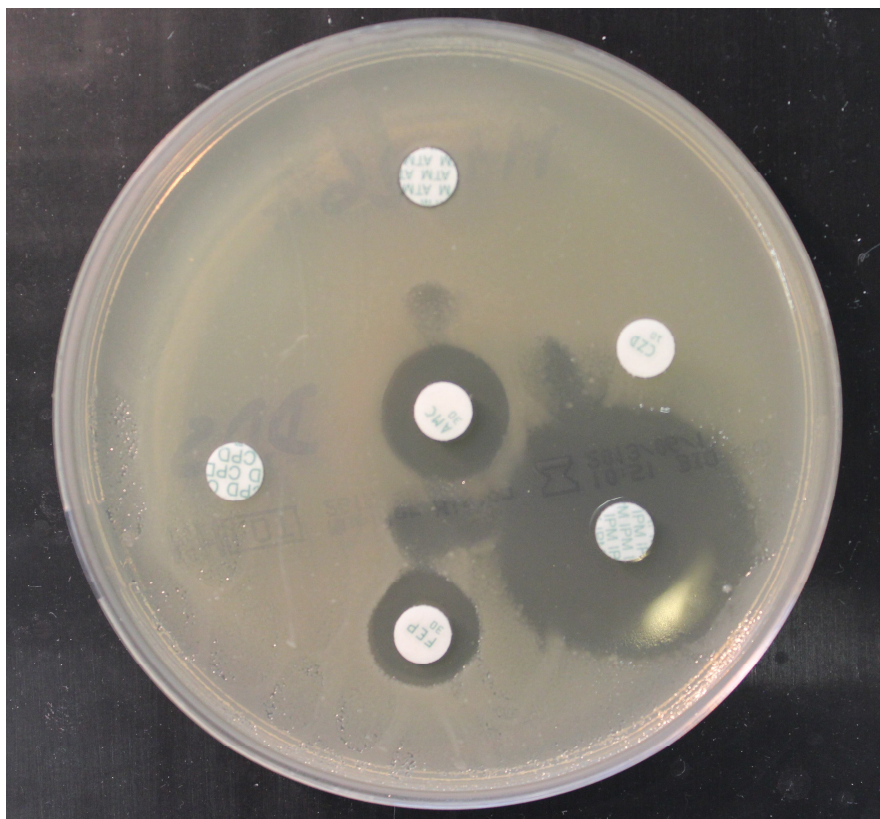
Vlastní zdroj

Příloha č. 11: Nárůst rezistentního kmene na ChromID™ ESBL



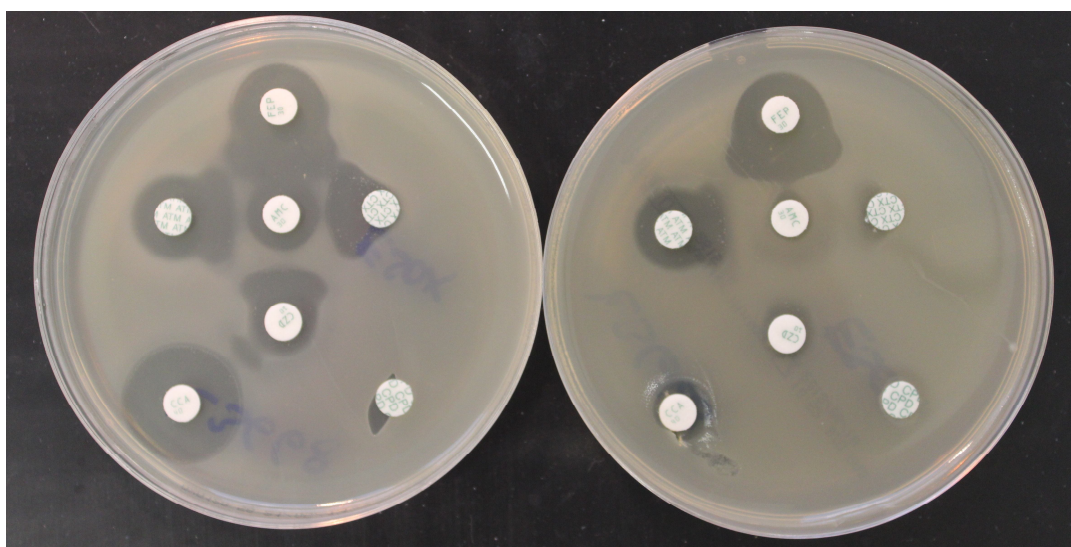
Vlastní zdroj

Příloha č. 12: Pozitivní DDST na produkci ESBL



Vlastní zdroj

Příloha č. 13: Konfirmační metoda CLSI – pozitivní test na produkci ESBL i AmpC



Vlastní zdroj