



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Studies

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Zdravotně sociální fakulta  
Ústav laboratorní diagnostiky a veřejného zdraví

Bakalářská práce

# Laboratorní diagnostika infekcí způsobených *Campylobacter* spp.

Autor bakalářské práce: Renáta Mrkvičková

Vedoucí bakalářské práce: MUDr. David Šůs

České Budějovice 2016

## **Abstrakt**

Bakalářská práce se zabývá problematikou bakteriálních druhů *Campylobacter* spp., zahrnující jejich rozšíření a zvyšující se rezistenci k antibiotikům. Dále se zabývá prevencí kampylobakteriózy, diagnostikou a identifikací jednotlivých druhů této bakterie.

Teoretická část se věnuje obecné charakteristice rodu *Campylobacter*, zdrojům a přenosu infekce a možnostem prevence. Součástí tohoto oddílu jsou metody identifikace a diagnostiky kampylobakterů, které se používají na Pracovišti bakteriologie Nemocnice České Budějovice, a.s.

Praktická část obsahuje statistické zhodnocení sezónního výskytu infekce, způsobené *Campylobacter* spp.; porovnání výskytu v rámci pohlaví; porovnání výskytu u různých věkových skupin; a zhodnocení antibiotických profilů bakteriálních kmenů, zachycených v období mezi roky 2013-2014 v Nemocnici České Budějovice, a.s.

Klíčová slova: *Campylobacter* spp., rezistence k antibiotikům, alimentární nákaza

## **Abstract**

Bachelor's thesis deals with problematics of bacterial *Campylobacter* species, their distribution, and increase in resistance to antibiotics. It also deals with campylobacteriosis prevention, diagnosis and identification of individual species of bacteria.

The theoretical part focuses on the general characteristics of the genus *Campylobacter*, resources, and transmission of infection and possible prevention. This section comprises methods for the identification and diagnosis of *Campylobacter* spp., which are used in Bacteriology department in Ceske Budejovice Hospital, Inc.

The practical part includes a statistical analysis of seasonal occurrence of infections caused by *Campylobacter* spp.; a comparison of occurrence within gender; a comparison of incidence in different age groups; and evaluation of profiles of antibiotic bacterial strains collected in the period between 2013-2014 in the Ceske Budejovice Hospital, Inc.

Keywords: *Campylobacter* spp., resistance to antibiotics, foodborn disease

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě archivované 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

.....  
(Renáta Mrkvičková)

## **Poděkování**

Chtěla bych poděkovat MUDr. Šůsovi za odborné vedení a zasvěcení do problematiky práce. Děkuji také rodině a kamarádům za morální a psychickou podporu.

## Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>9</b>
<b>2 Teoretická část .....</b>	<b>10</b>
2.1 Obecná charakteristika rodu <i>Campylobacter</i> .....	10
2.1.1 Morfologie .....	10
2.1.2 Taxonomie .....	11
2.2 Patogeneze.....	12
2.2.1 Zdroje infekce.....	14
2. 2. 2 Kamylobakteri6za.....	15
2.2.3 Vyskyt rodu <i>Campylobacter</i> u zvirat .....	17
2. 2. 4 Infekce rodem <i>Campylobacter</i> z jinych zdroj6 .....	19
2.3 Laboratorn6 diagnostika a terapie.....	20
2.4 Prevence infekce .....	28
<b>3 Praktick6 část .....</b>	<b>29</b>
3.1 C6le pr6ce .....	29
3.2 Hypot6zy .....	29
3.3 Sb6r dat.....	29
<b>4 Vysledky.....</b>	<b>30</b>
<b>5 Diskuze .....</b>	<b>39</b>
<b>6 Z6v6r .....</b>	<b>41</b>
<b>7 Použit6 literatura .....</b>	<b>42</b>

## **Seznam použitých zkratek**

ATB – antibiotika

BIOHAZ EFSA - Vědecký Panel pro biologická rizika Evropského úřadu pro bezpečnost potravin

*C.* – *Campylobacter*

CIP – ciprofloxacin

CLA – claritromycin

CMS – karmaliho agar

DNA – deoxyribonukleová kyselina

DOX – doxycyklin

ECDC – Evropské centrum pro prevenci a kontrolu onemocnění

EFSA – Evropský úřad pro bezpečnost potravin

EU – Evropská Unie

EUR – euro (měna)

FDA – Ústav pro kontrolu potravin a léčiv

LIS – laboratorní informační systém

MALDI TOF – Matrix- assisted laser – desorption ionization time of flight

NRL - Národní referenční laboratoř pro kampylobaktery

PCR – Polymerázová řetězcová reakce

spp. – druhy

SVS – Státní veterinární správa České republiky

SVÚ – Statní veterinární ústav

SZÚ – Statní zdravotní ústav

USA – Spojené státy americké

UV – ultrafialové záření

*V. - Vibrio*

WHO – Světová zdravotnická organizace



## 1 Úvod

Rod *Campylobacter* je důležitý lidský patogen, známý především jako hlavní příčina bakteriálních průjmových onemocnění v Evropě, USA a dalších rozvinutých zemích. (Hochel, 2009). V roce 2005 bylo v Evropské unii zaznamenáno 195 426 případů kamylobakteriízy. Příznaky mohou mít mírné až závažné následky, zejména u dětí a starších osob mohou vést k závažné dehydrataci a až k neurologickým potížím (Silva a kol., 2011). Tyto bakterie nebyly až do 70. let poznány, neboť pro kultivaci vyžadují speciální podmínky (Greenwood a kol., 1999; Bryan a kol., 1995). *Campylobacter* spp. je malá tyčinkovitá bakterie rostoucí za zvýšené teploty a mikroaerofilních podmínek, která způsobuje onemocnění z potravy, tzv. alimentární onemocnění. Vyskytuje se především v syrovém mase, nejčastěji v drůbežím mase, může se vyskytovat i v nepasterizovaném mléce a vodě. V posledních pěti letech se zvýšil nárůst onemocnění *Campylobacter* ssp. a to zejména infikovanými potravinami. K propuknutí infekce stačí malá dávka bakterií (Votava a kol., 2003).

## 2 Teoretická část

### 2.1 Obecná charakteristika rodu *Campylobacter*

#### 2.1.1 Morfologie

Bakterie rodu *Campylobacter* jsou rovné, nebo zakřivené štíhlé gram negativní tyčinky široké 0,2 až 0,8  $\mu\text{m}$  a dlouhé 0,5 až 5  $\mu\text{m}$ . Tyčinkovité buňky mají charakteristický štíhlý spirálovitý nebo esovitý tvar, mohou tvořit jednu nebo dvě smyčky, v případě dvou smyček mají tvar písmene S (Greenwood a kol., 1999). U *Campylobacter* spp. závisí mikroskopický obraz na stáří kultury. V exponenciální fázi růstu nacházíme typické krátké spirálovité formy a v časně stacionární fázi jsou buňky až dvojnásobně dlouhé (Steinhauserová, 1998). Za nepříznivých podmínek mohou vytvářet kokovité útvary. K této morfologické změně dochází pravděpodobně v důsledku enzymové degradace peptidoglykanové vrstvy (Amano a kol., 1992, Greenwood a kol., 1999).



Obrázek 1: *Campylobacter jejuni* v elektronoptickém záznamu s jedním polárním bičíkem; zvětšení 11500x (Greenwood a kol., 1999).

Bakterie netvoří spory a většina druhů rodu *Campylobacter* je pohyblivá, obsahují polární situovaný bičík na jednom nebo obou koncích buňky, který zajišťuje rotační pohyb na způsob vývrtky, a proto se řadí mezi nejpohyblivější bakterie (Greenwood a kol., 1999). Výjimkou je druh *Campylobacter gracilis*, který je nepohyblivý a naopak *Campylobacter showae* je vybaven mnohonásobnými bičíky (Hochel, 2009). *Campylobaktery* mají v cytoplazmatické membráně zabudovaný lipopolysacharidový a proteinový antigen, bičík skrývá důležitý protein pro typizaci (Votava a kol., 2003).

Při kultivaci bakterií je nutno zajistit mikroaerofilní prostředí, což je prostředí s 5 % kyslíku, 10 % oxidu uhličitého a 85 % dusíku. Inkubace probíhá 48 - 72 hodin a nejlépe rostou při teplotě 42 - 43°C. Společným znakem těchto bakterií je schopnost kolonizovat povrch sliznice zažívacího traktu, kde snadno proniknou vrstvou hlenu (Havlík, 2002).

### 2.1.2 Taxonomie

Doména *Bacteria*, kmen *Proteobacteria*, třída *Epsilonproteobacteria*, řád *Campylobacterales*, čeleď *Campylobacteraceae*, rod *Campylobacter*

Bakterie rodu *Campylobacter* byly původně popsány jako zvířecí patogeny a byly zařazeny do rodu *Vibrio*. V roce 1947 Vinzent a spol. úspěšně izolovali *V. fetus* z krve gravidních žen s dlouhodobým horečnatým onemocněním a následným spontánním potratem a popsali tak jejich patogenitu.

O deset let později Kingová našla mikroorganismus v krvi pacienta, který morfologicky odpovídal druhu *V. fetus*, ale lišil se svými biochemickými a antigenními vlastnostmi. Tento nový nález označila termínem „related vibrio“. V roce 1963 na základě stanovení obsahu guaninu a cytosinu v molekule DNA a podle biochemických charakteristik navrhli Sebalt a Véron začlenit *V. fetus* a *V. bubulus* do nového rodu *Campylobacter*.

O deset let později Véron a Chatelain vypracovali kompletní taxonomii tohoto rodu a definovali čtyři druhy *C. fetus*, *C. coli*, *C. jejuni* a *C. sputorum*.

Rod *Campylobacter* byl postupně rozšiřován a v roce 1991 Vandamme a De Ley vytvořili novou čeleď *Campylobacteriaceae*. Do této čeledi současná taxonomie zahrnuje tři rody *Campylobacter*, *Arcobacter* a *Sulfurospirillum*.

Rod *Campylobacter* je tvořen 18 více či méně genotypicky homologními druhy *Campylobacter canadensis*, *C. coli*, *C. concisus*, *C. curbus*, *C. fetus* subsp. *fetus*, *C. fetus* subsp. *veneralis*, *C. gracilis*, *C. helveticus*, *C. hominis*, *C. hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *C. hyointestinalis* subsp. *lawsonii*, *C. insulaemigrae*, *C. jejuni* subsp. *doylei*, *C. jejuni* subsp. *jejuni*, *C. lanienae*, *C. lari*, *C. mucosalis*, *C. rectus*, *C. showae*, *C. sputorum* bv. *faecalis*, *C. sputorum* bv. *Sputorum* a *C. upsaliensis* (Hochel, 2009).

## 2.2 Patogeneze

*Campylobacter* spp. je mikrobiální patogen člověka i zvířat. Faktory zodpovědné za patogenitu nejsou dostatečně probádány. Onemocnění poškozuje trávicí ústrojí a je spojené s požitím kontaminované potravy, zejména masných výrobků a mléka, které lépe proniknou přes kyselé pH žaludeční šťávy, na které je *Campylobacter* spp. citlivý. Dále se můžeme nakazit infikovanou vodou, kontaktem s nakaženými zvířaty, eventuálně sexuálním stykem. Onemocnění vyvolávané kampylobakteriemi vykazuje podobné příznaky, jako onemocnění vyvolané salmonelami, nebo shigelami. Jednoznačnou diagnózu zjistíme detekcí bakterií rodu *Campylobacter* z klinického materiálu (Beneš, 2009; Hochel, 2009).

Bakterie nasedá na střevní sliznici pomocí povrchového antigenu a kolonizuje ji (Greenwood a kol., 1999). Při kolonizaci střev vyhledává konkrétně *C. jejuni* vrstvu střevní mukózy a střevní krypty vyplněné mucinem. Mucin představuje energetický zdroj pro bakterie. Pohyb je zajišťován pomocí bičíku, který je důležitý i k pronikání do střevních krypt.

*Campylobacter* spp. tedy osidluje střevní krypty, vzhledem k optimálnímu prostředí zde přežívá dlouhou dobu (Steinhauserová, 1998). Zánětlivé slizniční změny až ulcerózní slizniční defekty jsou patrné v oblasti tenkého i tlustého střeva. Lymfatické uzliny jsou prosáklé, zvětšené a zanícené (Greenwood a kol., 1999).

Škála střevních obtíží je široká a mechanismus onemocnění není zcela objasněn, předpokládají se tři základní typy.

U prvního typu mohou bakterie *Campylobacter* spp. pronikat a proliferovat v buňkách střevního epitelu a poškozovat buňky. Postižená bývá spodní část tenkého střeva a tlusté střevo. Při histologické biopsii, byl zjištěn pokles počtu epiteliálních buněk, poškození střevních krypt a pokles produkce mukózy. Tento první typ se vyskytuje asi u 20-30 % případů onemocnění a vyskytují se zde krvavé průjmy. Kmeny, které způsobují tuto formu onemocnění, produkují cytotoxiny.

U druhého mechanismu může *Campylobacter* spp. pronikat střevní mukózou s minimálním poškozením střeva do lamina propria a mezenteriálních mizních uzlin. Tento mechanismus se vyskytuje u dětí a mladých osob.

Třetím patogenním mechanismem je produkce enterotoxinu podobné cholerovému toxinu. Výsledkem jsou vodnaté průjmy (Steinhauserová, 1998; Ambrožová, 2010).

### 2.2.1 Zdroje infekce

Bakterie rodu *Campylobacter* jsou hojně rozšířené v přírodě, můžeme je najít v gastrointestinálním traktu teplokrevných zvířat. Zejména jsou adaptovány na střevní ústrojí ptáků, kteří bakterie neustále vylučují a proto je lze izolovat z téměř každé povrchové vody. Bakterie mohou přežívat i několik týdnů při nízkých teplotách. *C. jejuni* a *C. lari* se vyskytují převážně u drůbeže. Dalšími druhy, které mohou vyvolat průjemové onemocnění, jsou *C. coli* a *C. hyointestinalis*, které se vyskytují hlavně u prasat. Z těchto zdrojů se nakazí nejčastěji člověk. *Campylobacter fetus* je adaptován na genitální trakt hovězího dobytka (Votava a kol., 2003; Bednář, 1996; Greenwood a kol., 1999; WHO, 2011).

Ke kontaminaci potravy může dojít primárním způsobem, to znamená, že je potravina vyrobená z kontaminovaných surovin, či kontaminací sekundární, kde se bakterie do potraviny dostanou během zpracování (Beneš, 2009, Šilhánková, 1995, Hrubý a kol., 1996). Při požití kontaminované potravy, je infekční dávka větší než  $10^4$  mikrobů (Bednář a kol., 1994).

## 2. 2. 2 Kampylobakteri3za

Kampylobakteri3za je zoon3za, která je celosv3tov3 rozšířená. Předpokládaný počet případů kampylobakteri3zy v EU je kolem devíti miliónů. Náklady na léčení kampylobakteri3zy ve veřejných systémech zdravotnictví vedou ke ztrát3 produktivity a odhadují se na zhruba 2,4 miliardy EUR ročně. Panel BIOHAZ EFSA došel ve svém stanovisku v lednu roku 2010 k záv3ru, že manipulace, příprava a konzumace masa brojlerů, se přímo podílejí na 20–30 % evropských případech kampylobakteri3zy u lidí. Vědci z EFSA se snaží předejít kontaminaci před porážkou kuřat, která může snížit riziko kampylobakteri3zy až o 50 %. Tyto postupy se zaměřují především na prevenci vstupu bakterie do přístřeší, ve kterém jsou kuřata chována, a také na snížení počtu kampylobakterů ve střevech kuřat, posílaných na porážku. V roce 2011 byla zavedena další případná opatření pro snížení rizika výskytu choroboplodných zárodků kampylobakterů. V řetězci výroby masa to je především jeho ozařování, při kterém se zničí téměř všechny bakterie, které mohou být v mase přítomny. Zmrazování mrtvých těl kuřat po dobu 2 až 3 týdnů, může snížit riziko infekce o více než 90 %. Další možností je zmrazování mrtvých těl kuřat na krátkou dobu (tj. 2-3 dny) nebo ošetření neživého kuřecího těla horkou vodou (při 80 ° C po dobu 20 sekund). Při použití chemikálií, jako je kyselina ml3čná se uvádí snížení rizika infekce o 50 až 90 % (EFSA, 2011).

V České republice se výskyt kampylobakteri3z během několika let výrazně zvýšil, a převýšil tak počet salmonel3z. V současnosti je odhadováno 200 onemocnění na 100 000 obyvatel ročně. Toto onemocnění však nebývá v mnoha případech nahlášeno, a tak se předpokládá, že skutečný počet případů může být vyšší. Nejvyšší počet onemocnění je zaznamenáván v letním období, zejména u dětí. Infekce se přenáší požitím kontaminované potravy, zejména nedostatečně tepelně upraveným drůbežím masem, nepasterizovaným mlékem, sýry či kontaminovanou vodou. Další přenos může být způsoben kontaktem nemocných zvířat, např. koček a psů s malými dětmi.

Hlavním patogenem, který vyvolává u 90-95% osob střevní infekci je *Campylobacter jejuni* a druhým častým patogenem je *Campylobacter coli* (Beneš, 2009; Štork a kol., 2008).

Klinické příznaky se zpravidla dostavují kolem druhého až pátého dne po nakažení a onemocnění trvá kolem dvou až sedmi dní. Původce onemocnění může být vylučován stolicí ještě šest týdnů po uzdravení (Štork a kol., 2008).

Někteří pacienti mohou mít závažné formy dysenterie s dehydratací. Výjimečně může dojít u starších pacientů či jedinců s imunodeficitem k bakteriémii a rozsevu infekce. U jiných osob se příznaky nemusí vůbec objevit a dochází tak pouze k nosičství bakterie. Asymptomatické příznaky se vyskytují asi jen u 1 % osob. Jsou však známy případy, kde onemocnění kampylobakteriózou skončilo smrtí pacienta (Steinhauserová, 1998).

Kampylobakterióza je také doprovázena bolestmi hlavy, svalů, břicha, malátností, křečemi a objevuje se i vzestup teploty někdy až na 39 °C (Beneš, 2009). Ve stolici nacházíme značný počet erytrocytů a leukocytů. Ve většině případů symptomy rychle ustupují a onemocnění během týdne odezní. Vzácnou komplikací kampylobakteriózy je syndrom Guillaina- Barrého, projevující se chabými symetrickými parézami hlavně dolních končetin a proteinocytologickou disociací v mozkomíšním moku. Tento syndrom může vznikat i po jiných infekcích, ale kampylobakterióza je uváděna jako typické předcházející onemocnění (Ambrožová, 2010).



### 2.2.3 Výskyt rodu *Campylobacter* u zvířat

Výskyt kampylobakterů u zvířat i v potravinách v České republice sleduje Národní referenční laboratoř pro kampylobaktery (NRL) na Státním veterinárním ústavu (SVÚ).

#### Drůbež

*Campylobacter spp.* jsou nejčastěji rozšířené patogenní mikroorganismy u drůbeže. Drůbež a ptáci mají vyšší tělesnou teplotu (42°C) oproti jiným savcům, což je hlavním důvodem častého výskytu této bakterie. Drůbež přichází do kontaktu s *Campylobacter spp.* až po vylíhnutí a nejeví žádné klinické příznaky. Kolonizace střeva závisí do značné míry na hygienických podmínkách v drůbežích chovech. Pravděpodobnou cestou nákazy mezi kuřaty je fekálně-orální cesta (Steinhauserová a kol., 1998, Stern a kol., 1988). K rozšiřování bakterie také napomáhá kontaminace vody a způsob chovu (Stern a kol., 1989). Doprava, doba před porážkou a stres kuřat výrazně ovlivňuje počet kampylobakterů (Stern a kol., 1995).

Je známo, že se *Campylobacter spp.* nachází v 50 – 90 % u čerstvě poražené drůbeže. Nejvíce kontaminovaná bývá kůže na krku, stěna dutiny břišní a podkoží, dále vnitřnosti a to především játra (Steinhauserová a kol., 1998)

V České republice v roce 2013 a 2014 probíhal monitoring zoonóz na základě Metodického návodu SVS. Vzorky na průkaz kampylobakterů se odebírají na určených porážkách vždy jednou za měsíc, a to ze slepých střev brojlerů. V roce 2013 bylo vyšetřeno celkem 119 vzorků, pozitivní nález *Campylobacter spp.* byl u 65 vzorků (44 *C. jejuni*, 21 *C. coli*). V roce 2014 bylo vyšetřeno 281 vzorků, počet pozitivních nálezů *Campylobacter spp.* byl u 156 vzorků (84 *C. jejuni*, 65 *C. coli*) (SVS, 2014).

## Prasata

Dalším rezervoárem *Campylobacter* spp. jsou prasata. Kontaminace u poražených prasat je značně rozdílná podle úrovně chovu (Steinhauserová a kol., 1998). Nejvíce bakterií bylo izolováno z odstraněných štětín a kůže, to znamená, že odštětínování prasat může představovat významný zdroj kontaminace povrchu kusů poražených prasat (Gill a kol., 1993).

V České republice se v roce 2001- 2002 hodnotil výskyt kmenů termofilních druhů *Campylobacter* spp. ve střevním obsahu jatečně zralých prasat z prostředí porážek, pocházejících z 11 různých farem a 11 různých jatek. Bylo vyšetřeno celkem 516 vzorků, a to ze střevního obsahu, stěry z povrchu půlek poražených prasat a z prostředí porážek. Z celkového počtu 516 vzorků bylo prokázáno 154 kmenů *Campylobacter* spp. Nejčastějším místem nálezů *Campylobacter* spp. (127 kmenů), byl střevní obsah a dále stěry z povrchu půlek poražených prasat, odkud bylo izolováno 17 kmenů. Z prostředí porážek byly kmeny *Campylobacter* spp. izolovány pouze ojediněle. Z celkových 154 izolovaných kmenů *Campylobacter* spp. bylo 133 kmenů *C. coli* a 21 kmenů *C. jejuni*. Jiné termofilní druhy *Campylobacter* spp. nebyly prokázány. Vzhledem k nízkému výskytu na povrchu půlek ihned po porážení lze říci, že riziko onemocnění člověka kampylobakteriózou z vepřového masa je velmi nízké (Steinhauserová, 2003).

## Skot

*Campylobacter* spp. se také vyskytuje ve střevním traktu skotu. Při porážení skotu nelze vyloučit kontaminaci svaloviny a orgánů. Hovězí maso má však menší nebezpečí výskytu bakterie, ve srovnání s drůbežím či vepřovým masem.

## 2. 2. 4 Infekce rodem *Campylobacter* z jiných zdrojů

### Mléko

Syrové mléko je považováno za časté vehikulum onemocnění. Kontaminace mléka je především spojená s fekálním materiálem, a je způsobená nedostatečnou hygienou při dojení. Konzumace syrového kontaminovaného mléka bylo mnohokrát příčinou epidemií a sporadických případů onemocnění kampylobakteriózou (Steinhauserová a kol., 1998; Newell a kol., 1996).

V České republice byl v roce 2003 povolen prodej syrového, nepasterovaného mléka od prvovýrobců, v roce 2009 se rozšířil i prodej syrového mléka z mléčných automatů. Tento nový způsob prodeje syrového mléka přináší i možná zdravotní rizika. Výskyt patogenů vyvolávající alimentární onemocnění není v chovech mléčného skotu příliš sledován, proto je prodejce povinen spotřebitele upozornit, že mléko musí být před konzumací tepelně ošetřeno. Někteří spotřebitelé však mléko tepelně neupravují. Od roku 2010 bylo opakovaně vysloveno podezření na možnou souvislost mezi konzumací syrového mléka a alimentární nákazou. Sledování výskytu patogenu v syrovém mléce z automatu začalo v roce 2010. Celkem bylo odebráno 219 vzorků mléka z 27 mléčných automatů pocházející z 15 farem v Jihočeském, Jihomoravském a Olomouckém kraji.

V mikrobiologické kvalitě syrového mléka z automatů byly zaznamenány velké rozdíly v závislosti na farmě, ze které mléko pocházelo. Kampylobaktery byly detekovány v 10 vzorcích, jenž pocházely ze tří sledovaných farem. Z automatů kam dodávala mléko jedna z těchto farem, bylo odebráno 30 vzorků mléka, pozitivní nález byl potvrzen opakovaně. Ve všech případech se jednalo o *C. jejuni* (Karpíšková a kol., 2011).

## Voda

Dalším zdrojem kampylobakteriózy je výskyt *Campylobacter* spp. v pitných vodách. Pravděpodobné kontaminace jsou způsobeny průsakem povrchových vod do rozvodných systémů pitné vody. Zdrojem *Campylobacter* spp. ve vodách je převážně zemědělská činnost, výkaly či zbytky živočichů (Kožíšek a kol., 2006; Steinhauserová, 1998).

## **2.3 Laboratorní diagnostika a terapie**

### Materiál

K průkazu *Campylobacter* spp. se používá materiál z rektálního výtěru. Nejsnazší je odběr u klečícího pacienta opírajícího se o lokty nebo ležícího na boku. Sterilní tampon vsuneme do konečníku 1 – 5 cm hluboko, pootočíme jím a šroubovitým pohybem opatrně vytáhneme. Tampon vložíme do odběrové soupravy Amies s transportní půdou. Amies transportní půda je obohacená o aktivní uhlí, které umožňuje částečnou proliferaci během transportu do laboratoře. Kampylobaktery jsou velmi citlivé na nepříznivé podmínky vnějšího prostředí a bez použití transportního média nepřežívají (Hochel, 2009; Votava, 2010).

### Kultivace

K izolaci kampylobakterů se užívají speciální selektivní kultivační média, nutričně bohaté půdy obsahující směsi antibiotik k potlačení doprovodné střevní mikroflóry. Některé jsou obohaceny beraní nebo koňskou krví např. Butzlerovo selektivní médium a Skirrovův agar. Nejčastěji se používá Butzlerovo selektivní médium.

Butzlerovo médium obsahuje:

- směs peptonů (60g / 1l destilované vody)
- masový bujón (2,5 g)
- kvasniční extrakt (2,5 g)
- 5 g chloridu sodného
- 14 g agaru
- selektivní suplementy (cefoperazon, rifampicin, amfotericin B, kolistin)
- 5 % beraní krve.

Jiné používané medium je selektivní půda s aktivním uhlím bez krve podle Karmaliho, tzv. CMS agar.

Naočkované půdy se inkubují za mikroaerofilních podmínek (80 % dusíku, 10 % vodíku, 10 % oxidu uhličitého) při teplotě 42 °C a dostatečné vlhkosti v termostatu. Půdy se odečítají za 48 hodin od inkubace. Na kultivační půdě vyrůstají nepravidelné, ploché, šedivé kolonie, které se plazivě táhnou podél očkovací čáry (Votava, 2010).

### Biochemické identifikační testy

Kolonie kamylobakterů mají pozitivní oxidazovou i katalázovou reakci. *Campylobacter jejuni* na rozdíl od *C. coli* hydrolyzuje hippurát.

Katalazový test:

Principem je štěpení peroxidu vodíku pomocí enzymu katalasy na kyslík a vodu. Používá se 3% roztok peroxidu vodíku. Doporučuje se kápnout kapku peroxidu na podložní sklíčko a v této kapce rozmíchat bakteriální kolonii. V případě positivity dojde k bouřlivému vývoji bublinek. (Votava, 2010)

Oxidasový test:

Jde o rychlý test, kde se používají úzké plastové proužky. Na konci proužku je reakční ploška z porézního materiálu napuštěného směsí substrátu a indikátoru. Reakční ploškou se dotkneme testované kolonie a po určitém čase odečítáme, zda došlo ke změně barvy.

Principem oxidasového testu je průkaz cytochromoxidázy. V případě positivity reakční ploška po několika vteřinách zmodrá.

Hippurátový test:

*Campylobacter jejuni* se od ostatních druhů odlišuje tím, že je schopný hydrolyzovat hippurát, proto ho jednoduše identifikujeme. Testována je schopnost organismu hydrolyzovat 1% hippurát sodný na benzoát sodný a glycin. Při přidání indikátoru ninhydrinu, dochází po deaminaci glycinu k vytvoření modrofialového komplexu. Ostatní druhy *Campylobacter* tuto schopnost nemají (Votava, 2010).

## Mikroskopie

Mezi další diagnostickou metodu patří mikroskopie. Gramovo barvení je jedno ze základních barvení v mikrobiologii, rozděluje bakterie na gramnegativní (červené) a grampozitivní (modré) podle stavby bakteriální stěny.

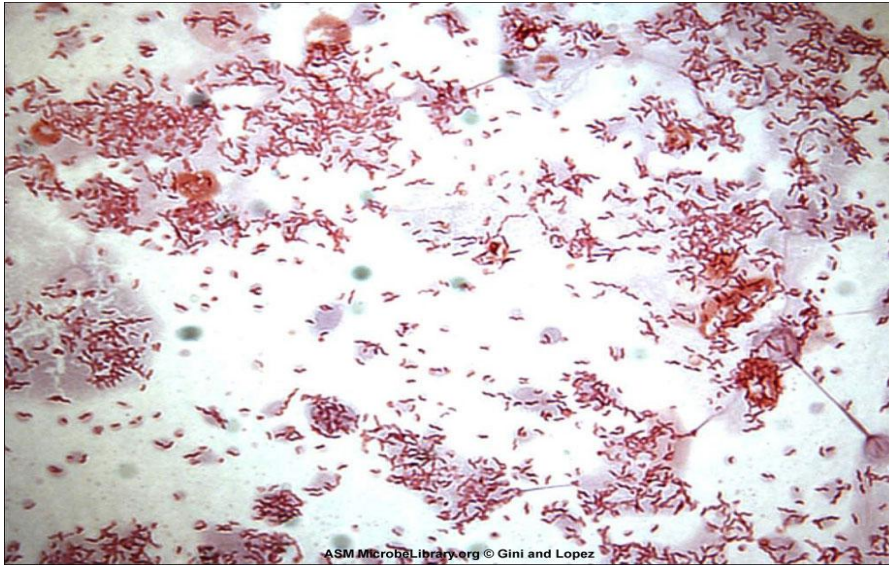
Zkoumanou kulturu nanese se kličkou do kapky fyziologického roztoku na podložní sklíčko. Kapku rozetřeme v tenké vrstvě po povrchu sklíčka a necháme zaschnout. Po zaschnutí se preparáty zafixují dvojím nebo trojím protažením nad plamenem hořáku a postupně nanášíme roztoky.

### Přehled ingrediencí a postupu:

- Gramovo barvivo: 20 s
- Lugolův roztok: 20 s
- Alkohol: dokud odtéká zbarvení
- Voda: opláchnout
- Safranin: 1 min
- Voda: opláchnout

Při barvení vzniká v bakteriální buňce komplex krystalové violeti s jódem, který se u gramnegativních bakterií alkoholem nebo acetonem z buňky rychle vyplaví, kdežto u grampozitivních bakterií odbarvování po určitou dobu vzdoruje.

U *Campylobacter* spp. mikroskopicky zjišťujeme gramnegativní zakřivené červené tyčky ve tvaru písmene S, vlnovky nebo kresby ptáka. Průkaz bakterií nedovoluje stanovení diagnózy, ale pouze podezření na kamylobakterové infekce (Votava, 2010).



Obrázek 2: mikroskopie *Campylobacter* spp. dle Grama.

### Moderní metody

Hmotnostní spektrometrie je založena na rozdělení nabitých částic podle molekulových hmotností v elektrickém / magnetickém poli. V posledních letech technologie pokročila, díky ionizaci laserovými paprsky lze detekovat i velké molekuly, například molekuly proteinů charakteristické pro jednotlivé druhy bakterií.

### VITEK MS™

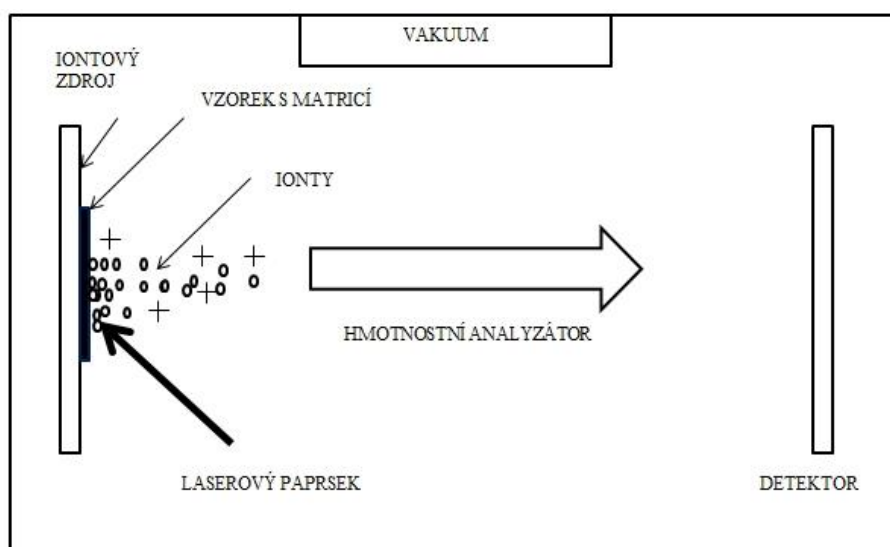
VITEK MS™ je hmotnostní spektrometr firmy bioMérieux pracující metodou MALDI-TOF (MALDI – ionizace laserem za přítomnosti matrice, TOF – analýza doby letu). Na destičku (nosič) do pozice se aplikuje bakteriální kolonie z agarové plotny a následně matriční roztok. Nosič je založen do přístroje VITEK MS™, kde je podroben opakovanému působení laserového paprsku. Matrice absorbuje laserové světlo a za vzniku elektrického náboje se spolu se vzorkem odpaří (= ionizace). Ve vakuové trubici dochází k rozdělení iontů podle „hmotnosti“ a doby letu.

Výsledky jsou zobrazeny ve formě křivek, které odpovídají různým fragmentům původních molekul ve vzorku. Vyhodnocená data získaná z hmotnostních spekter



a následující porovnání s knihovnou hmotnostních spekter mikroorganismů v programu MALDI Biotyper slouží k identifikaci mikroorganismů na úrovni rodu, druhu a často i kmenu.

Výsledkem porovnání může být shoda nebo neshoda s hmotnostními spektry vzorku. Program Biotyper vyhodnocuje výsledky pomocí tzv. skóre, které je dále barevně označeno červenou (žádná shoda), žlutou (částečná shoda), zelenou (plná shoda) barvou (Huong a kol. 2014; Braga a kol. 2013). Přesnost hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF dosáhne 100 % pro všechny druhy *Campylobacter*, kromě *Campylobacter jejuni* 99,4 % (Bessede a kol., 2011).



Obrázek 3: Schéma MALDI-TOF hmotnostního spektrometru (Huong a kol., 2014).

## PCR

Tato metoda je založena na principu polymerázové řetězové reakce a znalosti genomu zjištěného mikroorganismu. V reakci se používají části genomu, které jsou pro daný mikroorganismus charakteristické. Detekce takové sekvence ve zkoumaném vzorku signalizuje přítomnost konkrétního mikroorganismu.

Nejprve je izolovaná DNA z kolonie narostlé na agarovém gelu. DNA slouží jako matrice PCR, kdy jsou do reakční směsi přidány specifické primery pro konkrétní mikroorganismus. Detekce nasyntetizovaného produktu, fragmentu DNA o očekávané velikosti, spočívá v jeho obarvení barvivem, jež se váže na dvouřetězcové DNA (např. ethidium bromid) následné elektroforéze v agarózovém gelu a konečné vizualizaci pod UV lampou. Pozitivní reakce svědčí o přítomnosti testovaného mikroorganismu (Votava, 2010; Demnerová, 2012)

### Citlivost *Campylobacter* spp. k antimikrobiálním látkám

Stanovení citlivosti bakteriálních agens k antimikrobiálním látkám je jednou z nejvýznamnějších činností mikrobiologické laboratoře.

#### Diskový difúzní test:

Z čistě, izolované kolonie, kterou chceme testovat připravíme suspenzi mikroba tak, že pomocí bakteriální kličky sejmeme kolonii bakteriálního kmene a přeneseme do fyziologického roztoku. Hustota by měla činit 0,5 stupně McFarlanda (k měření McFarlandovi stupnice se používá denzitometr, který je určen k měření míry zákalu). V praxi se suspenze napipetuje na půdu (nejčastěji se používá Muellerova-Hintonové) a kýváním rozlije po celém povrchu půdy. Je nutné odsát přebytečnou tekutinu. Před aplikací disků se inokulum nechá při laboratorní teplotě zaschnout po dobu 5 až 15 minut. Papírové disky nasycené daným množstvím antibiotika klademe na pevnou půdu s naočkovaným kmenem, pomocí sterilní pinzety, jehly, nebo dispensoru (dávkováč disků). Půdu s disky necháme kultivovat asi 18 až 24 hodin při 42 °C v termostatu. Během této doby disk nasaje vodu z půdy a antibiotikum difunduje do okolí. Bakterie

jsou v růstu inhibovány a kolem disku se vytvoří zóna zábrany růstu tzv. inhibiční zóna. Druhý den se odečítá velikost, respektive průměr této zóny. Tento průměr se musí srovnat s tzv. referenční zónou (údaj, který dodává výrobce).

Mikrob, který má větší inhibiční zónu než je udávaná výrobcem, je k antibiotiku citlivý. Rostou-li bakterie až k disku, nebo je-li inhibiční zóna menší než udává výrobce, mikrob není citlivý k danému antibiotiku, je tedy rezistentní. (Votava, 2010)



Obrázek 4: Diskový difúzní test.

### Terapie

V léčbě kampylobakterióz má hlavní význam rehydratace s úhradou ztrát vody a minerálů. Antibiotika jsou podávána pouze u pacientů s imunodeficitem nebo u nemocných s horečkami a krvavými stolicemi trvajících déle než týden. Lékem volby jsou makrolidy, je možné užít i doxycyclin, ev. fluorochinolony (Beneš, 2009).

## 2.4 Prevence infekce

Vysoké procento masa nakažené během výroby *Campylobacter* spp. vede k závěru, že podmínky v jatečném procesu, technologie výroby a otevřené skladování vedou k možnosti nárůstu patogenu v mase. Aby se snížilo riziko infekce člověka tímto mikroorganizmem, doporučuje se ponechávat a skladovat maso za nízkých teplot, nikdy při pokojových teplotách. Při výrobě jídel je třeba dodržovat tzv. desatero WHO, například používat jiná prkénka a nádoby na operace se syrovým masem a jiná na zacházení se zeleninou, konzumovat pouze pasterizované mléko a pít vodu jen z ověřených zdrojů. Odborníci předpokládají, že používání jen pasterovaného mléka a důkladná kontrola pitné vody, může zabránit vzniku až 80 % epidemií kamylobakterií (Steinhauserová, 2013).

V prevenci onemocnění se uplatňuje především důsledná osobní hygiena po kontaktu se syrovým drůbežím masem a důkladná tepelná příprava potravin (Beneš, 2009).

## **3 Praktická část**

### **3.1 Cíle práce**

Cílem této práce je statistické zhodnocení sezónního výskytu infekce způsobené *Campylobacter* spp., porovnání výskytu v rámci pohlaví, věkových skupin a zhodnocení antibiotických profilů za období 2013-2014.

### **3.2 Hypotézy**

1. Nejčastější výskyt infekce *Campylobacter* spp. je u malých dětí.
2. Infekce *Campylobacter* spp. se častěji objevuje v letních měsících než v zimních měsících.
3. Makrolidy jsou nejúčinnějším antibiotikem užívaným v léčbě kampylobakteriózy.

### **3.3 Sběr dat**

Všechna data použita pro mou bakalářskou práci jsem získala na Pracovišti bakteriologie v Nemocnici České Budějovice, a.s. Data byla získávána pod odborným dohledem. Biologický materiál pochází z oddělení nemocnice. Ke statistickému zhodnocení byly použity výsledky vzorků všech pacientů se záchytém *Campylobacter* spp. za rok 2013 a 2014.

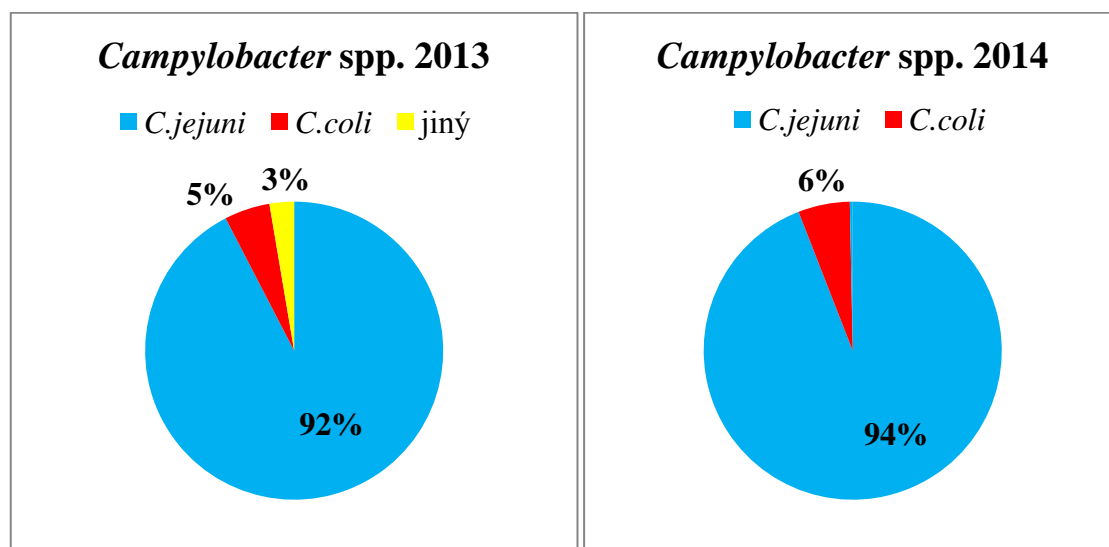
## 4 Výsledky

### Statistické výsledky za rok 2013 a 2014

Statistické výsledky jsem získávala z laboratorního informačního systému na Pracovišti bakteriologie Nemocnice České Budějovice, a.s.

V roce 2013 byl *Campylobacter* spp. zachycen z rektálního výtěru u 263 pacientů. K identifikaci byla použita hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF.

Nejvíce se vyskytoval *Campylobacter jejuni* a to ve 243 vzorků (92 %) – duplicitní vzorky byly ze statistiky vyřazeny. U 13 vzorků byl potvrzen *Campylobacter coli* (5 %). Zbýlých 7 vzorků obsahovalo méně časté kampylobaktery a to *Campylobacter upsaliensis*, *Campylobacter lari* a *Campylobacter hyointestinalis* (Graf 1).



Graf 1, Graf 2: Termotolerantní druhy *Campylobacter* spp. v procentech 2013, 2014.

V roce 2014 byl *Campylobacter* zachycen v 321 vzorcích – duplicitní vzorky byly ze statistiky vyřazeny, což je o 58 více než v předchozím roce. Nejčastějším zachyceným agens byl opět *Campylobacter jejuni* 94 % (Graf 2).

### Věkové skupiny a pohlaví

Věkovou kategorii jsem rozdělila na děti od 0-15 let, mladistvé od 16-26 let, dospělé od 27-45 let a starší věkovou kategorii od 46-80 let.

Z výsledků vyplývá, že mezi nejohroženější skupinu obyvatelstva patří děti ve věku od 0-15 let a to v obou sledovaných obdobích. V roce 2013 onemocnělo kamylobakteriovou infekcí 88 dětí, v roce 2014 tomu bylo o 36 dětí více, onemocnělo 124 dětí (Tabulka 1, Tabulka 2).

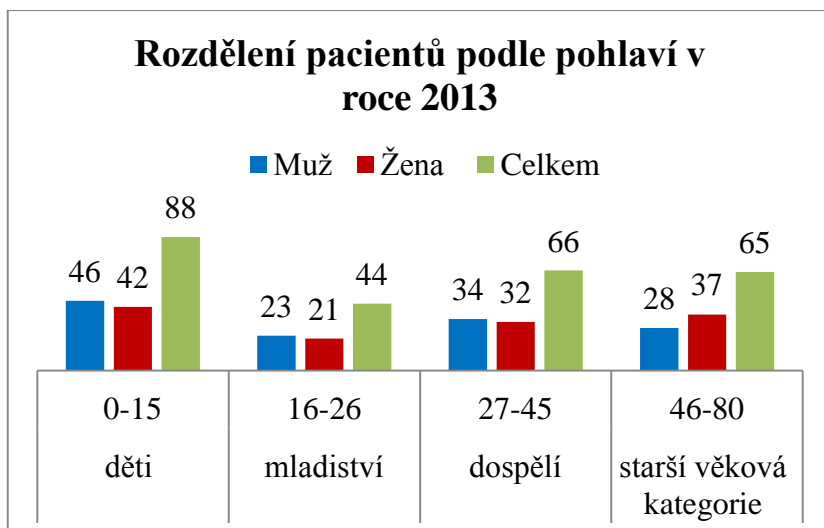
<b>Věkové skupiny za rok 2013</b>	<b>věk</b>	<b>počet pacientů</b>
děti	0-15	88
mladiství	16-26	44
dospělí	27-45	66
starší věková kategorie	46-80	65
celkem		263

Tabulka 1: Věkové skupiny a počet pacientů za rok 2013.

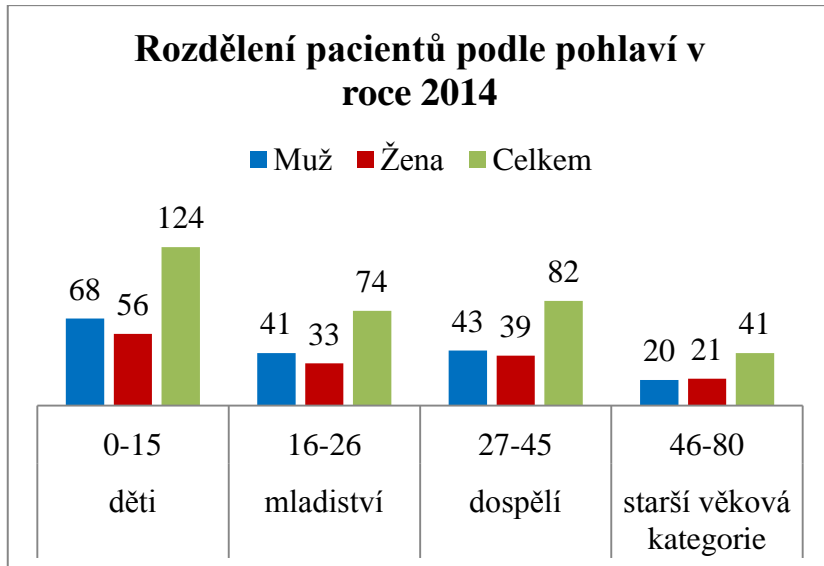
<b>Věkové skupiny za rok 2014</b>	<b>věk</b>	<b>počet pacientů</b>
děti	0-15	124
mladiství	16-26	74
dospělí	27-45	82
starší věková kategorie	46-80	41
celkem		321

Tabulka 2: Věkové skupiny a počet pacientů za rok 2014.

Rozdělení výskytu *Campylobacter* spp. dle pohlaví uvádí Graf 3 a Graf 4. V roce 2013 byl *Campylobacter* zachycen u 131 mužů a 132 žen. V roce 2014 byl *Campylobacter* zachycen u 170 mužů a u 151 žen.



Graf 3: Počet pacientů podle pohlaví a rozdělení podle věkové kategorie v roce 2013.



Graf 4: Počet pacientů podle pohlaví a rozdělení podle věkové kategorie v roce 2014.



### Sezónní výskyt

Zvýšený výskyt onemocnění byl zaznamenán od června do září. Výskyt *Campylobacter* spp. má sezónní charakter, křivka nemocnosti vrcholí v letních měsících. V roce 2013 bylo nejvíce kmenů *Campylobacter* zachyceno v letním období (21. červen - 22. září) a to ve 109 případech (41 %). Nejméně záchytů bylo naopak v zimě (21. prosince - 19. března), a to pouze 27 (10 %). Na jaře roku 2013 bylo zachyceno 66 (25%) kmenů *Campylobacter* spp. a na podzim 61 (23%) (Tabulka 3, Graf 5).

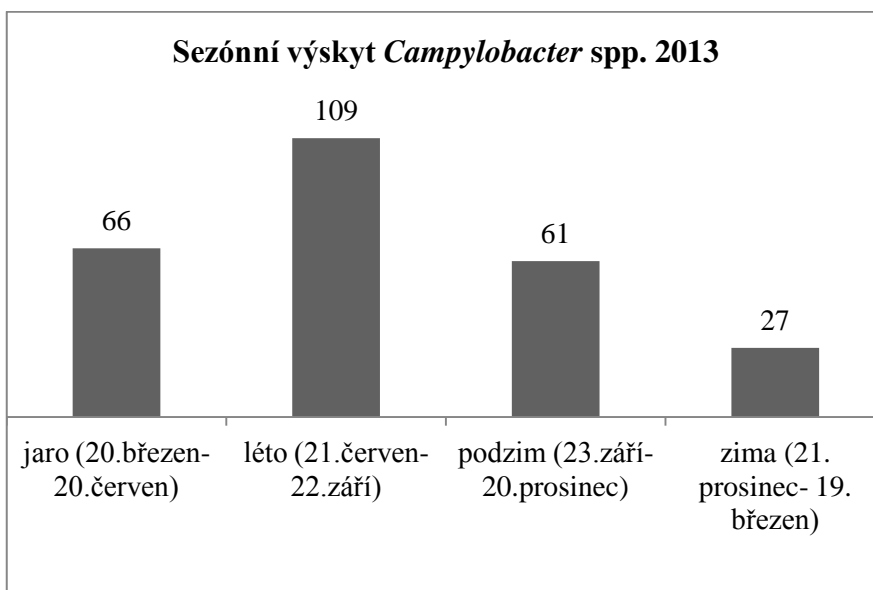
V létě roku 2014 bylo zachyceno 119 kmenů (37 %). Naopak v zimě onemocnělo pouze 53 kmenů (17 %). (Tabulka 4, Graf 6)

<b>Sezónní výskyt 2013</b>	počet pacientů	procenta
jaro (20. březen - 20. červen)	66	25%
léto (21. červen - 22. září)	109	41%
podzim (23. září – 20. prosinec)	61	23%
zima (21. prosinec - 19. březen)	27	10%
celkem	263	100%

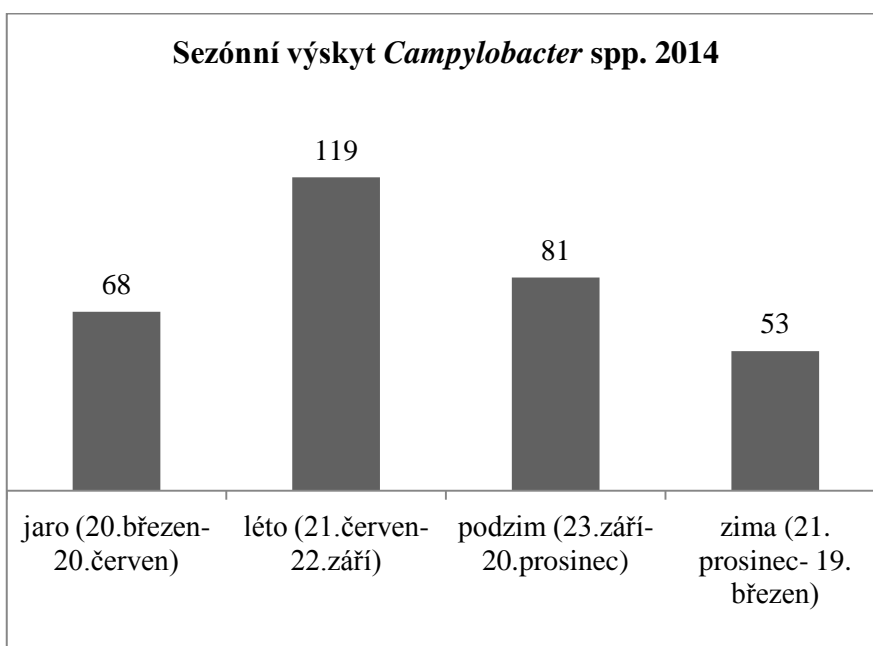
Tabulka 3: sezónní výskyt 2013.

<b>Sezónní výskyt 2014</b>	počet pacientů	procenta
jaro (20. březen - 20. červen)	68	21%
léto (21. červen - 22. září)	119	37%
podzim (23. září - 20. prosinec)	81	25%
zima (21. prosinec - 19. březen)	53	17%
celkem	321	100%

Tabulka 4: sezónní výskyt 2014.

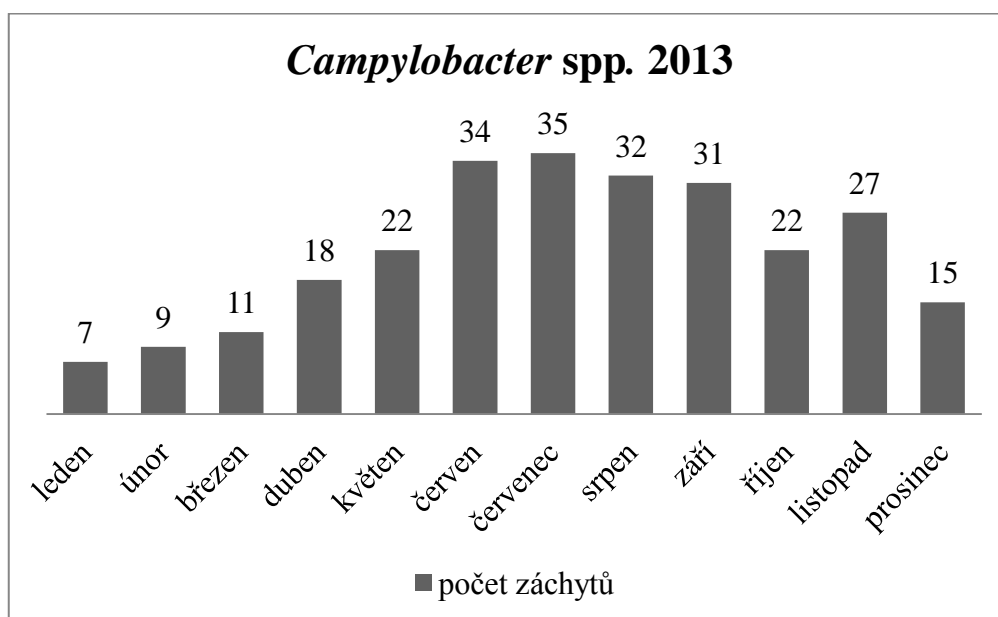


Graf 5: sezónní výskyt 2013.

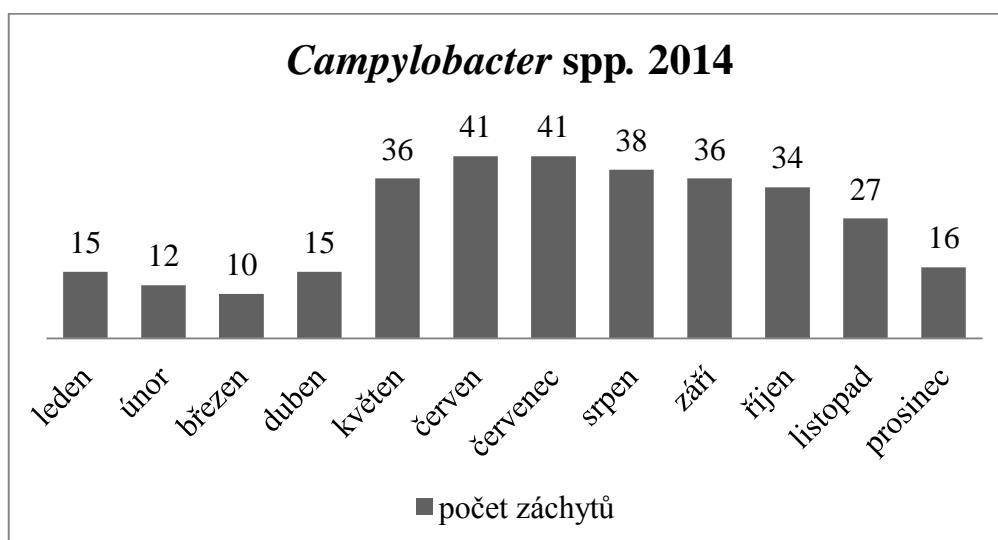


Graf 6: sezónní výskyt 2014.

Počet případů kamylobakterií vztažených k jednotlivým měsícům roku 2013 ukazuje Graf 7. Nejvíce případů kamylobakterií bylo hlášeno v červenci roku 2013, a to 35. Minimum hlášených případů připadá na leden, konkrétně 7 záchytů. V roce 2014 bylo nejvíce onemocnění kamylobakterem hlášeno v červnu a červenci, shodně 41 případů. V březnu roku 2014 bylo zachyceno pouze 10 případů. (Graf 8).



Graf 7: Výskyt *Campylobacter* spp. v jednotlivých měsících v roce 2013.



Graf 8: Výskyt *Campylobacter* spp. v jednotlivých měsících v roce 2014.

### Citlivost a rezistence *Campylobacter* spp.

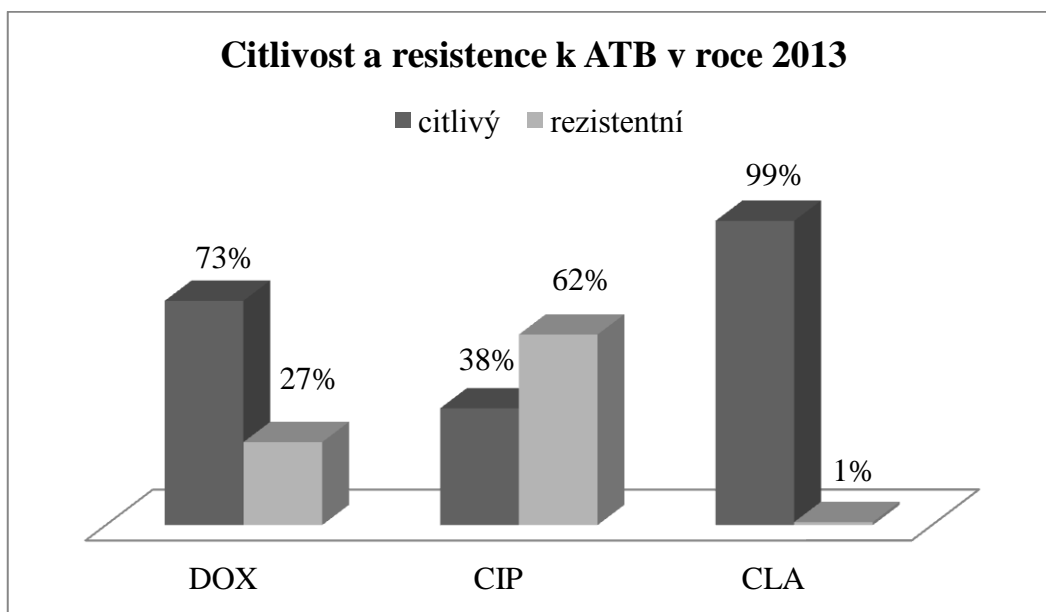
U všech zachycených izolátů bylo provedeno stanovení citlivosti ke třem základním antibiotikům, a to k doxycyklinu (DOX) - širokospektré bakteriostatické antibiotikum ze skupiny tetracyklinů, ciprofloxacinu (CIP) - patří mezi používaná antibiotika ze skupiny fluorchinolonů a ke clarithromycinu (CLA) – makrolidové antibiotikum používané jako lék volby u kampylobakteriózy. Citlivost byla stanovena diskovým difúzním testem.

Kmeny zachycené v roce 2013 byly v 73% procentech citlivé k doxycyklinu, v 38% k ciprofloxacinu. Nejvyšší citlivost si zachovalo makrolidové antibiotikum claritromycin, v souboru dosahovala 99% (Graf 9, Tabulky5).

<b>DOX</b>	<b>počet</b>	<b>procenta</b>	<b>CIP</b>	<b>počet</b>	<b>procenta</b>
citlivý	192	73%	citlivý	100	38%
rezistentní	71	27%	rezistentní	163	62%
celkem	263	100%	celkem	263	100%

<b>CLA</b>	<b>počet</b>	<b>procenta</b>
citlivý	261	99%
rezistentní	2	1%
celkem	263	100%

Tabulky 5: citlivost a rezistence k jednotlivým antibiotikům (doxycyklinu, ciprofloxacinu a claritromycinu) v roce 2013.



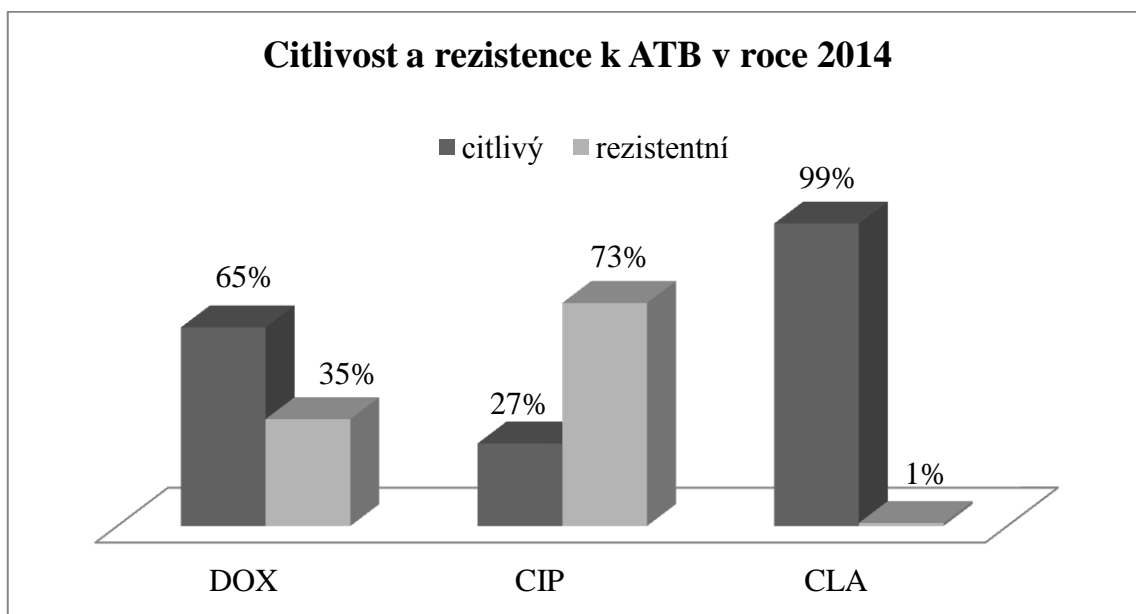
Graf 9: Citlivost a rezistence u *Campylobacter* spp. za rok 2013.

V roce 2014 byly zachycené kmeny citlivé k doxycyklinu v 65%. Citlivost k ciprofloxacinu je stejně jako v předchozím roce nízká, a to 27%. Nejúčinnějším testovaným antibiotikem zůstává claritromycin s 99% citlivostí (Graf 6, tabulky 6).

DOX	počet	procenta	CIP	počet	procenta
citlivý	208	65%	citlivý	88	27%
rezistentní	113	35%	rezistentní	233	73%
celkem	321	100%	celkem	321	100%

CLA	počet	procenta
citlivý	317	99%
rezistentní	4	1%
celkem	321	100%

Tabulky 6: citlivost a rezistence k jednotlivým antibiotikům (doxycyklinu, ciprofloxacinu a claritromycinu) v roce 2014.



Graf 10: Citlivost a rezistence u *Campylobacter* spp. za rok 2014.

## 5 Diskuze

Cílem mé bakalářské práce bylo statistické zhodnocení izolátů *Campylobacter* spp., zahrnující zhodnocení sezónního výskytu infekce, porovnání výskytu v rámci pohlaví, věkových skupin a zhodnocení antibiotických profilů. Jednotlivé izoláty byl zachyceny za období 2013 – 2014 na Pracovišti bakteriologie Nemocnice České Budějovice, a.s.

V roce 2013 a 2014 byl *Campylobacter* spp. zachycen ve vzorcích výtěrů z rekta, případně stolice u 584 pacientů, z toho 301 mužů a 283 žen. Z výsledků vyplývá, že onemocnění není specifické pro určité pohlaví.

Hypotézu č. 1, že nejčastější výskyt infekce *Campylobacter* spp. je u malých dětí potvrzují statistická data získaná v rámci této bakalářské práce. V letech 2013 – 2014 byl nejvyšší podíl onemocnění zaznamenán ve věkové skupině 0-15 let. Tato věková skupina tvoří 36 % ze všech zachycených izolátů za výše uvedené časové období. Vyšší výskyt onemocnění u malých dětí, je kromě jejich nevyzrálého imunitního systému dán i nevhodnými hygienickými návyky rodičů při práci se syrovými produkty, což vede k sekundární kontaminaci předmětů a pokrmů, se kterými děti přijdou do styku. Dodržování hygienických pravidel je významnou prevencí onemocnění i v případě kontaktu s domácími mazlíčky, zejména štěňaty a koťaty, která mohou být dalším zdrojem infekce především pro děti. Nesmíme také zapomenout na další zdroj infekce, kterým je kontaminace vod rybníků a jezer kampylobaktery z trusu divokých ptáků. Koupání ve vodních nádržích se tak může stát další cestou nákazy pro malé děti

Výskyt *Campylobacter* spp. má sezónní charakter, křivka nemoci vrcholí v letních měsících. Výsledky získaných dat potvrzují i druhou hypotézu, že infekce *Campylobacter* spp. se vyskytuje častěji v letních než v zimních měsících. V roce 2013 onemocnělo v létě 109 lidí (41 % ze všech zachycených izolátů za rok 2013) a v létě roku 2014 onemocnělo 119 lidí (37 % ze všech zachycených izolátů za rok 2014). U všech izolátů bylo provedeno stanovení citlivosti a rezistence ke třem základním antibiotikům a to v obou zkoumaných letech. Kmeny *Campylobacter* spp. vykazují

nejnižší resistenci k makrolidovým antibiotikům, konkrétně claritromycinu, což potvrzuje třetí hypotézu (makrolidy jsou neúčinnějším antibiotikem užívaným v léčbě kampylobakterií). Ve zkoumaném období 2013-2014 vykazují zachycené kmeny *Campylobacter* spp. 99% citlivost ke claritromycinu. Výsledky dále ukazují vysoké procento resistance k fluorochinolonům.

EFSA (Evropský úřad pro bezpečnost potravin) a ECDC (Evropské centrum pro prevenci a kontrolu onemocnění) vydaly zprávu za rok 2014 o antimikrobiální resistenci zoonotických bakterií v EU, kde uvádí zvyšující se resistenci *Campylobacter ssp.* u 13 členských států a Norska.

U izolátu *C. jejuni* se zjistilo, že resistance vůči erytromycinu (makrolidové antibiotikum) je celkově nízká. Členské státy hlásí resistenci na ciprofloxacin u 80 % izolátů. Byly také pozorovány vysoké hladiny resistance na tetracyklin (46,4 % pro *C. jejuni* a 53,8 % pro *C. coli*). Možnosti léčby pro lidské enterické infekce způsobené *Campylobacter* spp. se díky zvyšující se resistenci výrazně snižuje (EFSA and ECDC, 2016)

Hlavním problémem je, že k léčení zvířat chovaných pro potravinářské účely se používají často stejná antibiotika jako v humánní medicíně. Celosvětově rozšířená resistance k fluorochinolonům především u izolátů *C. jejuni* a *C. coli* z drůbežích chovů vedla k zákazu FDA (Food and Drug Administration) používat fluorochinolony jako růstové promotory v drůbeží produkci.



## 6 Závěr

Za zkoumané roky 2013 a 2014 bylo zachyceno 584 izolátů *Campylobacter* spp. Kampylobakteriózou onemocnělo 301 mužů a 283 žen. Nejčastější skupinou onemocnění jsou především děti do 15 let. *Campylobacter* spp. má sezónní charakter s maximem v letních měsících. Prevence kampylobakteriózy spočívá především dodržování hygieny stravování a dostatečná tepelná úprava pokrmů. Za spolehlivou metodu identifikace se považuje hmotnostní spektrometrie MALDI- TOF, která dosáhne 100% shody pro většinu druhů *Campylobacter*, s výjimkou *Campylobacter jejuni* (99,4%). U všech kmenů *Campylobacter* spp. se stanovovala citlivost ke třem antibiotikům (DOX, CLA, CIP). Potvrdilo se vysoké procento kmenů resistantních k ciprofloxacinu a velmi nízké procento resistance k makrolidovým antibiotikům (clarithromycinu). Přesto, že je většina kampylobakterových infekcí je samoúdržavná, je znalost stavu resistance k antibiotikům nezbytná pro léčbu případů se závažným průběhem, které vyžadují podání antibiotik.

## 7 Použitá literatura

AMBROŽOVÁ, H.: *Salmonelózy a kampylobakteriózy*. Zdravotnické noviny. 2010, 13: 12-14 s. ISSN 0044-1996

BEDNÁŘ, M., ANDREJ, S., VÁVRA: *Lékařská speciální mikrobiologie a parazitologie*. Praha: Triton, 1994, 226 s., ISBN 80-901521-4-7

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

BENEŠ, J.: *Infekční lékařství*. 1. vyd. Praha: Galén, 2009, 651 s., ISBN 978-80-7262-644-1

BESSEDE, E., SOLECKY, O., SIFRÉ, E., LABADI, L., MÉGRAUD, F.: *Identification of Campylobacter species and related organisms by matrix assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry.*, Clinical Microbiology and Infection © 2011 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

BRAGA, P. A. C., TATA A., DOS SANTOS V. G., BARREIRO, J. R., SCHWAB, N. V., DOS SANTOS, M. V., EBERLIN, M. N., FERREIRA, C. R.: *Rsc Advances*, 3, 994 s., 2013

BRYAN, F. L., DOYLE, M.P.: *Health risk and consequences of Salmonella and Campylobacter jejuni raw poultry*. Trends food Sci. Technol., 6, 83 – 87 s., 1995

DEMNEROVÁ, K.: *Mikrobiologická bezpečnost potravin: současná strategie pro efektivní kontrolu*, Chem. listy 106, 920-925 s., 2012

EFSA issues advice on reduction of *Campylobacter* in Dickens, 2014  
dostupné z: <http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/biohaz110407>

EFSA and ECDC: *The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014*. EFSA Journal;14(2):4380, ISSN: 1831-4732, 2016

GILL, C. O., BRYANT, J.: *The presence of E. coli Salmonella and Campylobacter in pig carcass dehairing equipment*. Food Microbiol., 10, 337 – 344 s., 1993

GREENWOOD, D., SLACK, R. C., PEUTHERER, J.F.: *Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. 1. vyd. Překlad Jiří Schindler. Praha: Grada, 686 s., 1999 ISBN 80-716-9365-0

HAVLÍK, J.: *Onemocnění vyvolaná kampylobaktery*. Zdravotnické noviny, 7: 717-719 s., 2002, ISSN 0044-1996

HOCHÉL, I: *Metody detekce a charakterizace Campylobacter spp.* Chemické listy, 103 (10): 814 – 822 s., 2009, ISSN 1213-7103

HRUBÝ, S., TUREK, B.: *Mikrobiologická problematika ve výživě*. IDVPZ: BRNO, 1996, ISBN 80-7013-232-2

HUONG, T., KOMÍNKOVÁ, M., GURÁŇ, R., RUTTKAY-NEDECKÝ, B., KOPEL, P., TRNKOVÁ, L., ZÍTKA, O., ADAM, V., KIZEK, R.: *Identifikace mikroorganismů pomocí MALDI-TOF MS*, 2014

KARPIŠKOVÁ, R., KOLÁČKOVÁ, I., VYLETĚLOVÁ, M., JANŠTOVÁ, B.: *Studie mléčné automaty- nálezy původců alimentárních onemocnění v syrovém mléce*, zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie, 20 (6), SZV Praha 2011

KOŽÍŠEK, F., KOS J., PUMANN P.: *Hygienické minimum pro pracovníky ve vodárenství*. Státní zdravotní ústav, Krajská hygienická stanice Středočeského kraje. Praha: SLOVAK, 2006

NEWELL, D. C., KETLEY, J.M., FELDMAN, R.A.: *Campylobacters, Helicobacters, and related organisms*. IV. International Workshop on Campylobacters, Helicobacters, and related organisms, ed. D. Newell, Plenum press, New York, 767s., 1996

PALOMBI, I., PAGANI, S.: *EFSA and ECDC publish first joint report on antimicrobial resistance in zoonotic bacteria affecting humans, animals and food*, EU Food Law, č. 495, 2011

STEINHAUSEROVÁ, I.: *Campylobacter sp. v prostředí a v potravinách živočišného původu*. 1. vyd. Brno: LAST , 110 s., 1998, ISBN 80-900260-5-2

STEINHAUSEROVÁ, I., POVOLNÁ, L., HEJLOVÁ, Š.: *Výskyt termofilních druhů Campylobacter sp. u prasat a v prostředí porážek*; 53:25-26, Veterinářství 2003

STERN, N. J., MEINERSMANN, R. J.: *Potentials for colonization control of Campylobacter jejuni in the chicken*. J. Food Project, 52, 427 – 430 s., 1989

STERN, N. J., CALVERO, M.R.S., BAILEY, J. S., COX, N.A., ROBACH M.C.: *Campylobacter* spp. in broilers on the far mand after transport, Poultry Sci., 74, 937 – 941 s., 1995

STERN, N. J., BAILEY, J. S., BLANKENSHIP, L.C., COX, N.A., McHAN, F.: *Colonization characteristics of Campylobacter jejuni in chick ceva*. Avian Dis., 32, 330 – 334 s., 1988

ŠILHÁNKOVÁ, L.: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 2. vyd., ve VP 1. vyd. Praha: Victoria Publishing, 361 s., 1995, ISBN 80-85605-71-6

ŠTORK, J.: *Dermatovenerologie*. 1. vyd. Praha: Galén, 502 s., 2008, ISBN 978-80-7262-371-6

SVS: *Výsledky monitoringu Campylobacter* spp. v České republice, dostupné z [http://eagri.cz/public/web/svs/vyhledavani/index\\$41111.html?query=campylobacter&segments=eagri.svs&perPage=20](http://eagri.cz/public/web/svs/vyhledavani/index$41111.html?query=campylobacter&segments=eagri.svs&perPage=20)

VOTAVA, M.: *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 495 s., 2003, ISBN 80-902896-6-5

VOTAVA, M.: *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun, 351 s., 2005, ISBN 80-86850-00-5

VOTAVA, M.: *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, 495 s., 2010, ISBN 978-80-86850-04-7

WHO, *Campylobacter*. In: *World Health Organization: WHO Media centre 2011*