



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

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

**Vyšetření citlivosti k antibiotikům u kmenů
Staphylococcus aureus fenotypovými metodami v
rutinní mikrobiologické laboratoři a interpretace
výsledků**

Bakalářská Práce

Studijní program:

SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ

Autor: Barbora Mariňáková

Vedoucí práce: MUDr. Alena Beranová

České Budějovice 2018

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „*Vyšetření citlivosti k antibiotikům u kmenů Staphylococcus aureus fenotypovými metodami v rutinní mikrobiologické laboratoři a interpretace výsledků*“ jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných 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 2. 8. 2018

.....

Barbora Mariňáková

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala vedoucí své bakalářské práce MUDr. Aleně Beranové, za odbornou pomoc, cenné rady, ochotu a za čas, který věnovala tomu, aby tato práce mohla vzniknout. Dále děkuji celému týmu Oddělení klinické mikrobiologie Karlovarské krajské nemocnice a.s. za ochotu při praktické části. V neposlední řadě děkuji své rodině a přátelům, kteří mě podporovali po dobu mého studia.

Vyšetření citlivosti k antibiotikům u kmenů *Staphylococcus aureus* fenotypovými metodami v rutinní mikrobiologické laboratoři a interpretace výsledků

Abstrakt

Cílem bakalářské práce je pochopení a správná interpretace výsledků citlivostí k antibiotikům u kmenů *Staphylococcus aureus* ze závažných klinických materiálů, jako jsou hemokultury, punktáty z kloubů a abscesů, stěry z ran, tkáně při infekcích totálních endoprotéz, vzorky moče, materiály z dolních dýchacích cest a další klinické vzorky. Na základě dat, se kterými jsem pracovala, bylo také mým cílem podpořit ev. vyvrátit hypotézu č. 1, že má smysl u každého nálezu kmene *Staphylococcus aureus* v závažném klinickém materiálu odebrat u pacienta i hemokultury. Potvrdit nebo vyvrátit hypotézu č. 2, že s počtem pozitivních nálezů kmene *Staphylococcus aureus* ve vzorcích moči bude současně procentuálně nejvíce pozitivních hemokultur ve srovnání s počtem nálezů kmenů *Staphylococcus aureus* v ostatních klinických materiálech.

Cíle, které jsem si stanovila, byly dosaženy pravidelnou praktickou výukou na Oddělení klinické mikrobiologie. Metodiky vyšetření citlivostí jsem si na oddělení osvojila a sama je poté prováděla pod odborným dohledem. Před tím, než jsem si mohla sama vyzkoušet interpretovat výsledky, bylo nutné vypracovat a nastudovat teoretickou část práce, kde je podrobně charakterizován rod *Staphylococcus aureus*, antibiotická léčba tohoto kmene a výčet nejčastěji testovaných antibiotik v rutinní mikrobiologické laboratoři.

V praktické části práce jsem se zabývala stanovením citlivostí k antibiotikům pomocí diskového difúzního testu a stanovením minimální inhibiční koncentrace. Interpretovala jsem výsledky, kde jsem pro příklad zobrazila nejčastěji se vyskytující antibiogramy, ale také antibiogramy, které se vyskytují méně či vzácně.

Dále jsem zpracovala výsledky citlivostí *Staphylococcus aureus*. Vyšetřovaný soubor tvořilo 588 vzorků *Staphylococcus aureus* pozitivních, z nich 72 vzorků bylo MRSA

pozitivní. U tohoto souboru bylo dále zjišťováno zastoupení pozitivních hemokultur nalezených u současně nebo dříve hlášených pozitivních klinických materiálů. Pozitivních hemokultur u klinických materiálů bylo cca 5,2 % ze všech pozitivních klinických materiálů. Nejvíce pozitivních hemokultur se nacházelo u předchozích pozitivních močí, procentuálně cca 17 %. Jako druhá byla nejvyšší pozitivita hemokultur u vzorků z kostí, kloubů cca 14 %. Následovaly umělé materiály cca 13 %, žilní katetry cca 10 %, abscesy cca 6 %, materiály z dýchacích cest cca 4 %, měkké tkáně cca 3 % a rány s cca 2 %.

Významným získaným poznatkem a závěrem práce je právě fakt, že při závažných stafylokokových infekcích se odběr hemokultur od pacienta ukazuje jako nutnost a jako povinnost odběru hemokultur pacientovi je nález kmene *Staphylococcus aureus* ve vzorku moči.

Klíčová slova: *Staphylococcus aureus*; minimální inhibiční koncentrace; diskový difúzní test; citlivost; antibiotika; hemokultury

**An examination (analysis) of susceptibilities to antibiotics of the strain
Staphylococcus aureus performed by phenotypic methods in
conventional microbiological laboratory and interpretation of its
results**

Abstract

The aim of bachelor's thesis is the understanding and the correct interpretation of results of susceptibility to antibiotics of the strain *Staphylococcus aureus* from serious clinical materials as a hemoculture, a peritoneal fluid from joints and abscesses, a smear from wounds, tissues during infectious total artificial joints, samples of an urine, materials from the lower respiratory tract and another clinical samples. According to data which have been used, my aim also have been to prove or eventually disprove the first hypothesis, that makes sense to collect also hemocultures from patient whose result in the serious clinical material contained the strain of *Staphylococcus aureus*. Prove or disprove the second hypothesis that with the number of positive results of the strain of *Staphylococcus aureus* in samples of urine will be in the same time the most positive hemocultures in percentage in comparison with results of the strains of *Staphylococcus aureus* in other clinical materials.

Defined targets were reached by regular practical education in the Department of Clinical Microbiology. I had adopted a methodology of examination of susceptibility in the department and then have practiced under the professional supervision. Before the practical part of my thesis, I have had to elaborate and learn theoretical part of it. In that part is deeply described the kind *Staphylococcus aureus*, antibiogram of this strain and the list of mostly tested antibiotics in the routine microbiological laboratory.

In the practical part of the thesis I am focusing on the determination of sensitivity to antibiotics by the disk diffusion method and a defining minimal inhibition concentration. I have interpreted results and for example, I have depicted mostly occurred antibiograms and equally less occurred or rare ones.

Then I have processed results of sensitivity of *Staphylococcus aureus*. The examined set has been containing 588 samples of positive *Staphylococcus aureus*. 72 samples from the set have been MRSA positive. A representation of positive hemocultures has been examined too in currently or earlier found positive materials. Positive hemocultures in positive materials have been found in ca 5,2 % of all positive clinical materials.

The most positive hemocultures were found in previous positive samples of urine – ca 17 %. The second highest positivity of hemocultures was in samples from bones and joints – ca 14 %. Then artificial materials ca 13 %, venous catheters ca 10 %, abscess ca 6 %, materials from respiratory tract ca 4 %, soft tissues ca 3 % and wounds ca 2 %.

The significant gained finding and conclusion of the thesis is the fact that during serious staphylococcus infections the sampling of hemocultures is indicating as a necessity and as an obligation of the sampling of hemocultures of a patient is finding of the strain of *Staphylococcus aureus* in the sample of urine.

Key words: *Staphylococcus aureus*; minimal inhibitory concentration; disk diffusion method; sensitivity; antibiotics; hemocultures

Obsah

1	Úvod	12
1.1	Důvody pro výběr právě tohoto tématu	12
1.2	Interpretace antibiogramů kmenů <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2	Teoretická část	13
2.1	Rod <i>Staphylococcus</i>	13
2.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.2.1	Mikroskopie	15
2.2.2	Kultivace	15
2.2.3	Rezistence	15
2.2.4	Antigenní charakter	16
2.2.5	Genetická výbava	16
2.2.6	Patogeneze	17
2.2.7	Patogenita	17
2.2.8	Faktory virulence	17
2.2.8.1	Povrchové faktory	17
2.2.8.2	Extracelulární faktory-enzymy	18
2.2.8.2.1	Koaguláza	18
2.2.8.2.2	Hyaluronidáza	18
2.2.8.2.3	Kataláza	18
2.2.8.2.4	Stafylokináza	18
2.2.8.2.5	Penicilináza	19
2.2.8.2.6	Nukleázy	19
2.2.8.2.7	Lipázy	19
2.2.8.3	Extracelulární faktory-toxiny	19
2.2.8.3.1	Cytolyziny	19

2.2.8.3.2	Enterotoxiny	20
2.2.8.3.3	Toxin syndromu toxického šoku	20
2.2.8.3.4	Exfoliatiny	20
2.2.9	Onemocnění	21
2.2.9.1	Folikulitis, furunkl, karbunkl	21
2.2.9.2	Impetigo	21
2.2.9.3	Mastitis	21
2.2.9.4	Pneumonie	22
2.2.9.5	Záněty kostí a kloubů	22
2.2.9.6	Infekce umělých materiálů	22
2.2.9.7	Stafylokoková enterotoxikóza	22
2.2.9.8	Stafylokokový syndrom opařené kůže (SSSS)	23
2.2.9.9	Stafylokokový syndrom toxického šoku	23
2.2.10	Léčba	24
2.3	Antibiotická terapie <i>Staphylococcus aureus</i>	24
2.3.1	Rezistence k antibiotikům	24
2.3.1.1	Přirozená rezistence	24
2.3.1.2	Získaná rezistence	25
2.3.2	Antistafylokoková antibiotika	26
2.3.2.1	Beta-laktamy	27
2.3.2.1.1	Peniciliny	27
2.3.2.1.1.1	Benzylnicilin (penicilin G)	27
2.3.2.1.1.2	Oxacilin	27
2.3.2.1.2	Cefalosporiny	27
2.3.2.1.2.1	Cefoxitin	28

2.3.2.1.2.2	Ceftarolin.....	28
2.3.2.1.3	Karbapenemy	28
2.3.2.1.3.1	Meropenem	28
2.3.2.2	Fluorochinolony	29
2.3.2.2.1	Ciprofloxacin.....	29
2.3.2.3	Aminoglykosidy	29
2.3.2.3.1	Gentamycin	29
2.3.2.4	Glykopeptidy a lipoglykopeptidy	29
2.3.2.4.1	Vankomycin	30
2.3.2.4.2	Teikoplanin	30
2.3.2.5	Makrolidy	30
2.3.2.5.1	Erytromycin.....	30
2.3.2.6	Linkosamidy	31
2.3.2.6.1	Klindamycin.....	31
2.3.2.7	Tetracykliny.....	31
2.3.2.8	Oxazolidinony	31
2.3.2.8.1	Linezolid	31
2.3.2.9	Další antibiotika.....	32
2.3.2.9.1	Kotrimoxazol.....	32
2.3.2.9.2	Trimetoprim	32
2.3.2.9.3	Rifampicin.....	32
3	Cíl práce a hypotézy	33
3.1	Cíl práce.....	33
3.2	Hypotézy	33
4	Praktická část.....	34

4.1	Disková difuzní metoda (DDT)	35
4.2	Minimální inhibiční koncentrace (MIC).....	36
4.3	E-test	38
4.4	Speciální testy, zaměřené na detekci specifických mechanismů rezistence <i>Staphylococcus aureus</i>	39
4.4.1	Detekce MRSA	39
4.4.1.1	Disk CXT.....	40
4.4.1.2	MRSA-select	40
4.4.2	Detekce indukované rezistence ke klindamycinu	41
4.4.3	Detekce producentů beta-laktamázy	42
5	Výsledky.....	43
5.1	Vyšetření citlivosti metodou DDT	43
5.2	Celkové shrnutí výsledků z databáze.....	48
6	Diskuse	53
7	Závěr	57
8	Seznam použitých zdrojů	59
9	Přílohy.....	65
10	Seznam zkratk	72

1 Úvod

1.1 Důvody pro výběr právě tohoto tématu

Toto téma jsem si vybrala z důvodu mého zájmu o bakteriologii a léčbu bakteriálních infekcí antibiotiky. Již na střední škole mě obor mikrobiologie zajímal a právě zde jsem pochopila, že bych tento obor chtěla dále studovat. Ve speciální bakteriologii na střední škole jsme problematiku kmenů *Staphylococcus aureus* probírali velmi detailně, naše vyučující lékařka se často zmiňovala o nutnosti spolupráce mikrobiologa a klinického lékaře a o tom, jak je to někdy těžké. Často nám vyprávěla příběhy anonymních pacientů se stafylokokovými infekcemi a zmiňovala se o těžkostech, které provázejí právě léčbu těchto infekcí. Dále jsem chtěla být přítomna právě u interpretace výsledků u pacientů a také u komunikace mezi lékaři.

1.2 Interpretace antibiogramů kmenů *Staphylococcus aureus*

Metodologie a interpretace výsledků citlivostí antibiotik je podle mého pozorování na oddělení mikrobiologie velmi jasná a dobře hodnotitelná laboratorní technika. Při své bakalářské praxi jsem se snažila pozorovat a studovat jednotlivé antibiogramy stafylokoků. Některé se vyskytují často a opakovaně, jiné jsou vzácnější, jejich interpretovatelnost je ale přesně dána. Často jsem byla přítomna i u telefonické komunikace mezi mikrobiologem a klinickým lékařem a to už mi tak jasné a jednoduché nepřišlo.

To je důvodem, proč jsem nakonec do své práce zahrnula hypotézy týkající se nejen interpretace výsledků citlivostí, ale i interpretace nálezů stafylokoka jako bakteriálního druhu v klinickém materiálu.

2 Teoretická část

2.1 Rod *Staphylococcus*

Bakterie, které se řadí do rodu *Staphylococcus*, byly popsány již r. 1880. Ve zhotoveném mikroskopickém preparátu z hnisu je pozoroval skotský chirurg a amatérský mikrobiolog Sir Alexander Ogston. Nezávisle na sobě stafylokoky téhož roku pozoroval také Louis Pasteur (Votava et al., 2003; Beneš, 2009).

Stafylokoky jsou morfologicky gram pozitivní, nepohyblivé a nesporulující mikroorganismy (GENÇ et al., 2008). Netvoří pouzdro nebo jen velmi omezeně (Votava et al., 2003). Mají tvar koků o průměru 0,5-1 μm . Jejich typické uspořádání je ve tvaru shluků neboli hroznů (*staphylé* znamená v řečtině hrozen), ale můžou se objevit i samostatně, v párech, tetradách či krátkých řetězcích (Beneš, 2009).

Morfologickou podobností se vyznačují koky z rodu *Micrococcus* a *Peptococcus*, ty se však odlišují na úrovni DNA, proto je vylučujeme na úrovni taxonomické příbuznosti (Greenwood et al., 1999; Murray et al., 2003).

Metabolismus stafylokoků je fakultativně anaerobní, mohou se však objevit některé výjimky (Votava et al., 2003). Tímto se tedy také liší od koků z rodu *Micrococcus* a *Peptococcus*. Zástupci rodu *Micrococcus* jsou striktně aerobní a naopak koky z rodu *Peptococcus* se vyznačují striktně anaerobním metabolismem. Stafylokoky poměrně dobře odolávají nepříznivým vlivům zevního prostředí. Rostou i při vysoké koncentraci soli v médiu a odolávají i vyschnutí. Tato skutečnost může být možným projevem adaptace na zaschlý pot (Greenwood et al., 1999, Murray et al., 2003; Beneš, 2009).

Rod *Staphylococcus*, jehož zástupci mohou být původci i velmi závažných infekcí jak u lidí, tak u zvířat (Greenwood et al., 1999) čítá kolem 53 druhů a poddruhů, avšak ne všechny jsou uplatňovány v humánní medicíně (Bednář et al., 1996; Petráš, 2010). Celý rod můžeme rozdělit do dvou hlavních skupin a to na základě schopnosti enzymu koagulázy (enzymaticky) koagulovat plazmu. První skupinou jsou koaguláza-pozitivní

stafylokoky, druhou skupinu nazýváme koaguláza-negativní stafylokoky (KNS) (Beneš, 2009).

Ke koaguláza-pozitivním stafylokokům se kromě druhu *Staphylococcus aureus* řadí i druhy *Staphylococcus lugdunensis* či *Staphylococcus intermedius*. Všechny druhy patří mezi patogenní stafylokoky. *Staphylococcus aureus* je ale hlavním a nejčastějším patogenem člověka tohoto rodu. U některých zdravých lidí (cca 30 %) lze *Staphylococcus aureus* též nalézt, například na kůži či v nose. Těmto lidem říkáme nosiči a bakterie jim nezpůsobuje onemocnění (Havlík, 2002; Votava et al., 2003; Greenwood et al., 1999). *Staphylococcus aureus* způsobuje běžné infekce lokálního charakteru, ale také celková onemocnění spojená se závažnými klinickými příznaky, která zvyšují mortalitu hospitalizovaných pacientů (Peleg et al. 2002).

Mezi koaguláza-negativní stafylokoky patří např. *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis* či *Staphylococcus saprophyticus*. KNS jsou komenzálové, kteří tvoří velkou část normálního mikrobiomu kůže a sliznic člověka. Lze je také nalézt v potravinách a v jiném prostředí. V dnešní době však platí i za oportunní patogeny. Infekce jimi vyvolané jsou nejčastěji spojené s cizorodými materiály, jako jsou například umělé chlopně, cévní protézy, kardiostimulátory, žilní katétry, atd., anebo vyvolávají infekce močových cest. Mezi vyvolavatele infekcí močových cest patří *Staphylococcus saprophyticus* (Greenwood et al., 1999; Votava et al., 2003; Petráš, 2010).

2.2 *Staphylococcus aureus*

Taxonomické zařazení stafylokoka je následující, řadí se do říše *Eubacteria*, kmene *Firmicutes*, třídy *Bacilli*, řádu *Bacillales*, čeledi *Staphylococcaceae* a rodu *Staphylococcus aureus* (Garrity et al., 2004).

Staphylococcus aureus je, jak již bylo zmíněno, nejvýznamnějším zástupcem rodu *Staphylococcus* skupiny koaguláza-pozitivních stafylokoků. Dále můžeme určit dva poddruhy zmíněného stafylokoka, a to *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, a

Staphylococcus aureus subsp. *anaerobius*. Druhý zmíněný je anaerobní druh, proto se budu zabývat jen prvním poddruhem a budeme ho dále nazývat pouze *Staphylococcus aureus* (Votava et al., 2003).

2.2.1 Mikroskopie

Staphylococcus aureus je grampozitivní bakterie, to znamená, že dle Gramova barvení jej v mikroskopu vidíme tmavomodře (Votava et al., 2005). Nemůžeme však tuto bakterii odlišit od ostatních stafylokokových druhů (Votava et al., 2003).

2.2.2 Kultivace

Staphylococcus aureus je poměrně nenáročný mikroorganismus, roste velmi dobře v širokém rozmezí teplot a to již od cca 7°C až do cca 46°C, v laboratoři inkubujeme při teplotě 35±1°C, po dobu 18±2 hodiny. Také se mu daří v různých hodnotách pH od cca 4,2-9,3. Jeho růst můžeme pozorovat jak na běžných kultivačních půdách, tak na živném agaru se srdečnou či mozkovou infúzí, nebo přidavkem krve. V dnešní době se nejvíce používá krevní agar s 5 % přidavkem beraních krvinek tzv. krevní agar nebo trypton sojový agar TSA. U vzorků, které jsou kontaminovány, je výhodné použít selektivní půdu jako je například krevní agar s 10 % NaCl. Tato selektivní půda potlačuje růst gram negativních bakterií.

Na obyčejném krevním agaru při standartní teplotě a času poté můžeme pozorovat cca 1-3 mm veliké, neprůhledné, hladké, lesklé, okrouhlé kolonie krémovité konzistence. Kolonie jsou většinou pigmentované. Tyto pigmenty jsou karotenového typu a mají smetanový, žlutý, někdy až oranžový nádech. Kolem kolonií si můžeme všimnout beta-hemolýzy v různém stupni. Pokud je *Staphylococcus aureus* naložen do pomnožovacího bujONU, tak po uplynutí času inkubace je bujON zakalený a může se tvořit sedlina (Bednář et al., 1996; Murray et al., 2003; Votava et al., 2003).

2.2.3 Rezistence

Staphylococcus aureus vydrží i zahřátí na cca 60°C, odolný je i k vysychání. Můžeme ho najít i v zaschlém hnisu. Dále, jak už jsem zmínila, může přežít a dokonce se i pomnožit v prostředí s vysokým podílem soli. Velmi dobře odolávají alkoholu, který je

spíše konzervuje, fenolu a rtuti. Snesou i přítomnost například lithia, oxidu teluru či glycinu, naopak k zásaditým barvivům a nenasyceným mastným kyselinám jsou celkem citlivé (Votava et al., 2003; Beneš, 2009).

2.2.4 Antigenní charakter

Buněčná stěna je složena z peptidoglykanu neboli mureinu, kyseliny teichoové a proteinu A. Účinky peptidoglykanu můžeme přirovnat k endotoxinu. Mezi jeho hlavní účinky se řadí podnět k aktivaci komplementu, uvolňování cytokinů z makrofágů a shlukování trombocytů.

Hlavním antigenem a bílkovinnou součástí buněčné stěny všech kmenů *Staphylococcus aureus* je protein A. Protein A je skupinově specifický polysacharid, složený z ribitolových podjednotek kyseliny teichoové. Uplatňuje se v přilnutí na sliznice, kde se kyselina naváže na fibronektin. Dále má protein A schopnost nespecificky reagovat s Fc-fragmentem imunoglobulinů a díky tomu chrání mikroba před opsonizací protilátkami, stejně jako dokáže působit proti účinkům komplementu a fagocytů.

Antigeny pouzdra neboli kapsuly, můžeme prokázat u některých mukoidních kmenů. Kapsulární antigeny existují v 11 antigenních typech a brání fagocytóze (Votava et al., 2003).

2.2.5 Genetická výbava

Genom stafylokoka nese mnoho genů pro virulenci a rezistenci, ještě k tomu se odolnost k antibakteriálním látkám mezi bakteriemi rychle šíří (nejvýznamnějšími jsou kmeny MRSA – methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*, o kterém bude zmínka v kapitole: Antimikrobiální léčba) (Makgotlho et al., 2009). *Staphylococcus aureus* je typický tím, že se jeho geny přenáší mezi kmeny pomocí transdukce. To je známka toho, že se při procesu uplatňují temperované bakteriofágy. Do této skutečnosti spadají i geny pro rezistenci na antibiotika, které jsou umístěny na plasmidech (Votava et al., 2003).

2.2.6 Patogeneze

Predispozicemi ke vzniku infekcí jsou nejčastěji poranění, do kterých zahrnujeme i popáleniny, traumatické či operační rány či přítomnost cizích těles, která mohou být v těle (umělé náhrady, žilní katetry). Dále jsou vysoké predispozice při virových onemocněních, nejvýznamnější stojí za zmínku chřipka, další mohou být při diabetu mellitu, imunologické nedostatečnosti nebo u malignit. Vyšší riziko mají také nedonošení novorozenci a staří lidé (Bednář et al., 1996; Votava et al., 2003).

Onemocnění, která pak *Staphylococcus aureus* vyvolává, jsou většinou hnisavého charakteru, ale setkáváme se i s toxickými případy či otravami z potravin. Méně závažné jsou kožní infekce. Tyto infekce jsou velmi časté, naopak s celkovým postižením orgánů a sepsí se setkáváme méně, a hlavně u pacientů s dispozicemi.

Infekce, které *Staphylococcus aureus* vyvolává, jsou velmi typické tím, že se u nich vytvářejí abscesy. Absces je dutina vyplněná hnisem. Hnis je známka zánětlivého procesu, najdeme zde tedy rozpadající se leukocyty s bakteriemi. Tkáň v okolí jeví jisté známky zánětu – zarudnutí, teplo, otok, bolest a poruchu funkce okolí. Stafylokoková infekce se v ojedinělých případech může šířit jako neohraničený zánět (flegmóna), ale většinou ji způsobují streptokoky pyogenního charakteru (Votava et al., 2003).

2.2.7 Patogenita

Míra patogenity stafylokoka je dána virulencí kmene a tedy produkcí virulentních faktorů, tedy schopnost určitého druhu mikroba vyvolat onemocnění konkrétního hostitele (Bednář et al., 1996; Beneš, 2009).

2.2.8 Faktory virulence

U bakterie *Staphylococcus aureus* se setkáváme s mnoha faktory virulence. Faktory se dělí do dvou skupin na povrchové a extracelulární (Votava et al., 2003).

2.2.8.1 Povrchové faktory

K povrchovým faktorům patří již zmíněný peptidoglykan, kyselina teichoová, protein A a polysacharidové pouzdro. Dalším antigenem povrchu mikroba *Staphylococcus aureus*

je například vázaná koaguláza neboli clumping faktor. Tento protein vyvolává shlukování buněk bakterie tím, že přeměňuje fibrinogen na fibrin. Clumping faktor nejspíše působí i jako antigenní mimikry. Dále zde mohou být různé proteiny, které se váží na kolagen, fibrinogen či fibronektin. Tímto se stafylokokům umožní přilnutí na různé tkáně (Votava et al., 2003; Beneš, 2009).

2.2.8.2 Extracelulární faktory-enzymy

K enzymům, jakožto k extracelulárním faktorům virulence řadíme koagulázu, katalázu, hyaluronidázu, penicilinázu, stafylokinázu, nukleázy, lipázy, a další enzymy (Votava et al., 2003).

2.2.8.2.1 Koaguláza

Koaguláza zvaná volná vytváří s plazmatickým faktorem (protrombinem) v plazmě stafylofibrin. Ten katalyzuje přeměnu rozpustného fibrinogenu na nerozpustný fibrin. Tvorba fibrinu je příčinou toho, že infekce způsobené stafylokoky, probíhají většinou jako ohraničené záněty neboli abscesy (Votava et al., 2003).

2.2.8.2.2 Hyaluronidáza

Hyaluronidasa štěpí kyselinu hyaluronovou, která je součástí mezibuněčného tmelu, a tím snadněji umožňuje šíření patogenu ve tkáních (Votava et al., 2003).

2.2.8.2.3 Kataláza

Charakteristickým enzymem všech bakterií rodu *Staphylococcus* je kataláza, ta štěpí peroxid vodíku, který je toxický (Votava et al., 2003).

2.2.8.2.4 Stafylokináza

Stafylokináza neboli fibrinolyzin iniciuje přeměnu proenzymu plazminogenu na proteolytický enzym plazmin, který poté rozpouští sraženiny fibrinu. Tímto je velmi důležitý pro šíření infekce do tkání (Bednář et al., 1996; Votava et al., 2003).

2.2.8.2.5 Penicilináza

Penicilináza nebo také beta-laktamáza je enzym, který dokáže štěpit čtyřčlenný beta-laktamový kruh a tím inaktivuje beta-laktamová (penicilinová) antibiotika, konkrétně penicilin, ampicilin a piperacilin (Votava et al., 2003; Urbášková, 2018).

2.2.8.2.6 Nukleázy

Nukleázy mají schopnost napadat jádra leukocytů. V jádrech katalyzují odštěpení fosfomononukleozitů z ribonukleové, ale také deoxyribonukleové kyseliny. Nukleázy odolávají vysokým teplotám (cca 100°C) po dlouhou dobu (až 15 minut) (Bednář et al., 1996; Votava et al., 2003).

2.2.8.2.7 Lipázy

Lipázy jsou enzymy, které hydrolyzují lipidy, a tím se umožňuje snazší šíření do podkožních tkání či mazových žláz (Votava et al., 2003; Ryšková et al., 2004).

2.2.8.3 Extracelulární faktory-toxiny

Staphylococcus aureus produkuje také řadu extracelulárních toxinů, jsou to cytolyziny (hemolyziny, Pantonův-Valentinův leukocidin), enterotoxiny, toxin syndromu toxického šoku 1 a toxiny exfoliativní (ETA, ETB) (Votava et al., 2003). *Staphylococcus aureus* může produkovat jeden ale i více toxinů, ty pak znatelně ovlivňují jeho virulenci a následně klinické projevy hostitele (Dinges a kol., 2000). Každý kmen nemusí všechny níže zmíněné toxiny produkovat, záleží na tom, zda je exprimován příslušný z genů (Schindler, 2014).

2.2.8.3.1 Cytolyziny

Cytolyziny jsou typické tím, že poškozují povrchovou membránu buněk. Do této skupiny patří čtyři hemolyziny (alfa, beta, gama, delta-hemolyzin) a Pantonův-Valentinův leukocidin (Votava et al., 2003).

Alfa hemolyzin se váže na receptory hostitelských buněk a aktivuje receptor, tato reakce vyvolává silnou zánětlivou reakci hostitele a začnou se tvořit póry v membráně buněk, což vede nakonec k destrukci buňky (Wolfmeier et al., 2018). Alfa-hemolyzin je

schopný tvořit většina kmenů *Staphylococcus aureus*. Na obyčejném krevním agaru, kde je přítomen u stafylokoka právě alfa-hemolyzin, můžeme pozorovat téměř úplnou beta-hemolýzu (Votava et al., 2003; Beneš, 2009). Celkově všechny hemolyziny mají funkci ochrany před leukocyty a také uvolňují železo a růstové faktory z rozpadlých červených krvinek či dalších buněk.

Pantonův-Valentinův leukocidin zkráceně PVL je dvousložkový (LukS-PV and LukF-PV). Tvoří drobné otvory neboli póry v membráně neutrofilních granulocytů a makrofágů, čímž způsobí lýzu buněk. Stafylokoky též chrání před účinkem leukocytů, jako je tomu u hemolyzinů. Toxin je uplatňován v patogenezi především plicních zánětů a infekcí kůže (Tristan et al., 2009; Votava et al., 2003).

2.2.8.3.2 Enterotoxiny

Stafylokokové enterotoxiny je možné prokázat přibližně u poloviny kmenů *Staphylococcus aureus*. Vyznačují se tím, že jsou vysoce termostabilní, například odolají i 30 minutovému varu a také dobře odolávají účinkům enzymů v trávicím traktu. Enterotoxiny vyvolávají zvracení či průjem. Nejčastějším z původců enterotoxikóz je enterotoxin A. Nejčastějším původcem nemocničních kmenů je naopak enterotoxin B. Některé kmeny bakterií s produkcí enterotoxinů mohou být také příčinou vzniku syndromu toxického šoku (Greenwood et al., 1999; Votava et al., 2003).

2.2.8.3.3 Toxin syndromu toxického šoku

Toxin syndromu toxického šoku 1 (TSST-1) je superantigen. Zvyšuje propustnost endotelií a zároveň zesiluje smrtelné účinky enterotoxinu a to už při velmi nízkých koncentracích. Při vzniku syndromu toxického šoku (STŠ) je zodpovědný za příznaky mnohočetného orgánového selhání (Votava et al., 2003).

2.2.8.3.4 Exfoliatiny

Exfoliatiny či epidermolytické toxiny jsou známé čtyři. Nejvíce stojí za zmínku exfoliatiny A a B, mají proteolytický charakter, rozpouštějí mukopolysacharidovou matrix v epidermis, a tím dají za vznik stafylokokovému syndromu opařené kůže

(SSSS). Při tomto syndromu dochází na postižených místech k uvolnění pokožky od škáry a pokožka se olupuje v bělavých cárech (Votava et al., 2003 ; Beneš, 2009).

2.2.9 Onemocnění

Mezi nejčastější onemocnění, způsobené bakterií *Staphylococcus aureus*, patří hnisavé neboli purulentní infekce kůže a přídatných orgánů čili adnex. Také může vyvolat celkové toxické případy onemocnění či otravy z potravin. Je také nejčastějším původcem hnisání ran, do kterých zahrnujeme již povrchová zranění, ale jedná se také o rány operační nebo popáleniny. V těchto případech se tomuto patogenu daří, pokud rána není čistá, stačí, aby v ráně zůstalo jakékoliv cizí těleso, byť jen špína. Infikované rány se mohou stát vstupní branou pro vniknutí bakterie do mizních uzlin a odtud se mohou dostat až do krevního oběhu. V krvi dochází k bakteriémii, která může vést až k sepsi. Pro stafylokoka je typická tvorba abscesů, k těm může dojít, pokud se *Staphylococcus aureus* zanesou například do vnitřních orgánů (Greenwood et al., 1999; Votava et al., 2003).

2.2.9.1 Folikulitis, furunkl, karbunkl

Všechny tyto infekce začínají jako zánět například vlasového váčku. Folikulitis, tedy zánět váčku (vlasového), je nejlehčí forma a infekce je lokalizována pouze v kořínku vlasu. Furunkl už můžeme nazvat jako kožní absces a karbunkl jako spojení více furunklů, které zasahují až do podkožních vrstev kůže (Beneš, 2009).

2.2.9.2 Impetigo

Onemocnění, které postihuje pouze epidermis. Vzniká puchýřkem, který je naplněn hnisem. Tyto pustuly jsou pokryté hnědožlutou krustou. Impetigo je velmi nakažlivá infekce, často se vyskytující u malých dětí (Votava et. al., 2003; Beneš, 2009).

2.2.9.3 Mastitis

Mastitis je epidemiologicky velmi významné zánětlivé onemocnění, které se týká kojících žen. Obvykle začíná 2-3 týdny po porodu. Ženy mají zarudlý prs a velkou bolestivost, může vzniknout až absces. Onemocnění může postihnout i oba prsy (Votava et. al., 2003; Beneš, 2009).

2.2.9.4 Pneumonie

Pneumonie neboli zápal plic, vyvolané patogenem *Staphylococcus aureus*, jsou nejčastěji sekundárního charakteru, nasedá na těžké poškození epitelu dýchacích cest, například po prodělané chřipce. Stafylokoková pneumonie je vždy závažná. Může se rozvinout až syndrom respiračního selhání (ARDS). Pneumonie také může vzniknout hematogenním rozsevem, kde nejčastější zdroj bakteriémie bývá pravostranná endokarditida. Klinický obraz v tomto případě je velmi vážný, týká se obou plic, kde jsou abscesy. Špatně reaguje na obvyklou léčbu. Celkově se u těchto pneumonií můžeme setkat až s rozpadem tkáně, s abscesy či rozvojem empyému (Beneš, 2009).

2.2.9.5 Záněty kostí a kloubů

Infekce kostí a kloubů mohou vznikat, jak po úrazech, tak i zanesením *Staphylococcus aureus* do tkáně krevní cestou či šířením z okolního zánětu. Nejčastější formou u dospělých je spondylodiscitida neboli zánět obratlů v bederní části páteře. Může vzniknout až hnisavá meningitida nebo abscesy v páteřním kanálu. Poblíž kloubů vzniká hnisavá až septická arthritida (Votava et. al., 2003; Beneš, 2009).

2.2.9.6 Infekce umělých materiálů

Mezi tyto infekce se řadí infekce umělých srdečních chlopní, cévních protéz, kardiostimulátorů a žilních katetrů. Průběh infekce těchto materiálů je ovlivněn schopností stafylokoka vytvářet na povrchu umělých materiálů biofilm, což je polysacharidová substance, kterou stafylokoky vylučují a tím kolem sebe vytvářejí ochranný val, který je chrání proti působení antibiotik i imunity. Infekce takových materiálů vzniká buď časně a souvisejí přímo s operačním výkonem při zavádění umělého materiálu, nebo vznikají měsíce až roky od vlastního zavedení umělého materiálu hematogenní cestou při jakékoli stafylokokové sepsi (Jindrák et al., 2014).

2.2.9.7 Stafylokoková enterotoxikóza

Vzniká alimentární intoxikací. Zdrojem bývá nejčastěji člověk, pracující na přípravě jídla, ten má na ruku hnisavou infekci například nehtového lůžka, stafylokok se v jídle pomnoží a dále produkuje termostabilní enterotoxin. Enterotoxin se ani varem nezničí, ale jeho producent *Staphylococcus aureus* ano. Enterotoxikóza propuká již za krátkou

dobu a velmi dramaticky se zvracením či průjmem. Postižený je bez horečky a potíže většinou ustoupí rychle. Největší riziko této intoxikace je v dehydrataci a velké ztrátě iontů (Beneš, 2009).

2.2.9.8 *Stafylokokový syndrom opařené kůže (SSSS)*

SSSS jak už bylo řečeno je syndrom, který je vyvolán toxinem exfoliatinem, jenž produkuje *Staphylococcus aureus*. Onemocnění začíná malými lézemi, ale postupně dochází působením exfoliatinu k destrukci mezibuněčných spojů a dochází k uvolnění epidermis od dermis (škára) v podobě cárů, pod postiženými místy je jasně červená obnažená škára. Onemocnění většinou probíhá velmi závažně a je spojen se stafylokokovou sepsí. U novorozenců a malých dětí je toto onemocnění známo jako Ritterův syndrom, kde vstupní branou infekce je pupečníkový pahýl nebo kontaminovaná kůže personálu. Také se můžeme setkat s Lyellenovým syndromem neboli toxická epidermální nekrolýza (TEN). TEN se od SSSS liší tím, že může být vyvolána alergickou reakcí na léky a také výrazně postihuje i sliznice. Lyellův syndrom je léčen kortikoidy, zatímco SSSS antibiotiky (Beneš, 2009; Goering et. al., 2016)

2.2.9.9 *Stafylokokový syndrom toxického šoku*

Syndrom toxického šoku je taktéž způsoben toxinem stafylokoka, již zmíněného TSST . Dříve byl tento syndrom spojován s používáním menstruačních tamponů u žen. V 80. letech se v USA rozvinulo ohnisko s tímto onemocněním, právě v souvislosti s používáním vysoce absorpčních tampónů. Pozitivní u tohoto typu STŠ je kultivace z pochvy či tamponu. Onemocnění probíhá často jako toxémie současně se stafylokokovou sepsí. Klinický obraz pacienta se rychle zhoršuje, má horečky, nízký tlak, vyrážku podobnou spále a můžou nastat až multiorgánové dysfunkce až šok. STŠ se dnes ale vyskytuje spíše jako tzv. non-menstruální STŠ. Tato forma má mnohdy ještě rychlejší průběh a horší prognózu. Zdrojem toxémie, často i sepse, může být jakýkoli stafylokokový zánět v lidském těle. Je zde důležité okamžité stanovení diagnózy a k tomu příslušné terapie (Beneš, 2009; Goering et. al., 2016; Sharma et al., 2018).

2.2.10 Léčba

Infekce, které jsou povrchové, se řeší chirurgickým zákrokem, při kterém se otevře absces, následně se vypustí hnis a pokud je potřeba provede se drenáž. U hlubokých ložisek či generalizovaných infekcí se taktéž využívá chirurgického zásahu (pokud je to možné), ale současně je nutné léčit infekci celkovou antibiotickou terapií. Obě léčby se vzájemně doplňují (Bednář et al., 1996; Votava et al., 2003). Této terapii je věnována samostatná kapitola 2.3.

2.3 Antibiotická terapie *Staphylococcus aureus*

Antibiotiky nazýváme látky, které se využívají k léčbě bakteriálních onemocnění. V dřívější době za antibiotika platily pouze látky přírodního původu a ty, které byly synteticky vyrobené, byly nazývány chemoterapeutika. Dnes už bez rozdílu původu tyto všechny látky nazýváme antibiotika (Votava et al., 2005; Votava et al., 2010).

Objevení antibiotik a jejich následné používání v praxi byl obrovský vědecký pokrok. Za prvního objevitele se považuje Alexander Fleming. Roku 1928 k tomuto objevu dospěl spíše náhodou, jelikož si všiml nevyhozené kultivační půdy, která byla kontaminována plísní (*Penicillium notatum*), jež hubila naočkované stafylokoky. Flemingovi se však nepodařilo získat klinicky využitelnou formu tohoto antibiotika. Čistý penicilin využitelný jako léčivo, se podařilo izolovat až začátkem druhé světové války a zasloužili se o to pánové Florey a Chain (Votava et al., 2005).

2.3.1 Rezistence k antibiotikům

2.3.1.1 Přirozená rezistence

Většina bakterií má tzv. přirozenou rezistenci k některým antibiotikům, vyplývá to z jejich morfologie a metabolismu. Tuto vlastnost můžeme využít jak pro selektivní izolaci, tak dokonce i k úplnému určení dané bakterie.

Staphylococcus aureus má přirozenou rezistenci na aztreonam, ceftazidim, kolistin/polymyxin B (Beneš, 2018).

2.3.1.2 Získaná rezistence

Tato rezistence vznikla u určitých druhů bakterií na antibiotika, která byla prvotně citlivá, ale vyvinula se rezistence (Votava et al., 2005). V práci bude zmíněno jen pár druhů získané rezistence, samozřejmě je jich mnohem více, ale jelikož práce není přímo zaměřená na rezistence *Staphylococcus aureus*, nebudou zmíněné.

Staphylococcus aureus má v dnešní době už více než 90 % rezistentních kmenů na penicilin. Tyto kmeny jsou schopné štěpit penicilin, ampicilin a piperacilin pomocí penicilinázy (beta-laktamázy), kterou tvoří. Penicilináza je enzym, který hydrolyzuje beta-laktamový kruh penicilinu, ampicilinu a piperacilinu (Lowy, 2003; Votava et al., 2003).

U nás je většina komunitních kmenů ještě stále citlivá k polysyntetickým penicilinům, které byly objeveny začátkem 60. let. Tyto peniciliny jsou speciálně upraveny, zanesením vhodné skupiny do molekuly, aby se beta-laktamázy nedostaly k centru beta-laktamového kruhu. Jako příklad polysyntetických penicilinů si můžeme uvést například oxacilin, cloxacilin, methicilin.

Později, jako tomu bylo již v prvním případě, se objevily kmeny *Staphylococcus aureus*, které byly rezistentní i k takto vylepšenému penicilinu (Votava et al., 2003; Grundmann et al., 2006). Těmto kmenům se přiřazuje zkratka MRSA - meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*. MRSA tvoří ve světě až polovinu nemocničních kmenů *Staphylococcus aureus*. Tento kmen je rezistentní k methicilinu či oxacilinu z toho důvodu, protože má nejčastěji přítomný gen *mecA*. Tento gen kóduje pozměněný druh proteinu PBP2a, jenž váže penicilin. PBP jsou transpeptidasy účastnící se výstavby buněčné stěny (penicilin-vázající protein) a jejich účinek je inhibován právě peniciliny, a díky tomu dochází k lýze bakterií (Votava et al., 2003). Modifikovaný PBP2a má sníženou afinitu k beta-laktamům a díky tomu se jeho transpeptidázová aktivita při biosyntéze peptidoglykanu zachovala (Deurenberg et al., 2007). Jak již bylo zmíněno, tak kmeny MRSA mají rezistenci na všechna beta-laktamová antibiotika, i na kombinaci s inhibitory beta-laktamáz, tedy i k cefalosporinům a karbapenemům. K

úplnému průkazu rezistence se využívá průkaz přítomnosti genu *mecA* PCR metodou nebo latexovou aglutinací, kde se stanovuje přítomnost PBP2a. Tyto dvě metody se využívají, protože gen *mecA* se nemusí vždy exprimovat, a tedy metoda diskového difuzního testu nemusí rezistenci odhalit. Vyskytuje se to u tzv. heterorezistentních kmenů, jelikož mají velmi nízký počet rezistentních buněk (Votava et al., 2003). Jak už bylo zmíněno, MRSA kmeny se vyskytují hlavně v prostředí nemocnic, v poslední době se však můžeme setkat se vzrůstající tendencí i s komunitními kmeny MRSA, které jsou od dříve zdravých jedinců bez spojitosti se zdravotnickými zařízeními. Tyto kmeny mohou produkovat významný faktor patogenity Pantonův-Valentinův leukocidin (Deresinski, 2005).

Některé MRSA kmeny se ale staly rezistentní i na další z řady antibiotik, jako jsou makrolidy, tetracykliny, aminoglykosidy, fluorochinolony, chloramfenikol a rifampicin. Rezistenci na vankomycin (popř. teikoplanin) vykazují tyto kmeny pouze částečnou, tyto kmeny pak nazýváme VISA (angl. Vancomycin-intermediate-resistant *Staphylococcus aureus*), kmeny produkují silnou vrstvu peptidoglykanu, jinak nejsme s mechanismem rezistence dosud obeznámeni.

S úplnou rezistencí k vankomycinu se setkáváme již v roce 2002 u pacientky s onemocněním diabetes mellitus v USA (Tenover, 2006), kmeny nazýváme VRSA (angl. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*). Jejich rezistence je dána přítomností genu *vanA*, který pravděpodobně mohly získat od enterokoků (Votava et al., 2003). Tyto kmeny byly zatím izolovány pouze v USA (Pantosti et al., 2007).

2.3.2 Antistafylokoková antibiotika

Tato kapitola se zaměřuje na základní popisy mechanismu účinku jednotlivých skupin antistafylokokových antibiotik, která se testují v rutinních laboratořích. U konkrétních léčiv daných skupin již dále není opakována obecná charakteristika skupiny, nýbrž jsou zde zdůrazněny některé specifické vlastnosti léčiv.

2.3.2.1 Beta-laktamy

Všechny beta-laktamy jsou baktericidní, jelikož jejich působení spočívá v inhibici syntézy bakteriální buněčné stěny (peptidoglykanu) (Marek et al., 2010).

2.3.2.1.1 Peniciliny

Spektrum účinku je proti grampozitivním bakteriím, které neprodukují beta-laktamázu. Též působí na neisserie či spirochety (Beneš, 2009).

2.3.2.1.1.1 Benzylpenicilin (penicilin G)

Tento druh penicilinu je účinný pouze proti kmenům *Staphylococcus aureus*, které neprodukují beta-laktamázu (Beneš, 2009). Dále benzylpenicilin patří do základní skupiny penicilinů tzv. acidolabilních. V praxi to znamená, že kyselé žaludeční pH je rozkládá, proto jsou podávány pouze injekční formou (Votava et al., 2010). Průnik antibiotika do tkání je omezený, špatně proniká přes biologické bariéry včetně CNS.

Do CNS je průnik podmíněn přítomností zánětu. Biologický poločas je cca 30 minut. Dávkuje se v intervalu 4 hodiny. Penicilin G je z části metabolizován v játrech. Eliminuje se převážně ledvinami (Beneš, 2018).

2.3.2.1.1.2 Oxacilin

Oxacilin odolává účinkům beta-laktamáz, to je jeho výhoda oproti penicilinu G. Je to lék první volby při akutních stafylokokových infekcích probíhajících v dobře prokrvené tkáni např. stafylokoková sepse, endokarditis, dále i akutní osteomyelitis, mastitis, arthritis a infekce měkkých tkání. Je to jediný antistafylokokový penicilin, který se používá v České republice, v zahraničí je používán methicilin. Rovněž jako tomu bylo u penicilinu G, je oxacilin podáván pouze parenterálně, taktéž omezeně proniká do tkání a má biologický poločas půl hodiny a dávkování po 4 hodinách. Vylučován je převážně játry. Často se kombinuje s aminoglykosidem na 3 dny ve fázi sepse. Oxacilin se musí podávat ve vysokých dávkách a dostatečně dlouho, podle typu a závažnosti infekce (Votava et al., 2010; Beneš, 2018; Jindrák 2014).

2.3.2.1.2 Cefalosporiny

Účinek je stejný jako u všech beta-laktamů. Spektrum účinku je široké (podle generací) a mají malou toxicitu. Dají se kombinovat s aminoglykosidy nebo fluorochinolony.

Cefalosporiny se dělí do pěti generací, které se od sebe liší spektrem účinku, farmakokinetickými vlastnostmi a stabilitou vůči hydrolýze beta-laktamázi. Pro léčbu stafylokokových infekcí se používají pouze cefalosporiny 1. generace: cefazolin. Používá se v případě alergie na penicilin. Riziko zkřížené alergie je nízké (Votava et al., 2010; Beneš, 2018).

2.3.2.1.2.1 Cefoxitin

Antibiotikum cefoxitin patří k cefalosporinům II. generace. Používá se pouze při diskovém difúzním testu jako screeningové antibiotikum, podle něhož se odvozuje citlivost stafylokoků k oxacilinu a tím ke všem beta- laktamovým antibiotikům. Jedná se tedy o screening MRSA kmenů (Marek et al., 2010; Urbášková, 2018).

2.3.2.1.2.2 Ceftarolin

Ceftarolin se řadí k cefalosporinům V. generace, které mají, na rozdíl od předešlých čtyř generací, účinnost i proti kmenům MRSA. Používá se k léčbě komunitních pneumonií nebo komplikovaných infekcí měkkých tkání. Podává se nitrožilně, dává se po 12 hodinách a je vyloučen převážně glomerulární filtrací a malé množství žlučí (Beneš, 2018).

2.3.2.1.3 Karbapenemy

Mechanismus účinku je opět stejný jako u všech beta-laktamů. Mají nejširší spektrum účinku, proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím. Od předešlých se liší tím, že vykazuje postantibiotický efekt s dobou trvání až čtyř hodin (Beneš, 2009). Jsou to rezervní antibiotika pro léčbu těžkých nemocničních infekcí (vyvolanými hlavně gram-negativními tyčkami) (Jindrák et al., 2014).

2.3.2.1.3.1 Meropenem

Je to nejúčinnější beta-laktamové antibiotikum v České republice. Používá se zejména u infekcí, které jsou vyvolané multirezistentními tyčkami (enterobakterie). Je vhodný pro léčbu pneumonií, jak nozokomiálních, tak spojenou s umělou plicní ventilací, nitrobřišních infekcí i pro léčbu neuroinfekcí. Špatně proniká do abscesů a kostní tkáně. Biologický poločas je hodina, dává se parenterálně, po 6 až 8 hodinách (Jindrák et al., 2014; Beneš, 2018).

2.3.2.2 Fluorochinolony

Fluorochinolony jsou baktericidní hlavně proti gramnegativním bakteriím, ale účinkují i na některé grampozitivní bakterie včetně *Staphylococcus aureus* a na vybrané ostatní bakterie. Ovlivňují funkci enzymů, které vytvářejí strukturu bakteriálních nukleových kyselin. Mají široké spektrum účinku. Nesmí se používat u dětí (Jindrák et al., 2014).

2.3.2.2.1 Ciprofloxacin

Ciprofloxacin je nejznámějším a též nejpoužívanějším fluorochinolovým antibiotikem (Jindrák et al., 2014). Neměl by být používán samostatně k léčbě MRSA infekcí, ale například v kombinaci s rifampicinem, kvůli narůstající rezistenci stafylokoků k tomuto antibiotiku (Rayner a Munckhof, 2005). Celkově u stafylokokových infekcí není jeho účinek spolehlivý, není tedy lékem volby. Velmi dobře proniká např. do prostaty, do výpotků, kostí. Má dlouhý biologický poločas 3-4 hodiny. Vylučován je močí (Marek et al., 2010; Jindrák et al., 2014; Beneš, 2018).

2.3.2.3 Aminoglykosidy

Mechanismus účinku je baktericidní, působí inhibičně na proteosyntézu bakterií (působí na ribozomy) a narušují integritu buněčné stěny. Spektrum účinku je zejména proti gramnegativním bakteriím, stafylokokům a mykobakteriím. Používají se do kombinace s beta-laktamovým antibiotikem na začátku závažně probíhající stafylokokové infekce (Rozsypal, 2015; Beneš, 2018).

2.3.2.3.1 Gentamycin

Gentamycin je nejvíce používané antibiotikum ze skupiny aminoglykosidů. Má široké použití a u stafylokoků se používá k léčbě sepse nebo například endokarditidy v kombinaci s beta-laktamy či glykopeptidy. Málo proniká do kostí. Podává se parenterálně. Jeho biologický poločas jsou 2 hodiny (Jindrák et al., 2014; Beneš, 2018).

2.3.2.4 Glykopeptidy a lipoglykopeptidy

Působí baktericidně, mají úzké spektrum účinku na grampozitivní bakterie (s výjimkami). Jejich mechanismus účinku je v inhibici tvorby bakteriálního peptidoglykanu (Beneš, 2009).

2.3.2.4.1 Vankomycin

Používá se k léčbě stafylokokové infekce, pokud je to možné a daný kmen *Staphylococcus aureus* je citlivý k beta-laktamovému antibiotiku a pacient nemá alergii, měla by být dána přednost tomuto antibiotiku před vankomycinem. Dále se jím pak léčí infekce způsobené MRSA kmeny, které jsou rezistentní k beta-laktamům. Vankomycin má pomalejší a neúplný baktericidní účinek v porovnání s β -laktamy. Podání je parenterální, biologický poločas 4-6 hodin a vylučován je ledvinami. Může být nefrotoxický, proto se musí monitorovat jeho hladina v krvi. V našem státě je rezistence k tomuto antibiotiku vzácná, jak již bylo zmíněno, můžeme se s ní však setkat např. v USA (Pantosti et al., 2007; Jindrák et al., 2014; Beneš, 2018).

2.3.2.4.2 Teikoplanin

Antibiotikum teikoplanin má přibližně stejný antimikrobiální účinek na bakterie *Staphylococcus aureus* jako tomu bylo u vankomycinu. Preferuje se u pacientů, kteří jsou ohroženi ledvinovým selháním, jelikož je teikoplanin méně nefrotoxický. Má malý průnik do mozkomíšního moku a je vylučován močí (Marek et al., 2010; Beneš, 2018).

2.3.2.5 Makrolidy

Skupina těchto antibiotik je bakteriostatická. Inhibují bakteriální proteosyntézu, jelikož se váží na ribozomy. Působí na většinu gram pozitivních bakterií, na některé gramnegativní, atypické bakterie i mykobakterie. Výborně pronikají do tkání. Pro terapii stafylokokových infekcí se ale nepoužívají (Beneš, 2018).

2.3.2.5.1 Erytromycin

Erytromycin se již nepoužívá pro celkovou léčbu, jelikož byl špatně snášen (Havlík, 2008). Lze ho použít k určení citlivosti k azitromycinu, klaritromycinu a roxitromycinu. V mikrobiologických laboratořích se disky erytromycinu kladou na plotnu vedle klindamycinu, v určité vzdálenosti a pátrá se po antagonizmu, k detekci indukované rezistence ke klindamycinu (více v praktické části práce) (Beneš, 2018; Urbášková, 2018).

2.3.2.6 Linkosamidy

Jsou velmi podobné makrolidům. Opět jsou to bakteriostatická antibiotika, která inhibují proteosyntézu bakteriální buňky. Jsou úzce zaměřená jen na grampozitivní bakterie včetně *Staphylococcus aureus* i některé kmeny MRSA, pokud jsou citlivé.

2.3.2.6.1 Klindamycin

Dobře proniká do kostí, kloubů a abscesů, tím je vhodný pro léčbu komplikovaných stafylokokových infekcí (infekce dutiny břišní; malé pánve; diabetické nohy,...), které se nalézají v oblastech těžko dostupných pro beta-laktamová antibiotika. V kombinaci se využívá k léčbě stafylokokového toxického šoku. Existuje v parenterální formě, ale užívá se i perorálně. Vylučuje se převážně játry, menší část močí (Jindrák et al., 2014; Beneš, 2018).

2.3.2.7 Tetracykliny

Jejich účinek je pouze bakteriostatický. Mechanismus účinku spočívá v inhibici proteosyntézy. Mají velké spektrum účinku proti grampozitivním; gramnegativním bakteriím i některým dalším bakteriím, jsou i proti MRSA kmenům (Beneš, 2009; Beneš, 2018).

2.3.2.8 Oxazolidinony

Tato skupina antibiotik vznikla poměrně v nedávné době (v 80. letech), jsou bakteriostatické s účinkem na grampozitivní bakterie a mykobakterie. Oxazolidinony působí inhibičně na proteosyntézu bakteriální buňky (je zabráněno tvorbě iniciačního komplexu proteosyntézy) (Jindrák et al., 2014; Beneš, 2018).

2.3.2.8.1 Linezolid

Funguje jako alternativa penicilinů a glykopeptidů. Používá se hlavně při léčbě sepsí a infekcí způsobené MRSA kmeny. Vykazuje lepší účinnost v léčbě pneumonií vyvolaných MRSA, než je tomu u glykopeptidů. Jeho výhodou je možnost parenterálního i perorálního podání. Má výborný průnik do tkáně plic, pleurálních výpotků, omezený průnik má do biofilmu. Je vstřebáván v trávicím traktu. Dávkuje se po 12 hodinách (Marek et al., 2010; Jindrák et al., 2014; Beneš, 2018).

2.3.2.9 Další antibiotika

2.3.2.9.1 Kotrimoxazol

Mechanismus účinku stojí na inhibici metabolických drah, působí bakteriostaticky, proti širokému spektru bakterií. Kotrimoxazol je kombinovaný přípravek složený v poměru 1:5 z trimetoprimu a sulfametoxazolu. Využívaná k léčbě nekomplikovaných uroinfekcí, méně závažných stafylokokových infekcí, způsobených citlivými kmeny MRSA. Jeho podání je možné jak parenterální tak perorální (Marek et al., 2010; Jindrák et al., 2014).

2.3.2.9.2 Trimetoprim

Je to představitel diaminopyrimidinů, který je jako jediný registrován i u nás. Má stejný mechanismus účinku jako předchozí kotrimoxazol. Nejsilnější působí na enterobakterie, dále pak na stafylokoky, streptokoky a další. K léčbě se jako primárně využívá na uroinfekce (Beneš, 2018).

2.3.2.9.3 Rifampicin

Patří do skupiny ansamycinů a je baktericidní, působí na nukleovou kyselinu. Je to nejcennější lék pro terapii tuberkulózy a mykobakterióz, může být však použit k léčbě těžkých stafylokokových infekcí a tam kde je přítomen biofilm, jež snižuje účinnost jiných antibiotik. Dává se vždy do kombinace s jiným antibiotikem z důvodu rychlého nárůstu rezistence. Je dávkován po 12 hodinách, může se podat perorálně nebo nitrožilně (Beneš, 2018).

3 Cíl práce a hypotézy

3.1 Cíl práce

1. Vyšetření citlivosti k antibiotikům u kmenů *Staphylococcus aureus* z různých klinických vzorků diskovou difusní metodou a stanovení MIC.
2. Možnosti detekce specifických mechanismů závažné klinické či epidemiologické rezistence u těchto kmenů.
3. Interpretace výsledků.

Cílem práce je pochopení správné interpretace těchto výsledků citlivosti pro klinické účely.

3.2 Hypotézy

Hypotéza č. 1: Předpokládám, že má smysl u každého nálezu kmene *Staphylococcus aureus* v závažném klinickém materiálu odebrat u pacienta i hemokultury.

Hypotéza č. 2: Předpokládám, že s počtem pozitivních nálezů kmene *Staphylococcus aureus* ve vzorcích moči bude současně procentuálně nejvíce pozitivních hemokultur ve srovnání s počtem nálezů kmenů *Staphylococcus aureus* v ostatních klinických materiálech.

4 Praktická část

Praktická část mé práce byla prováděna v mikrobiologické laboratoři Karlovarské krajské nemocnice v Karlových Varech pod odborným dohledem a vedením. V laboratoři jsem dostala možnost si vyzkoušet stanovení citlivosti k antibiotikům u kmenů *Staphylococcus aureus* fenotypovými metodami a podílet se na interpretaci výsledků. Vyšetřované vzorky byly z důležitých klinických materiálů od pacientů s infekcí *Staphylococcus aureus*.

Dále jsem dostala k dispozici nashromážděná data za půl roku v období 1. 1. 2018 do 30. 6. 2018, která jsem využila k zodpovězení výzkumných otázek a také k vytvoření tabulek a následných grafů.

Všem zmíněným metodám předchází kultivace a identifikace daného bakteriálního kmene. Až teprve z čistého vyizolovaného bakteriálního kmene můžeme pracovat na vyšetření citlivosti k antibiotikům.



Obrázek 1: Čistý kmen *Staphylococcus aureus*, kultivovaný na krevním agaru. Zdroj: vlastní

4.1 Disková difuzní metoda (DDT)

Princip metody: Metoda je založena na difúzi antibiotických molekul z disku do agarózového média za tvorby koncentračního gradientu s klesající koncentrací směrem od disku. Určitá koncentrace antibiotika (ATB) potlačuje růst mikroba a na půdě se vytváří inhibiční zóna v okolí disku s ATB. Průměr inhibiční zóny se měří a slouží k posouzení citlivosti na dané antibiotikum. Posouzení se dělá podle srovnání s breakpointy průměrů inhibičních zón (BP – breakpointy citlivostí jsou hraniční hodnoty koncentrace ATB) v příloze (Příloha č. 1: Tabulka klinických breakpointů EUCAST) (Beranová, 2017)

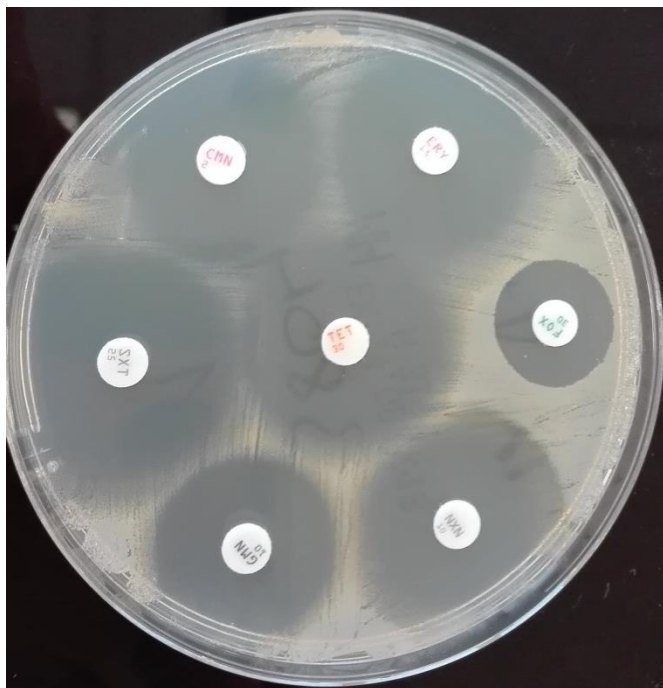
Breakpointy stanovuje European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) v základním dokumentu (Kahlmeter et al., 2003). Breakpointy nalezneme na webových stránkách <http://szu.cz/> a <http://www.eucast.org/>.

Pracovní postup:

1. Ve zkumavce s 2 ml sterilního fyziologického roztoku přímo rozetřeme kolonii čistého bakteriálního kmene (kultivuje se na krevním agaru), aby vznikla suspenze o hustotě, aby odpovídala stupni 0,5 McFarlandova (McF) zákalového standardu (ověření nejlépe pomocí fotometru nebo alternativně vizuálně).
2. Vatový tampon ponoříme do suspenze bez přitlačení na stěnu zkumavky a naočkujeme na celý povrch Mueller-Hintonova agaru (MH). Očkujeme ve třech směrech. Suspenzi inokula očkujeme nejlépe do 15 minut od přípravy.
3. Do 15 minut po inokulaci poklademe antibiotickými disky.
4. Vložíme do termostatu inkubovat při teplotě 35 ± 1 °C do druhého dne (18 ± 2 hodin) za normální atmosféry.

Hodnocení: Prohlédneme, zda byl dobře udělán roztěr inokula na plotnu, správně je rovnoměrný a splývavý nárůst. Zóny nesmí být okousané, ale ostré. Okraje zón odečítáme vizuálně (vzdálenost cca 30 cm). Odečítáme proti tmavému pozadí v odraženém světle, milimetrovým pravítkem, nebo posuvným měřítkem. Průměry zón

interpretujeme kvalitativně do kategorií citlivosti (C – citlivé, R – rezistentní) podle tabulky breakpointů na [www](http://www.eucast.org) (výše zmíněno) a v příloze (Příloha č. 1: Tabulka klinických breakpointů EUCAST).



Obrázek 2: Diskový difúzní test. Zdroj: vlastní

4.2 Minimální inhibiční koncentrace (MIC)

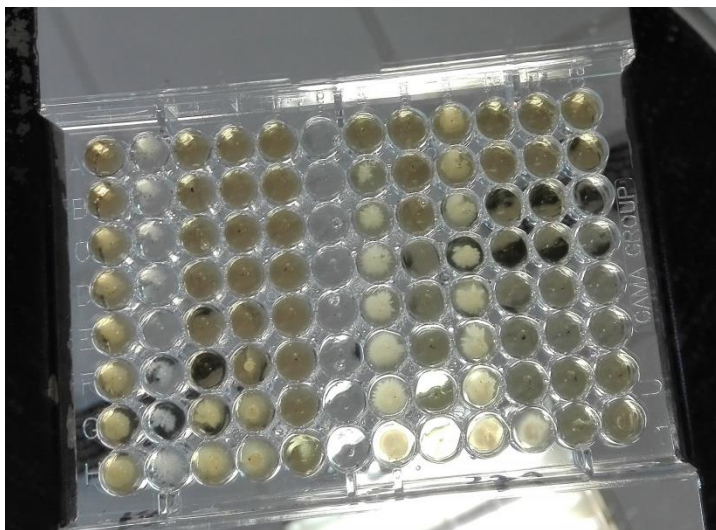
Princip metody: Metoda je založena na stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) v mikrotitrační destičce s antibiotiky v různých koncentracích. Inokulum vyšetřované bakterie se očkuje do jamek destičky, inkubuje se a následně odečítá hodnota nejnižší koncentrace antibiotika (MIC), které inhibuje růst viditelný okem (Beranová, 2017).

Pracovní postup:

1. Jako první si připravíme komerčně vyráběnou zmraženou mikrotitrační destičku s již naředěnými koncentracemi antibiotik, kterou necháme rozmraznout.

2. Do zkumavky se 2 ml Mueller-Hintonovy tekuté půdy si připravíme, jako u testu DDT, suspenzi bakterií o hustotě 0,5 stupňů McFarlandova zákalového standardu a necháme 4 hodiny inkubovat v termostatu.
3. Do čisté Petriho misky nalijeme 10 ml fyziologického roztoku a pipetou přidáme 400 μ l připravené suspenze.
4. Speciální pomůckou tzv. „ježek“, kterou hroty postavíme do připravené naředěné suspenze v Petriho misce a následně přenesu a vložíme hroty do mikrotitrační destičky, naočkujeme zkoumanou bakterii do testovacích zón.
5. Destičku zakryjeme víčkem a dáme to sáčku, abychom předešli vyschnutí.
6. Necháme inkubovat v termostatu při normální atmosféře 18 ± 2 hodin při 35 ± 1 °C.

Hodnocení: Destičky odečítáme proti zrcadlu pod světlem. Jako první kontrolujeme políčko 12 v rohu (kontrola růstu), vždy musí být pozitivní reakce tedy zákal. Dále hodnotíme přítomnost či nepřítomnost růstu v jamkách. MIC je definována jako nejnižší koncentrace ATB, která inhibuje viditelný růst bakterií. Hodnotí se podle tabulky breakpointů opět na stránkách www (výše zmíněno) a také v příloze (Příloha č. 1: Tabulka klinických breakpointů EUCAST).



Obrázek 3: Metoda MIC. Zdroj: vlastní

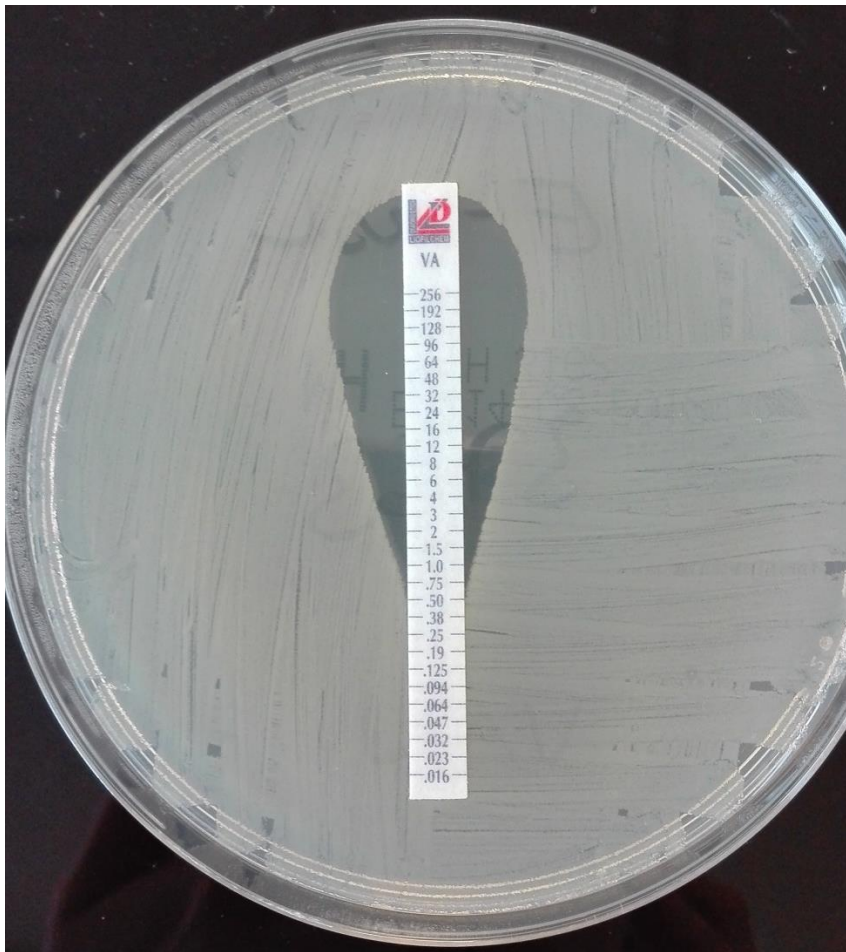
4.3 E-test

Princip metody: Je to komerční test, který je založen na stanovení minimální inhibiční koncentrace antibiotika pomocí diagnostického proužku, který je napuštěn logaritmicky se snižující koncentrací ATB. Metoda se odečítá podle hodnoty v místě průsečíku eliptické inhibiční zóny se stripem (Beranová, 2017).

Pracovní postup:

1. Vytvoříme inokulum podle McFarlandova zákalového standardu o hustotě 0,5.
2. Suspenzi inokula naočkujeme na celý povrch Mueller-Hintonovy půdy, podobně jako u DDT.
3. Na naočkovanou plotnu pokládáme komerčně vyrobené proužky (proužek).
4. Dáme inkubovat do termostatu za normální atmosféry do druhého dne (18±2 hod.) při 35±1 °C.

Hodnocení: Výsledek E-testu odečítáme na stupnici v místě průsečíku eliptické inhibiční zóny a stripu. Stanovujeme hodnotu MIC, pomocí breakpointů ATB na již zmíněných webových stránkách (výše změneno), popř. v příloze (Příloha č. 1: Tabulka klinických breakpointů EUCAST).



Obrázek 4: E-test, *Staphylococcus aureus* citlivý k vankomycinu

4.4 Speciální testy, zaměřené na detekci specifických mechanismů rezistence *Staphylococcus aureus*

4.4.1 Detekce MRSA

Jako screeningové vyšetření, u všech vzorků *Staphylococcus aureus* (STAU), pro vyhledávání MRSA kmenů nám slouží dva testy, DDT s diskem cefoxitinu (CXT) a speciální MRSA půda.

4.4.1.1 Disk CXT

Pracovní postup:

1. Citlivost stanovujeme pomocí diskové difúzní metody, kde použijeme standardně Mueller-Hintonův agar.
2. Připravíme si suspenzi bakteriálního kmene o hustotě, aby odpovídala stupni 0,5 McF a naočkujeme na celou plochu půdy (opět třemi směry).
3. Položíme disk cefoxitinu.
4. Dáme inkubovat při normální atmosféře, 18 ± 2 hodin, při 35 ± 1 °C.

Hodnocení: Druhý den se měří průměr inhibiční zóny v odraženém světle na spodní straně misky, umístěné na tmavém pozadí. Průměry musí být v rozmezí, které je uvedeno v tabulce EUCAST (Příloha č. 1: Tabulka klinických breakpointů EUCAST). Pokud je velikost zóny větší nebo rovna 22 mm, pak se kmeny označují jako citlivé (nesmí růst na MRSA-půdě) k oxacilinu a i k ostatním beta-laktamovým antibiotikům. Pokud je inhibiční zóna menší, jedná se o kmen MRSA. V inhibiční zóně se také pátrá po koloniích uvnitř zóny, které tu mohou být z důvodu kontaminace nebo kvůli expresi heterogenní rezistence k meticilinu.

4.4.1.2 MRSA-select

Speciální půda pro přímou identifikaci MRSA kmenů. Půda je selektivní, díky přítomné vysoké koncentrace soli, antibiotik a látek znemožňujících růst plísní, inhibuje růst mikrobů kromě MRSA kmenů. Identifikace je založena na průkazu specifické aktivity *Staphylococcus aureus*. Dochází k intenzivnímu růžovému zabarvení, díky štěpení chromogenního agaru.

Pracovní postup:

1. Uděláme roztěr (hádkovitý) buď přímo z vyšetřovaného vzorku, nebo se udělá suspenze bakterií ve fyziologickém roztoku, z té se pak vyočkuje na půdu MRSA-select.
2. Necháme inkubovat v termostatu za normální atmosféry, 18 ± 2 hodin, při 35 ± 1 °C.

Hodnocení: Hodnotíme vizuálně, pokud na půdě rostou kolonie zbarvené růžově, jedná se o kmen MRSA. MSSA na této půdě nerostou, bíle zde rostou KNS.



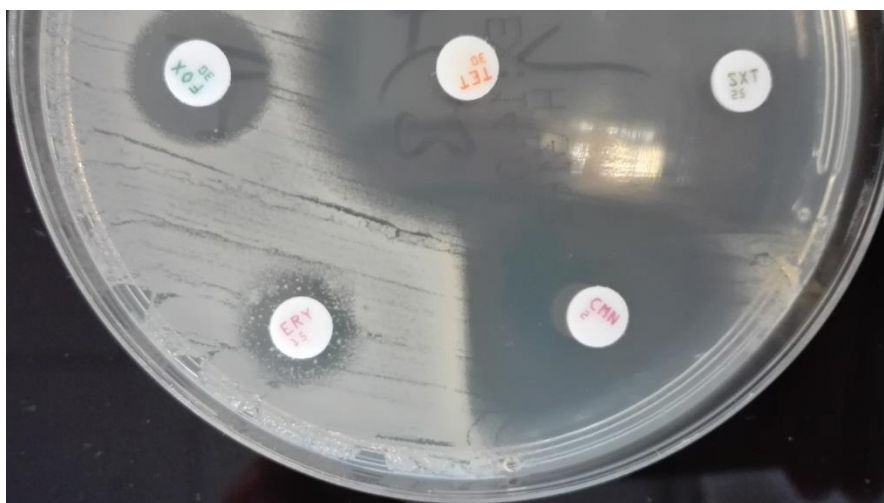
Obrázek 5: MRSA-select půda, růžová STAU, bílá KNS. Zdroj: vlastní

4.4.2 Detekce indukované rezistence ke klindamycinu

Indukovanou rezistenci ke klindamycinu lze detekovat metodou DDT (stejný pracovní postup), pomocí antagonizmu mezi klindamycinem a makrolidem. Abychom toho docílili, klademe disk s erytromycinem a klindamycinem vedle sebe ve vzdálenosti 12-20 mm od okraje ke kraji disků (Urbášková, 2018).

Hodnocení: Druhý den se měří průměr inhibičních zón v odraženém světle na spodní straně misky, umístěné na tmavém pozadí. Průměry musí být v rozmezí, které je uvedeno v tabulce v příloze (Příloha č. 1: Tabulka klinických breakpointů EUCAST). Kmen je k antibiotikům rezistentní, pokud je inhibiční zóna menší, než stanovuje tabulka. Pokud je zde zřetelný antagonismus mezi disky, tzn. deformovaná inhibiční

zóna kolem klindamycinu ve tvaru D (D-fenomén), kmen hodnotíme jako rezistentní s tímto komentářem: „Klindamycin lze použít ke krátkodobé léčbě méně závažných infekcí kůže či měkkých tkání, neboť se nepředpokládá vznik úplné rezistence“. Pokud zde není viditelný D-fenomén, výsledek hodnotíme podle klinických breakpointů. MIC by měla být vyšetřena u izolátů, které byly necitlivé při metodě DDT (Urbášková, 2017; Urbášková, 2018).



Obrázek 6: Indukovaná rezistence ke klindamycinu, D-fenomén. Zdroj: vlastní

4.4.3 Detekce producentů beta-laktamázy

K určení produkce beta-laktamázy používáme na DDT disk benzylpenicilinu. DDT je vhodnější než stanovení pomocí MIC.

Pracovní postup: Celkově je postup testu stejný jako u DDT s cefoxitinem (kap. 4.4.1.1) s tím rozdílem, že se na plotnu umísťuje disk benzylpenicilinu.

Hodnocení: Zónu benzylpenicilinu prohlížíme v procházejícím světle. Pokud je zóna s ostrými okraji a průměr inhibiční zóny menší než 26 mm, izolát označujeme jako rezistentní (je producentem enzymu penicilinázy). Pokud je zóna větší nebo rovna než 26 mm a okraje zóny jsou neostře, kmen označujeme jako citlivý k penicilinu, amoxicilinu, ampicilinu a piperacilinu (Urbášková, 2018).

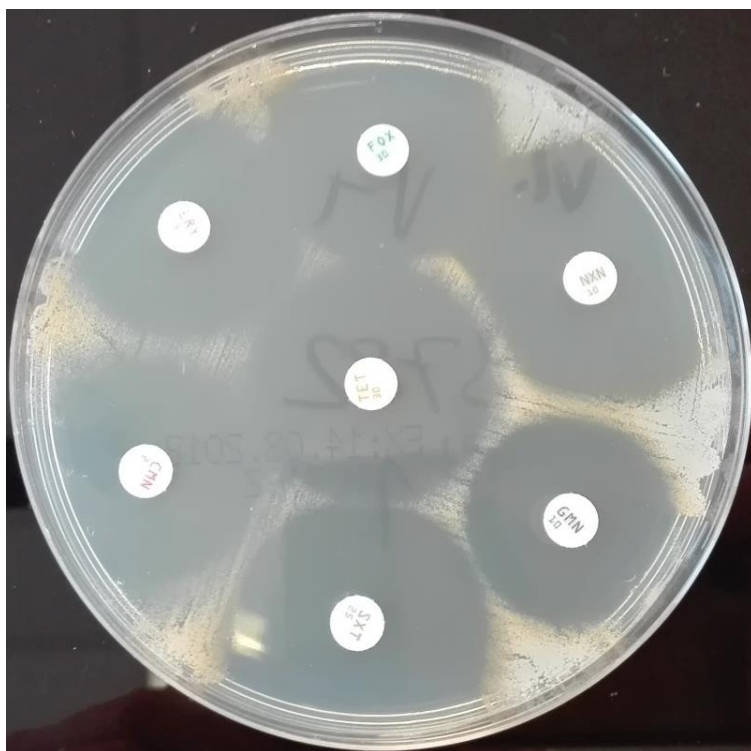
5 Výsledky

V první části výsledků ukáží nejčastěji se vyskytující antibiogramy, ale i ty které se vyskytují málo nebo vzácně. Budu zobrazovat metodu DDT.

V druhé části jsem pro svou práci měla k dispozici z laboratorního informačního systému data s výsledky vyšetření citlivosti k antibiotikům, za půl roku v období 1. 1. 2018 do 30. 6. 2018 od pacientů s infekcí *Staphylococcus aureus*. Vzorky byly vyšetřovány metodou diskového difúzního testu a metodou MIC, které jsem si vyzkoušela i s interpretací výsledků.

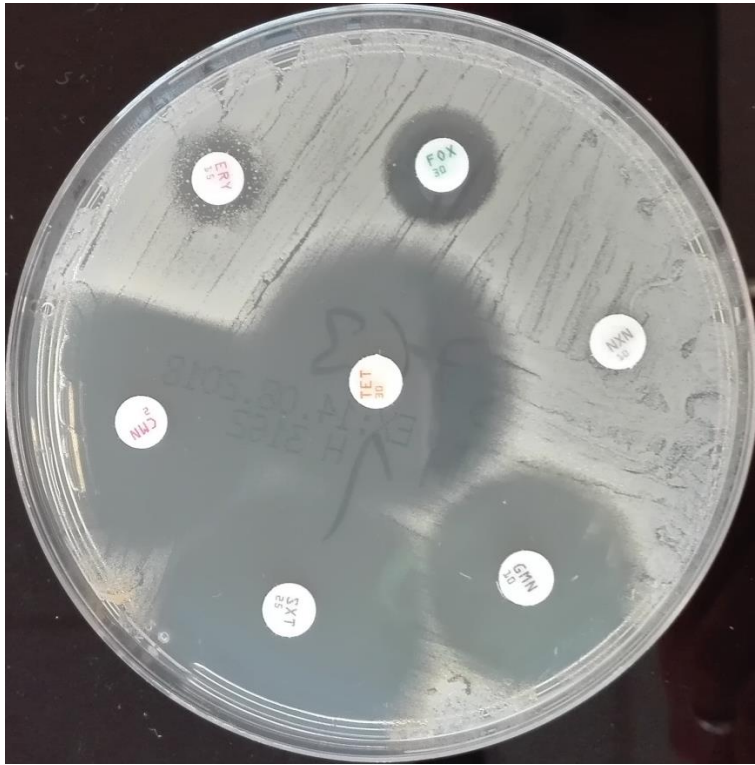
5.1 Vyšetření citlivosti metodou DDT

Na obrázku (obr. 7) vidíme nejčastější typ antibiogramu. Změřené inhibiční zóny antibiotik jsou stejné či větší než je limit pro citlivé kmeny uvedené v tabulce EUCAST.



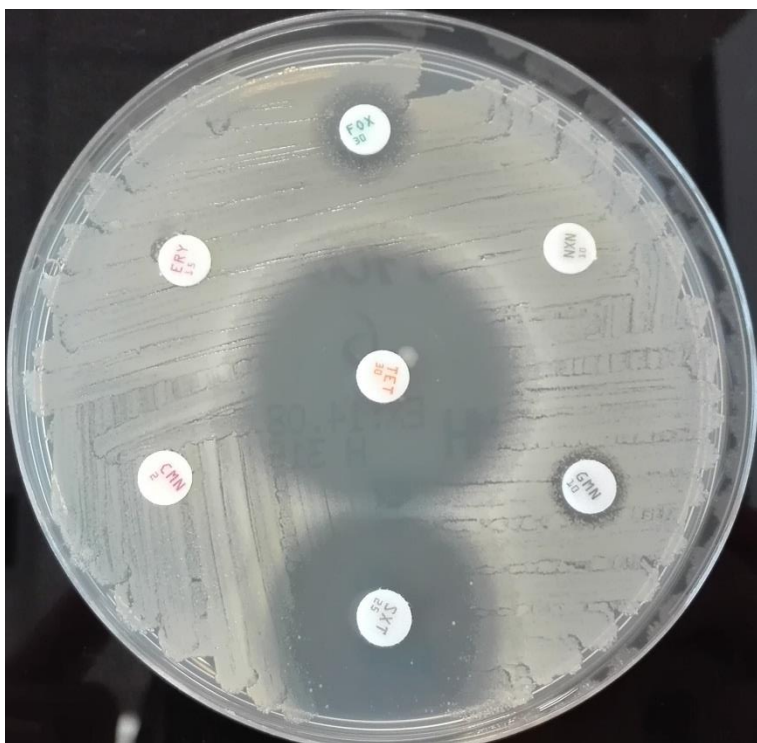
Obrázek 7: DDT – častý typ. Zdroj: vlastní.

Dále může vidět na obrázku (obr. 8) vzácnější typ antibiogramu. Jedná se o MRSA kmen. Inhibiční zóna kolem cefoxitinového (na obrázku FOX) disku je ≤ 22 mm a je přítomna indukovaná rezistence ke klindamycinu (D-fenomén).



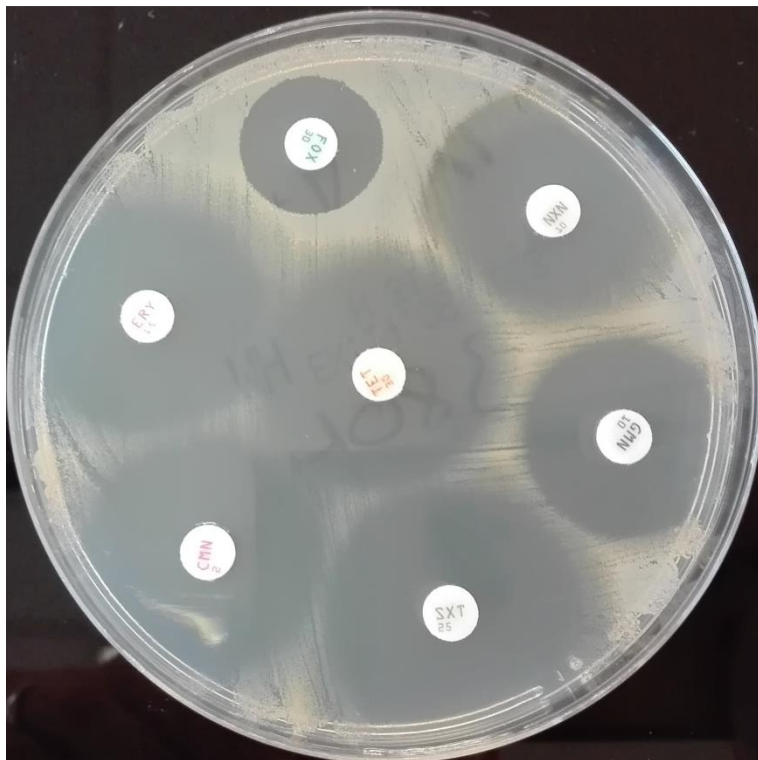
Obrázek 8: DDT-MRSA kmen + indukovaná rezistence ke klindamycinu. Zdroj: vlastní.

Další z vzácnějších typů antibiogramů ukazuje (obr. 9). Jedná se o MRSA kmen, kde je inhibiční zóna kolem cefoxitinového (FOX) disku opět ≤ 22 mm a dále vidíme, že kmen je rezistentní k většině antibiotik včetně aminoglykosidů. Citlivost je zachována u kotrimoxazolu (na obrázku SXT), což je vlastností většiny MRSA kmenů.



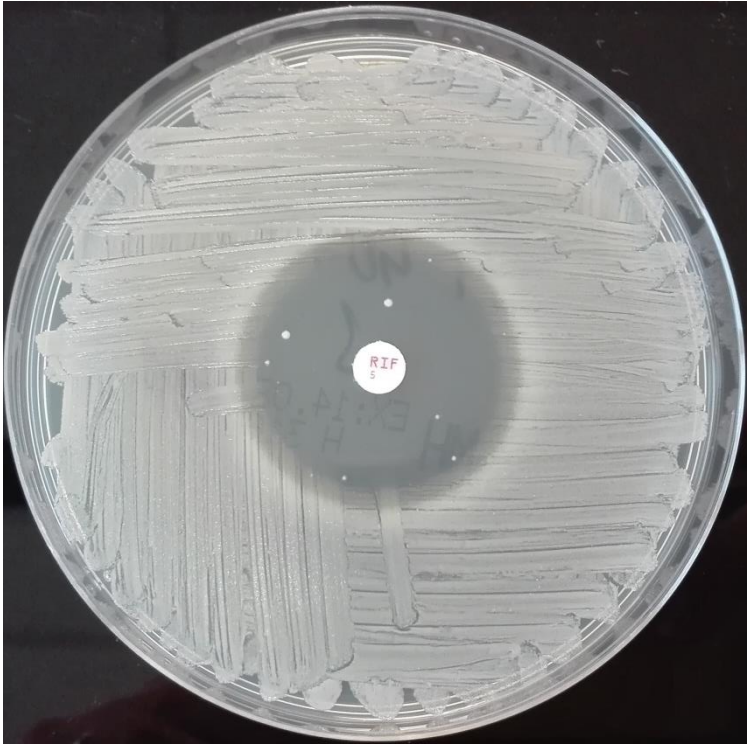
Obrázek 9: DDT – MRSA kmen. Zdroj: vlastní.

Vzácný typ antibiogramu na obrázku (obr. 10). Jedná se opět o MRSA kmen, inhibiční zóna kolem cefoxitinového (FOX) disku je ≤ 22 mm. Kmen je citlivý k většině antibiotik, což není častá vlastnost MRSA kmenů. Častější je sdružená rezistence i k dalším skupinám antibiotik.



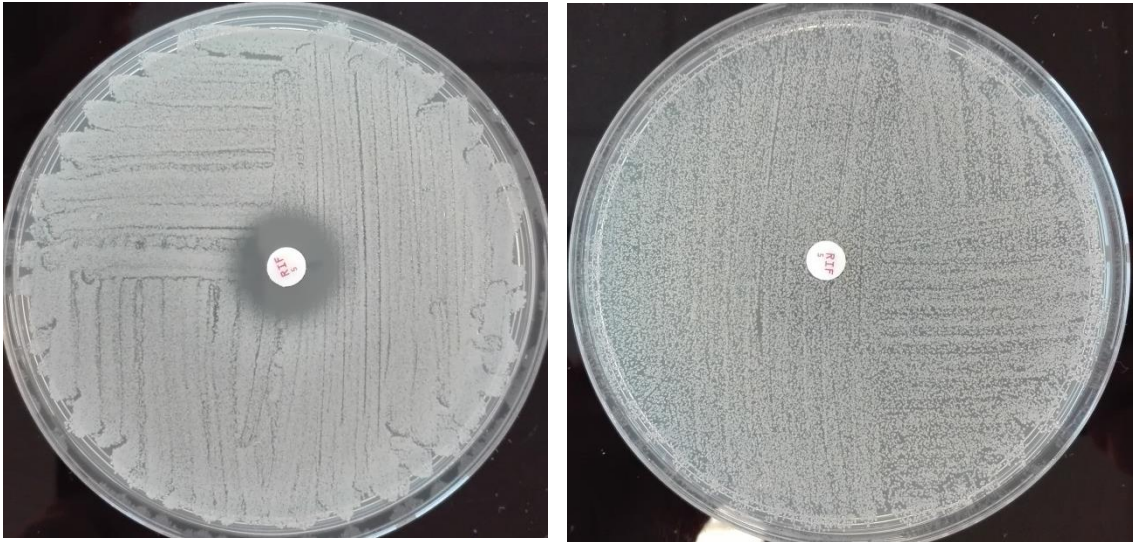
Obrázek 10: DDT – vzácný typ MRSA. Zdroj: vlastní.

Na obrázku (obr. 11) vidíme kolonie uvnitř inhibiční zóny kolem disku s rifampicinem (RIF). Je nutné tyto kolonie retestovat.



Obrázek 11: DDT – kolonie v inhibiční zóně. Zdroj: vlastní

Na následujících obrázcích (obr. 12, 13) je vidět průkaz rezistence k rifampicinu po retestování kolonií uvnitř inhibiční zóny u předešlého obrázku.



Obrázek 12, 13: DDT – retestace kolonií uvnitř zóny. Zdroj: vlastní.

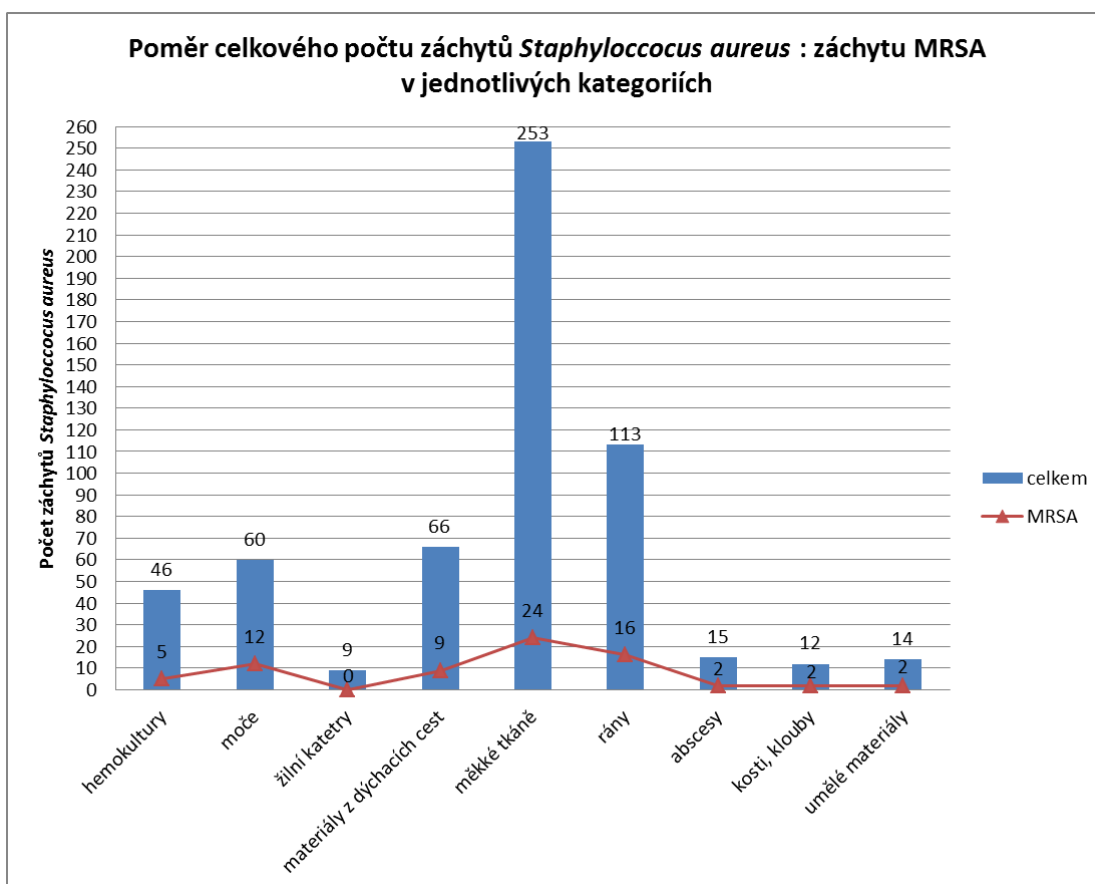
5.2 Celkové shrnutí výsledků z databáze

Celkový počet klinicky důležitých vzorků činil 588 nálezů *Staphylococcus aureus*. Důležité klinické materiály jsem rozdělila do několika skupin, podle materiálů které byly získány. Také jsem pro srovnání rozdělila kmen *Staphylococcus aureus* na MSSA–meticilin-senzitivní *Staphylococcus aureus* a MRSA-meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*, jelikož u těchto dvou byly největší rozdíly v citlivostech, které jsem si vyzkoušela v předchozí části. Všechna tato data jsem shrnula do přehledné tabulky (tab. 1) a grafu (obr. 14).

Tabulka 1: Četnosti nálezů MSSA a MRSA v jednotlivých kategoriích klinických materiálů.

kategorie	hemokultury	moče	žilní katetry	materiály z dýchacích cest	měkké tkáně	rány	abscesy	kosti, klouby	umělé materiály	CELKEM
MSSA	41	48	9	57	229	97	13	10	12	516
MRSA	5	12	0	9	24	16	2	2	2	72
celkem	46	60	9	66	253	113	15	12	14	588

Zdroj: vlastní



Obrázek 14: Poměr celkového počtu záchytů *Staphylococcus aureus* : záchytu MRSA v jednotlivých kategoriích. Zdroj: vlastní

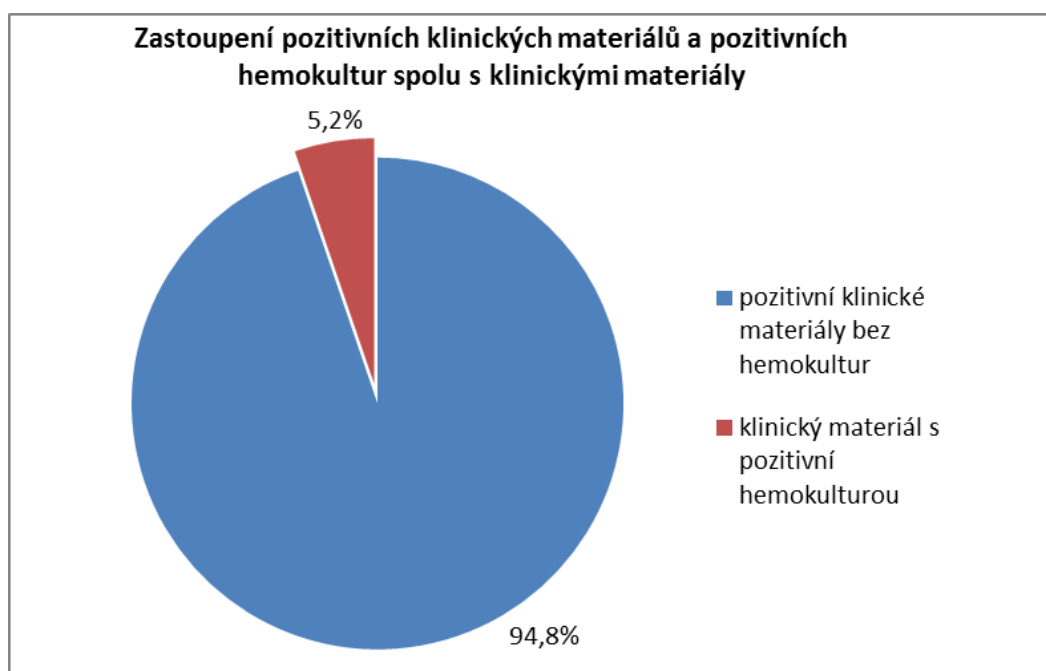
V tabulce (tab. 2) jsem vyobrazila celkový počet pozitivních klinických materiálů (bez hemokultur), bylo jich 542. Z těchto vzorků jsem zjišťovala, kolik bylo hlášeno, buď současně s klinickým materiálem pozitivních hemokultur, nebo až po upozornění positivity klinického materiálu a nabrání hemokultury, které pak byly pozitivní.

Tabulka 2: Počty pozitivních klinických materiálů a u nich současně pozitivní hemokultury.

	klinický materiál	hemokultury pozitivní s klinickým materiálem
moče	60	12
žilní katetry	9	1
materiály z dýchacích cest	66	3
měkké tkáně	253	7
rány	113	2
abscesy	15	1
kosti, klouby	12	2
umělé materiály	14	2
Celkem	542	30

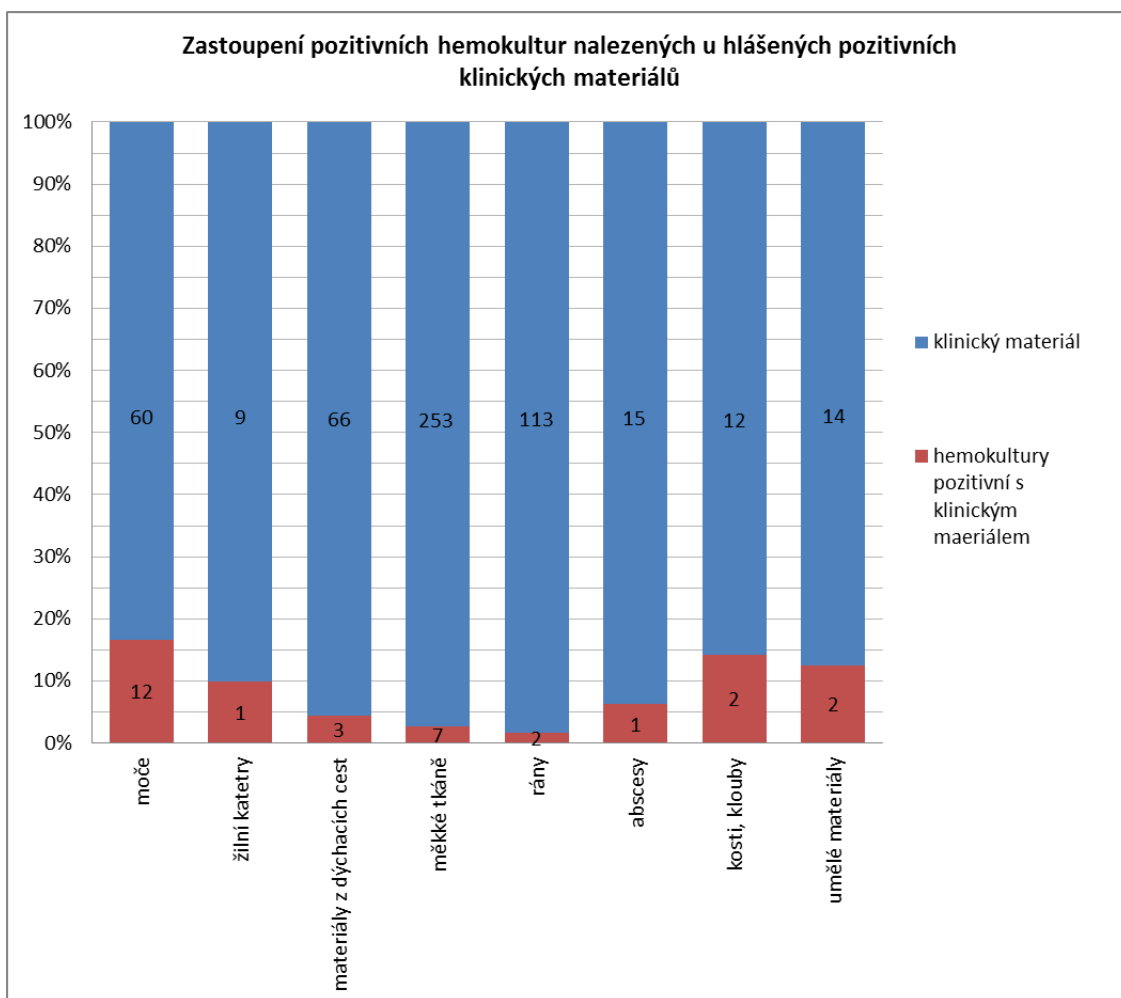
Zdroj: vlastní

V grafu (obr. 15) je uvedené zastoupení pozitivních hemokultur nalezených u současně nebo dříve hlášených pozitivních klinických materiálů. Zastoupení pozitivních hemokultur u klinických materiálů čítá 5,2 % ze všech pozitivních klinických materiálů (bez hemokultur).



Obrázek 15: Výsledek zastoupení pozitivních hemokultur u pozitivních klinických materiálů na infekci *Staphylococcus aureus*. Zdroj: vlastní

Další graf (obr. 16) ukazuje podrobné zastoupení pozitivních hemokultur u jednotlivých klinických vzorků. Z grafu je vidět, že nejvíce pozitivních hemokultur se nacházelo u předchozích pozitivních močí, procentuálně cca 17 %. Jako druhá byla nejvyšší pozitivita hemokultur u předchozích vzorků z kostí, kloubů cca 14 %. Následovaly umělé materiály cca 13 %, žilní katetry cca 10 %, abscesy cca 6 %, materiály z dýchacích cest cca 4 %, měkké tkáně cca 3 % a rány s cca 2 %.



Obrázek 16: Výsledky zastoupení pozitivních hemokultur u současně pozitivních klinických materiálů. Zdroj: vlastní

6 Diskuse

V praktické části mé práce jsem se jako první věnovala vyšetření citlivostí u kmene *Staphylococcus aureus* ze závažných klinických materiálů, kde tato ryze laboratorní část práce navazovala na práci s daty a tím i důležitou interpretaci výsledků u jednotlivých klinických materiálů a dále k ověření nebo vyvrácení hypotéz.

V první části jsem vyobrazila různé typy antibiogramů, které se objevují u metody vyšetření diskovým difúzním testem. Některé z antibiogramů se vyskytovaly velmi často (např. kmeny byl citlivý ke všem testovaným ATB), ale také se vyskytovaly ty, které jsou vzácnější, nebo dokonce velmi vzácné (např. antibiogramy u MRSA kmenů), samozřejmě jsem se ve své praktické části setkala s mnohými dalšími, které jsem nevyobrazila. Antibiogramy můžu jednoduše rozdělit do dvou základních skupin, podle toho jestli byly citlivé nebo rezistentní k cefoxitinu (beta-laktamu) a na základě toho je zařadit jako MSSA nebo MRSA kmen.

Celkem jsem měla k dispozici 588 vzorků *Staphylococcus aureus* pozitivních. Z tohoto souboru bylo 72 vzorků MRSA pozitivních, což si myslím, že není úplně zanedbatelný počet a možná by měl být předmětem sledování.

Abych se dopracovala k výsledkům potřebným k ověření nebo vyvrácení hypotéz, musela jsem interpretovat výsledky jednotlivých klinických materiálů.

Hemokultury - Počet pozitivních hemokultur s nálezem STAU za vybrané časové období bylo 46. Současně s těmito hemokulturami byl poslán i klinický materiál nejrozličnějšího charakteru. Klinický materiál byl v některých případech poslán dříve než vlastní hemokultury, v ostatních případech byl poslán až po upozornění na pozitivní hemokulturu u pacienta lékařem z mikrobiologického oddělení. Z celkového počtu 46 hemokultur s nálezem STAU bylo současně pozitivních i 30 klinických vzorků jako moče, abscesy, materiály z dýchacích cest, žilní katetry, punktáty z kloubů, stěry z ran či z měkkých tkání. Z těchto nálezů jsem zjistila výsledek, kolik bylo pozitivních hemokultur u současně nebo dříve hlášených pozitivních klinických materiálů, výsledek

činil 5,2 %. Z tohoto nálezu vyplývá, že nález STAU v hemokultuře znamená vždy podnět pro důkladné vyšetření pacienta. Kontaminace při odběru je jistě možná, ale musí být vyloučeny všechny ostatní možné příčiny nálezu STAU v hemokultuře pacienta (endokarditis, osteomyelitis, absces, kolonizace CŽK s bakteriemi) a musí být zároveň posouzen stav pacienta klinický i laboratorní.

Moče - Počet pozitivních nálezů STAU v moči bylo 60. S pozitivním nálezem hemokultur bylo současně pozitivních i 12 močí, tedy procentuálně 17 % a to je největší zastoupení ze stanovovaných kategorií. Musíme tedy myslet na to, že nález STAU v moči musí být vždy interpretován s velkou opatrností a je vždy důvodem k pečlivé diagnostice. STAU nepatří k běžným vyvolavatelům infekcí urogenitálního traktu. Nejpravděpodobnější příčina stafylokokové bakteriurie je hematogenní. Lékař klinik by měl být o tomto nálezů informován, mělo by být vysloveno podezření na dg. stafylokokové sepsy.

Nález STAU v moči může ale znamenat i kontaminaci z oblasti zevního genitálu. Z těchto důvodů je velmi důležitá komunikace mezi mikrobiologem a klinikem. Nutno vždy přihlížet i k ostatním parametrům u pacienta, klinickým (klinický stav pacienta) i laboratorním (zánětlivé parametry). Je-li stav pacienta závažný, je zde odběr hemokultur nutný. Možná, ale vzácná, je i stafylokoková cystitis vzniklá nejčastěji v souvislosti s katetrizací močového měchýře.

Žilní katetry - Pozitivních nálezů STAU bylo 9. Z toho u jednoho nálezu byla současně pozitivní i hemokultura (cca 10%). Nález STAU na žilním katetru je nález opět závažný. Znamená vždy vysokou pravděpodobnost (70 – 80 %) přestupu STAU do krve i tím infekci krevního řečiště a možnost vzniku následných stafylokokových komplikací, a to bez ohledu na počet kolonií přítomných na vyjmutém katetru. Zde je odběr hemokultur nutný vždy.

Materiály z dýchacích cest (TAS- tracheální aspirát, sputum, hrudní punktát, BAL-bronchoalveolární laváž) - U těchto materiálů byl celkový nález 66 a z toho 3 cca 4 %

byly hlášeny s pozitivní hemokulturou. Nález STAU v materiálech z dýchacích cest může znamenat pouhou kolonizaci, ale také závažný stav (pneumonie, absces). Zde je vždy nutno přihlížet k dalším okolnostem, jako je mikroskopické vyšetření materiálu z dýchacích cest, klinický stav pacienta, zobrazovací vyšetření a laboratorní parametry. Stafylokoková pneumonie je nejčastěji nozokomiální. Je-li komunitní, může se jednat o pneumonii komplikující virový infekt či komplikující dosud neprokázanou endokarditis (pravé srdce). Při závažném stavu pacienta je i zde odběr hemokultur nutný.

Měkké tkáně, rány, abscesy - Celkově čítala tato kategorie nejvíce vzorků 371. Měkkých tkání bylo 253 a u 7 byla pozitivní i hemokultura, tedy výskyt v cca 3 %. Infekcí ran bylo 113, z nichž u 2 (cca 2 %) byla pozitivní hemokultura. Infekce měkkých tkání a ran může a nemusí být spojena se stafylokokovou sepsí. Odběr hemokultur se provádí pouze při závažnějším stavu pacienta podle klin. stavu pacienta a laboratorních známek zánětu.

U abscesů činil celkový počet 15 pozitivních a z toho jeden vzorek měl pozitivní i hemokulturu cca 6 %. U abscesů hlubokých tkání je hemokultura někdy to jediné, co máme k dispozici, proto je moc důležitá. Pokud je možno peroperačně získat hnis z abscesu, měl by se posílat současně s hemokulturou.

Kostí a klouby - Celkově STAU pozitivních materiálů bylo 12, z toho se hlásily 2 pozitivní hemokultury, procentuálně 14 %. Infekce kostí a kloubů jsou opět infekce závažné a hemokultura je opět často to jediné, co lze od pacienta získat (hlavně u osteomyelitid a spondylodiscitid).

Infekce umělých materiálů - Infekcí STAU u umělých materiálů bylo 14. Pozitivních hemokultur se v tomto případě hlásily 2, tedy cca 13% ze všech infekcí, zjištěných u tohoto materiálu. Jedná-li se o infekce umělých materiálů přítomných v krevním řečišti (umělá chlopeč, kardiostimulátor), pak je hemokultura to jediné, co od pacienta můžeme získat. Při podezření na infekci TEP je opět hemokultura na počátku to jediné,

co lze u pacienta odebrat, Infekce bývají většinou časně po implantaci TEP a tak klin. obraz u pacienta bývá bouřlivý.

Materiály z oblasti CNS se v KKN nezpracovávají z důvodu nepřítomnosti neurochirurgie, proto jsem je nemohla zařadit do klinických materiálů. V běžných mozkomíšních mocích při podezření na komunitní meningitidu STAU nenalzáme.

Z výše zjištěných výsledků mohu říci, že hypotéza č. 1 (Předpokládám, že má smysl u každého nálezu kmene *Staphylococcus aureus* v závažném klinickém materiálu odebrat u pacienta i hemokultury) byla potvrzená, ale vždy je také nutné přihlížet ke klinickým a laboratorním parametrům pacienta.

Hypotéza č. 2 (Předpokládám, že s počtem pozitivních nálezů kmene *Staphylococcus aureus* ve vzorcích moči bude současně procentuálně nejvíce pozitivních hemokultur ve srovnání s počtem nálezů kmenů *Staphylococcus aureus* v ostatních klinických materiálech) byla taktéž potvrzená.

7 Závěr

Téma mé práce bylo sice ryze laboratorní, naučit se interpretovat výsledky stafylokokových citlivostí a dokázat je interpretovat i před komisí, přesto jsem z intermitentního pobytu na oddělení mikrobiologie Karlovarské krajské nemocnice pochytila mnoho zajímavých závěrů i klinických, které jsem chtěla v této práci interpretovat a dokázat.

Soubor, který jsem vybrala pro to, abych mohla potvrdit či vyvrátit hypotézy, činil 542 vzorků klinických materiálů bez hemokultur (s nimi 588). Sledovala jsem, kolik procent bylo pozitivních hemokultur u současně nebo dříve hlášených pozitivních klinických materiálů. Výsledek byl 5,2 % pozitivních hemokultur. Procento pozitivních hemokultur by bylo daleko větší, kdyby se s klinickými materiály posílaly současně i hemokultury. Konkrétně nejvíce pozitivních hemokultur se nacházelo u předchozích pozitivních vzorků močí, procentuálně cca 17 %.

Z těchto zjištění mohu říci, že jak hypotéza č. 1 (Předpokládám, že má smysl u každého nálezu kmene *Staphylococcus aureus* v závažném klinickém materiálu odebrat u pacienta i hemokultury.), tak hypotéza č. 2 (Předpokládám, že s počtem pozitivních nálezů kmene *Staphylococcus aureus* ve vzorcích močí bude současně procentuálně nejvíce pozitivních hemokultur ve srovnání s počtem nálezů kmenů *Staphylococcus aureus* v ostatních klinických materiálech.) byly obě potvrzeny i na základě interpretace výsledků jednotlivých materiálů v diskusní části.

Závěrem bych celkově chtěla říct, že u každého závažnějšího stavu, který je podezřelý ze stafylokokové infekce, by měl být na 1. místě indikován odběr hemokultur. Odběr hemokultur lze indikovat i dodatečně při nálezů STAU z klinického materiálu, ale musí být nabrány. Pozitivní hemokultury často lékaře navedou a pomůžou ke stanovení diagnózy. Tento odběr hemokultur je velmi důležitý, protože nález STAU v hemokultuře, byť i krátkodobý (bakteriémie z ČŽK), i když celkové klinické příznaky a laboratorní markery rychle odezní, je závažný z důvodu možných komplikací (infekce

kostí a kloubů, infekce um. materiálů, metastatické abscesy v orgánech, septická tromboflebitis), jelikož je STAU enzymaticky vybaven (plasmakoaguláza, hyaluronidáza, adheziny) pro uchycení se ve tkáních a orgánech a má velkou schopnost vytvářet abscesy.

Hemokultury je tedy nutné odebrat při nález *Staphylococcus aureus* v důležitém klinickém materiálu také proto, že stafylokokové sepse se léčí jinak než pouhý lokalizovaný zánět, konkrétně baktericidním antibiotikem, vždy parenterálně a také se léčí daleko déle.

Při závažných stafylokokových infekcích se tedy odběr hemokultur od pacienta ukazuje jako nutnost a jako povinnost odběru hemokultur pacientovi je nález kmene *Staphylococcus aureus* ve vzorku moči.

8 Seznam použitých zdrojů

1. BEDNÁŘ, Marek. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil, 1996. ISBN 80-238-0297-6.
2. BENEŠ, Jiří. *Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití*. Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 978-80-271-0636-3.
3. BENEŠ, Jiří. *Infekční lékařství*. Praha: Galén, c2009. ISBN 978-80-7262-644-1.
4. DERESINSKI, S. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Evolutionary, Epidemiologic, and Therapeutic Odyssey. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 2005, **40**(4), 562-573 [cit. 2018-03-18]. DOI: 10.1086/427701. ISSN 1058-4838. Dostupné z: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/427701>
5. DEURENBERG, R. H., C. VINK, S. KALENIC, A. W. FRIEDRICH, C. A. BRUGGEMAN a E.E. STOBBERINGH. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. 2007, **13**(3), 222-235 [cit. 2017-11-27]. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2006.01573.x. ISSN 1198743X. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14627403>
6. DINGES, Martin M., Paul M. ORWIN a Patrick M. SCHLIEVERT. *Exotoxins of Staphylococcus aureus* [online]. 2000, **13**(1), 16–34 [cit. 2018-03-25].
7. GARRITY, George M., Julia A. BELL a Timothy G. LILBURN. *Taxonomic Outline of the Prokaryotes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Edition* [online]. Release 5.0. Springer-Verlag, 2004, , - [cit. 2018-11-20]. DOI: 10.1007/bergeysoutline200405.

8. GENÇ, Yeliz, Reşit ÖZKANCA a Yunus BEKDEMİR. Antimicrobial activity of some sulfonamide derivatives on clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* [online]. 2008, 7(1), 17- [cit. 2018-01-20]. DOI: 10.1186/1476-0711-7-17. ISSN 1476-0711. Dostupné z: <http://ann-clinmicrob.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-0711-7-17>
9. GOERING, Richard V., Hazel M. DOCKRELL, Mark A. ZUCKERMAN a Peter L. CHIODINI, JULÁK, Jaroslav, ed. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. 5. vydání. Přeložil Jan BOBEK, přeložil Renáta ČERMÁKOVÁ, přeložil Karel HOLADA, přeložil Zora MĚLKOVÁ, přeložil Tibor MOŠKO, přeložil Jan NOVÁK, přeložil Ludmila PROKEŠOVÁ, přeložil Jiřina SUCHANOVÁ. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2016. ISBN 978-80-7387-928-0.
10. GREENWOOD, David, Richard C. B. SLACK a John Forrest PEUTHERER. *Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. Vyd. 1., čes. Praha: Grada, 1999. ISBN 8071693650.
11. GRUNDMANN, Hajo, Marta AIRES-DE-SOUSA, John BOYCE a Edine TIEMERSMA. Emergence and resurgence of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *The Lancet* [online]. 2006, 368(9538), 874-885 [cit. 2018-03-02]. DOI: 10.1016/S0140-6736(06)68853-3. ISSN 01406736. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673606688533>
12. HAVLÍK, Jiří. *Infekční nemoci*. 2., rozš. vyd. Praha: Galén, 2002. ISBN 80-726-2173-4.
13. HAVLÍK, Jiří. Význam makrolidových antibiotik. *Zdravotnické noviny: příloha: Lékařské listy*. 2008, (5), 7–9.

14. JINDRÁK, Vlastimil, Dana HEDLOVÁ a Pavla URBÁŠKOVÁ. *Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici*. Praha: Mladá fronta, 2014. Aeskulap. ISBN 9788020428158.
15. KAHLMETER, G. European harmonization of MIC breakpoints for antimicrobial susceptibility testing of bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 2003, **52**(2), 145-148 [cit. 2018-01-14]. DOI: 10.1093/jac/dkg312. ISSN 1460-2091. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkg312>
16. LOWY, Franklin D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Investigation* [online]. 2003, **111**(9), 1265-1273 [cit. 2018-01-26]. DOI: 10.1172/JCI18535. ISSN 0021-9738. Dostupné z: <http://www.jci.org/articles/view/18535>
17. MAKGOTLHO, Phuti E., Marleen M. KOCK, Anwar HOOSEN, Ruth LEKALAKALA, Shaheed OMAR, Michael DOVE a Marthie M. EHLERS. Molecular identification and genotyping of MRSA isolates. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* [online]. 2009, **57**(2), 104-115 [cit. 2017-12-21]. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2009.00585.x. ISSN 09288244. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femspd/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-695X.2009.00585.x>
18. MAREK, Josef. *Farmakoterapie vnitřních nemocí*. 4., zcela přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2010. ISBN 9788024726397.
19. MURRAY, Patrick R. a Ellen Jo. BARON. *Manual of clinical microbiology*. 8th ed. Washington, D.C.: ASM Press, c2003. ISBN 15-558-1255-4.

20. PANTOSTI, Annalisa, Andrea SANCHINI a Monica MONACO. Mechanisms of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Future Microbiology* [online]. 2007, **2**(3), 323-334 [cit. 2018-05-13]. DOI: 10.2217/17460913.2.3.323. ISSN 1746-0913. Dostupné z: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/17460913.2.3.323>
21. PELEG, Anton Y., Spiros MIYAKIS, Doyle V. WARD, et al. Whole Genome Characterization of the Mechanisms of Daptomycin Resistance in Clinical and Laboratory Derived Isolates of *Staphylococcus aureus*. *PLoS ONE* [online]. 2012, **7**(1), e28316- [cit. 2018-02-22]. DOI: 10.1371/journal.pone.0028316. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0028316>
22. PETRÁŠ, Petr. Nový „český“ stafylokok, *Staphylococcus microti*. *ZPRÁVY EPIDEMIOLOGIE A MIKROBIOLOGIE (SZÚ, PRAHA)*. 2010, **19**(1-2), 37-39.
23. PETRÁŠ, Petr. ORIDES – orientační identifikace koaguláza negativních stafylokoků. *ZPRÁVY EPIDEMIOLOGIE A MIKROBIOLOGIE (SZÚ, PRAHA)*. 2010, **19**(12), 373-378.
24. RAYNER, C. a W. J. MUNCKHOF. Antibiotics currently used in the treatment of infections caused by *Staphylococcus aureus*. *Internal Medicine Journal* [online]. 2005, **35**(s2), S3-S16 [cit. 2018-04-07]. DOI: 10.1111/j.1444-0903.2005.00976.x. ISSN 1444-0903. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1444-0903.2005.00976.x>
25. ROZSYPAL, Hanuš. *Základy infekčního lékařství*. V Praze: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 2015. ISBN 9788024629322.
26. RYŠKOVÁ, Olga. *Mikrobiologie pro studující zubního lékařství*. V Praze: Univerzita Karlova, 2004. ISBN 80-246-0834-0.

27. SHARMA, Hema, Debra SMITH, Claire E. TURNER, et al. Clinical and Molecular Epidemiology of Staphylococcal Toxic Shock Syndrome in the United Kingdom. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 2018, **24**(2), - [cit. 2018-07-02]. DOI: 10.3201/eid2402.170606. ISSN 1080-6040. Dostupné z: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/24/2/17-0606_article.htm
28. SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Grada, 2014. Sestra (Grada). ISBN 9788024747712.
29. TENOVER, Fred C. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *The American Journal of Medicine* [online]. 2006, **119**(6), S3-S10 [cit. 2018-05-01]. DOI: 10.1016/j.amjmed.2006.03.011. ISSN 00029343. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002934306003421>
30. TRISTAN, Anne, Yvonne BENITO, Roland MONTSERRET, et al. The Signal Peptide of Staphylococcus aureus Pantone Valentine Leukocidin LukS Component Mediates Increased Adhesion to Heparan Sulfates. *PLoS ONE* [online]. 2009, **4**(4), e5042- [cit. 2017-11-25]. DOI: 10.1371/journal.pone.0005042. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0005042>
31. URBÁŠKOVÁ, Pavla. Tabulky breakpointů EUCAST pro interpretaci MIC a průměrů inhibičních zón. *Státní zdravotní ústav* [online]. Praha, 2018, 1. 2. 2018 [cit. 2018-06-22]. Dostupné z: <http://szu.cz/tabulky-breakpointu-eucast?highlightWords=eucast>

32. URBÁŠKOVÁ, Pavla. Návodů EUCAST pro detekci mechanismů rezistence a specifické rezistence s klinickým a/nebo epidemiologickým významem. *Státní zdravotní ústav* [online]. Praha, 2017, 18. 10. 2017 [cit. 2018-06-10]. Dostupné z:
http://szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/EUCAST/EUCAST_mechanizmy_rezistence_v2_2017.pdf
33. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun, 2005. ISBN 80-86850-00-5.
34. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, c2010. ISBN 9788086850047.
35. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.
36. WOLFMEIER, Heidi, Sarah C. MANSOUR, Leo T. LIU, Daniel PLETZER, Annette DRAEGER, Eduard B. BABIYCHUK a Robert E. W. HANCOCK. Liposomal Therapy Attenuates Dermonecrosis Induced by Community-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus by Targeting α -Type Phenol-Soluble Modulins and α -Hemolysin. *EBioMedicine* [online]. 2018, **33**, 211-217 [cit. 2018-06-29]. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.06.016. ISSN 23523964. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352396418302238>
37. BERANOVÁ, Alena. *SOPV OKMKV 015: Mikrobiologické vyšetření citlivosti*. Karlovy Vary, 2017.

9 Přílohy

Příloha č. 1: Tabulka klinických breakpointů EUCAST v. 8.0, platná od 2018-01-01

Rozdělené na 6 částí.

Zdroj: (Urbášková, 2018)

Tabulka breakpointů - část 1

Staphylococcus spp.

Vyšetření MIC (bujónová mikrodiluční metoda podle standardu ISO 20776-1 s výjimkou fosfomycinu, který se vyšetřuje agarovou diluční metodou).
 Půda: Mueller-Hinton bujón.
 Inokulum: 5×10^5 CFU/ml.
 Inkubace: Zakryté panely (desičky), normální atmosféra, 35 ± 1 °C, 18 ± 2 h.
 Odečítání: Není-li stanoveno jinak, pak MIC se odečítá jako nejnižší koncentrace, která kompletně inhibuje viditelný růst.
 Kontrola kvality: *Staphylococcus aureus* 29213 (CNCTC 5480, CCM 4223). Pro antibiotika, která tento kontrolní kmen nezahrnuje, viz EUCAST Tabulky pro kontrolu kvality.

Tabulka klinických breakpointů EUCAST v. 8.0, platná od 2018-01-01

Disková difuze (Standardizovaná disková difuzní metoda EUCAST).
 Půda: Mueller-Hinton agar.
 Inokulum: McFarland 0,5.
 Inkubace: Normální atmosféra, 35 ± 1 °C, 18 ± 2 h.
 Odečítání: Není-li stanoveno jinak, pak průměr inhibiční zóny se měří od okrajů nevýkazujících růst v odraženém světle na spodní straně misky, umístěné na tmavém pozadí (s výjimkou penicilinu a linezolidu, viz níže)
 Kontrola kvality: *Staphylococcus aureus* 29213 (CNCTC 5480, CCM 4223). Pro antibiotika, která tento kontrolní kmen nezahrnuje, viz EUCAST Tabulky pro kontrolu kvality.

Antibiotikum	Breakpoint MIC (mg/l)		Obsah disku (µg)	Breakpoint průměru zóny (mm)		Poznámky
	C ≤	R >		C ≥	R <	
Peniciliny¹						
<i>Benzylpenicilin, S. aureus</i>	0,125 ¹	0,125 ¹	1 J	26 ^{A,B}	26 ^{A,B}	Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC.
<i>Benzylpenicilin, S. lugdunensis</i>	0,125 ¹	0,125 ¹	1 J	26 ^A	26 ^A	Písmena se vztahují k diskové difuzní metodě.
<i>Benzylpenicilin, koaguláza-negativní stafylokoky</i>	- ^{1,2}	- ^{1,2}		Poznámka ^{A,C}	Poznámka ^{A,C}	1/A. Většina stafylokoků produkuje penicilinázu a je rezistentních k benzylpenicilinu, fenoxymetylpenicilinu, ampicilinu, amoxicilinu, piperacilinu a tikarcilinu. Stafylokoky citlivé k benzylpenicilinu a k cefoxitinu jsou k více uvedeným antibiotikům citlivé.
<i>Ampicilin, S. saprophyticus</i>	Poznámka ¹	Poznámka ¹	2	18 ^{A,B}	18 ^{A,B}	Nízké účinnosti perorálních forem, zejména fenoxymetylpenicilinu, je neléčí. Izoláty rezistentní k benzylpenicilinu, ale citlivé k cefoxitinu, jsou citlivé ke kombinacím beta-laktamů s inhibitory, k isoxazolipenicilinu (oxacilinu, kloxacilinu, difloxacinu, flukloxacilinu), nafcilinu a k mnoha cefalosporinům. Izoláty rezistentní k cefoxitinu jsou – s výjimkou cefarolinu a cefbiprolu – rezistentní ke všem betalaktamům.
Ampicilin-sulbaktam	Poznámka ^{1,3}	Poznámka ^{1,3}		Poznámka ^A	Poznámka ^A	2/C. V současné době není k dispozici metoda ke spolehlivé detekci penicilinázy u koaguláza-negativních stafylokoků.
Amoxicilin	Poznámka ^{1,3}	Poznámka ^{1,3}		Poznámka ^{A,D}	Poznámka ^{A,D}	3/D. Kmeny <i>S. saprophyticus</i> citlivé k ampicilinu jsou mecA negativní a citlivé k ampicilinu, amoxicilinu a k piperacilinu (včetně kombinací s inhibitory beta-laktamázy).
Amoxicilin-klavulanová kys.	Poznámka ^{1,3}	Poznámka ^{1,3}		Poznámka ^A	Poznámka ^A	4. <i>S. aureus, S. lugdunensis</i> a <i>S. saprophyticus</i> s hodnotami MIC oxacilinu > 2 mg/l jsou rezistentní k oxacilinu obvykle v důsledku přítomnosti genu mecA nebo mecC. Odpovídající MIC oxacilinu pro koaguláza-negativní stafylokoky jiné než <i>S. lugdunensis</i> a <i>S. saprophyticus</i> je > 0,25 mg/l.
Piperacilin	Poznámka ^{1,3}	Poznámka ^{1,3}		Poznámka ^{A,D}	Poznámka ^{A,D}	
Piperacilin-tazobaktam	Poznámka ^{1,3}	Poznámka ^{1,3}		Poznámka ^{A,D}	Poznámka ^{A,D}	
Tikarcilin	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Tikarcilin-klavulanová kys.	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Temocilin	-	-		-	-	
<i>Fenoxymetylpenicilin, S. aureus</i>	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
<i>Fenoxymetylpenicilin, koaguláza-negativní stafylokoky</i>	- ^{1,4}	- ^{1,4}		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Oxacilin⁴	Poznámka ^{1,4}	Poznámka ^{1,4}		Poznámka ^{A,C}	Poznámka ^{A,C}	
Cloxacilin	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	

Tabulka breakpointů - část 2

Antibiotikum	Breakpoint MIC (mg/l)		Obsah disku (µg)	Breakpoint průměru zóny (mm)		Poznámky
	C ≤	R >		C ≥	R <	
Dicloxacilin	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	B. Disková difúzní metoda s benzylpenicilinem je k detekci producentů betalaktamázy vhodnější než MIC za předpokladu pečlivého měření průměru inhibiční zóny a prohlášení jejich okrajů (viz obrázek dole). Okraje zóny se prohláží v procházejícím světle (plocha se dříží proti světu). Kmen je rezistentní, vyváří-li inhibiční zónu < 26 mm. Je-li inhibiční zóna ≥ 26 mm a okraje zóny jsou ostré, kmen se považuje za rezistentní, jsou-li neostře, kmen se považuje za citlivý, při nejednoznačném výsledku se kmen pokládá za rezistentní. Testy založené na chromogenním cefalosporinu nejsou pro průkaz stafylokokové penicilinázy spolehlivé. C. Screening rezistence k meticilin u <i>S. pseudointermedius</i> , viz poznámka C u cefalosporinů .
Flucloxacilin	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Mecilinam (pouze nekomplikované IMC)	-	-		-	-	
Cefalosporiny¹	Breakpoint MIC (mg/l)		Obsah disku (µg)	Breakpoint průměru zóny (mm)		Poznámky Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC. Písmena se vztahují k diskové difúzní metodě.
	C ≤	R >		C ≥	R <	
Cefaktor²	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	1A. Citlivost stafylokoků k cefalosporinům se odvozuje od citlivosti k cefoxitinu. Toto pravidlo se nevztahuje na cefazidim, cefazidim/avibaktam, cefixim, cefibuten a ceflozoxan-tazobaktam, které nemají breakpointy a pro léčbu stafylokokových infekcí by neměly být používány. Některé kmeny <i>S. aureus</i> rezistentní k meticilinů jsou citlivé k cefarolinu a cefobiprolu, viz Poznámka 5/D a 7/F . 2. Dávování, viz tabulka dávkování. 3. <i>S. aureus</i> a <i>S. lugdunensis</i> s hodnotami MIC cefoxitinu > 4 mg/l a <i>S. saprophyticus</i> s MIC cefoxitinu > 8 mg/l jsou rezistentní k meticilinů obvykle v důsledku přítomnosti genu <i>mecA</i> nebo <i>mecC</i> . Disková difúze spolehlivě predikuje rezistenci k meticilinů. 4. Pro stafylokoky jiné než <i>S. aureus</i> , <i>S. lugdunensis</i> a <i>S. saprophyticus</i> je vyšší MIC cefoxitinu pro predikci rezistence k meticilinů méně spolehlivé než disková difúzní metoda s cefoxitem. 5/D. Izoláty citlivé k meticilinů mohou být označeny jako citlivé k cefarolinu bez vyššení citlivosti. 6/E. Rezistentní izoláty jsou vzácné. 7/F. Izoláty citlivé k meticilinů mohou být označeny jako citlivé k cefobiprolu bez vyššení citlivosti. B. Pokud není určen druh koaguláza-negativního stafylokoka, použije se breakpoint průměru zóny C ≥ 25; R < 25 mm. C. Screening s cefoxitem je u <i>S. intermedius</i> méně spolehlivý pro detekci genu <i>mecA</i> než u ostatních stafylokoků. Pro screening rezistence k meticilinů se používá disk s 1 mg oxacilinu s breakpointy průměru zón C ≥ 20 mm a R < 20 mm.
Cefadroxil	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Cefalexin	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Cefazolin	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Cefepim	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Cefixim	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Cefotaxim	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Cefoxitin (screening), S. aureus a koaguláza-negativní stafylokoky jiné než S. epidermidis	Poznámka ^{3,4}	Poznámka ^{3,4}	30	Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Cefoxitin (screening), S. epidermidis	Poznámka ⁴	Poznámka ⁴	30	Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Cefoxitin (screening), S. pseudointermedius	NA	NA	30	Poznámka ^C	Poznámka ^C	
Cefpodoxim	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Ceftarolin, S. aureus (indikace jiné než pneumonie)	1 ⁵	2 ^{5,6}	5	20 ^D	17 ^{D,E}	
Ceftarolin, S. aureus (pneumonie)	1 ⁵	1 ⁵	5	20 ^D	20 ^D	
Ceftazidim	-	-		-	-	
Ceftazidim-avibaktam	-	-		-	-	
Cefibuten	-	-		-	-	
Cefbiprol, S. aureus	2 ⁷	2 ⁷	5	17 ^F	17 ^F	
Ceflozoxan-tazobaktam	-	-		-	-	
Ceftriaxon	Poznámka ¹	Poznámka ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	

Tabulka breakpointů - část 3

Cefuroxim iv	Poznámka ¹	Poznámka ¹	Poznámka ^A	Poznámka ^A
	Poznámka ¹	Poznámka ¹	Poznámka ^A	Poznámka ^A
Cefuroxim perorální				
Karbapenemy¹	Breakpoint MIC (mg/l)	Obsah disku (µg)	Breakpoint průměru zóny (mm)	
	C ≤	R >	C ≥	R <
Doripenem	Poznámka ¹	Poznámka ¹	Poznámka ^A	Poznámka ^A
Ertapenem	Poznámka ¹	Poznámka ¹	Poznámka ^A	Poznámka ^A
Imipenem	Poznámka ¹	Poznámka ¹	Poznámka ^A	Poznámka ^A
Meropenem	Poznámka ¹	Poznámka ¹	Poznámka ^A	Poznámka ^A
Monobaktamy	Breakpoint MIC (mg/l)	Obsah disku (µg)	Breakpoint průměru zóny (mm)	
	C ≤	R >	C ≥	R <
Aztreonam				
Fluorochinolony¹	Breakpoint MIC (mg/l)	Obsah disku (µg)	Breakpoint průměru zóny (mm)	
	C ≤	R >	C ≥	R <
Ciprofloxacin ² , S. aureus	1	5	21 ^A	21 ^A
Ciprofloxacin ² , koaguláza-neg. stafylokoky	1	5	24 ^A	24 ^A
Levofloxacin, S. aureus	1	5	22 ^A	22 ^A
Levofloxacin, koaguláza-neg. stafylokoky	1	5	24 ^A	24 ^A
Moxifloxacin, S. aureus	0,25	5	25 ^A	25 ^A
Moxifloxacin, koaguláza-neg. stafylokoky	0,25	5	28 ^A	28 ^A
Nalidixová kyselina (screening)	NA	NA	NA	NA
Norfloxacin (screening)	NA	10	17 ^B	Poznámka ^B
Ofloxacin ³ , S. aureus	1	5	20 ^A	20 ^A
Ofloxacin ³ , koaguláza-neg. stafylokoky	1	5	24 ^A	24 ^A

Poznámky
Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC.
Písmena se vztahují k diskové difuzní metodě.

1A. Citlivost stafylokoků ke karbapenemům se odvozuje od citlivosti k ceftaximu.

Poznámky
Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC.
Písmena se vztahují k diskové difuzní metodě.

Poznámky
Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC.
Písmena se vztahují k diskové difuzní metodě.

Poznámky
Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC.
Písmena se vztahují k diskové difuzní metodě.

1. Breakpointy jiných fluorochinolonů (např. pefloxacinu a enoxacinu) mohou stanovit příslušné národní instituce.
2. Breakpointy jsou založeny na léčbě vysokými dávkami, viz tabulka dávkování.
3. Breakpointy jsou založeny na léčbě vysokými dávkami, viz tabulka dávkování. (0-4 g x 2).

A. Diskový difuzní test s norfloxacinem lze použít ke screeningu fluorochinolonové rezistence. **Viz Poznámka B.**
B. Izoláty kategorizované jako citlivé k norfloxacinu mohou být hlášeny jako citlivé k ciprofloxacinu, levofloxacinu, moxifloxacinu a ofloxacinu. U izolátů kategorizovaných jako nečitlivé k norfloxacinu by měla být případně vyšetřena citlivost k příslušným

Tabulka breakpointů - část 4

Ofloxacin ¹ , koaguláza-neg. stafylokoky	1	1	5	2,4 ^A	2,4 ^A	jako nečitlivé k norfloxacinu by měla být případně vyšetřena citlivost k příslušným fluorochinolonům.
Aminoglykosidy¹	Poznámky Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC. Písmena se vztahují k diskové difuzní metodě.					
	Breakpoint MIC (mg/l)		Obsah disku (µg)	Breakpoint průměru zóny (mm)		Poznámky Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC. Písmena se vztahují k diskové difuzní metodě. 1. Breakpointy aminoglykosidů jsou založeny na podávání jedenkrát denně. 2. Rezistenci k amikacinu lze spolehlivěji vyšetřit testováním kanamycinu (MIC > 8 mg/l). Odpovídající inhibiční zóna pro rezistenci u disku s 30 µg kanamycinu je < 18 mm pro <i>S. aureus</i> a < 22 mm pro koaguláza-negativní stafylokoky.
	C ≤	R >		C ≥	R <	
Amikacin ² , <i>S. aureus</i>	8	16	30	18	16	
Amikacin ² , koaguláza-negativní stafylokoky	8	16	30	22	19	
Gentamicin, <i>S. aureus</i>	1	1	10	18	18	
Gentamicin, koaguláza-negativní stafylokoky	1	1	10	22	22	
Netilmicin, <i>S. aureus</i>	1	1	10	18	18	
Netilmicin, koaguláza-negativní stafylokoky	1	1	10	22	22	
Tobramycin, <i>S. aureus</i>	1	1	10	18	18	
Tobramycin, koaguláza-negativní stafylokoky	1	1	10	22	22	
Glykopeptidy a lipoglykopeptidy¹	Poznámky Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC. Písmena se vztahují k diskové difuzní metodě.					
	Breakpoint MIC (mg/l)		Obsah disku (µg)	Breakpoint průměru zóny (mm)		Poznámky Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC. Písmena se vztahují k diskové difuzní metodě. 1. Hodnoty MIC glykopeptidů ovlivňuje používaná metoda vyšetření. MIC by měla být vyšetřena bujovou mikrodiluční metodou (Standard ISO 20776). Kmeny <i>S. aureus</i> s hodnotami MIC vankomycinu 2 mg/l jsou na hranici distribuce divokého typu MIC a v těchto případech může dojít k horší klinické odezvě. Breakpoint pro rezistenci byl snížen na 2 mg/l k vyřazení izolátů s intermediiální rezistencí označovaných jako "GISA", neboť závažné infekce způsobené těmito kmeny nejsou léčitelné ani zvýšenými dávkami vankomycinu nebo teikoplaninu. 2. Nečitlivé izoláty jsou vzácné, nebo nebyly pozorovány. Identifikace a vyšetření citlivosti jakéhokoliv takového izolátu se musí ověřit a izolát se zasíle do referenční laboratoře. 3. MIC vyzádaje půdu s konečnou koncentrací polysorbátu-80 (0,002 % v půdě pro bujovou metodu; agarová metoda nebyla validována). U komerčních systémů je zapotřebí postupovat podle pokynů výrobce. 4. Izoláty <i>S. aureus</i> citlivé k vankomycinu mohou být označeny jako citlivé k dalbavancinu a oritavaninu. 5. Izoláty MRSA citlivé k vankomycinu lze hlásit citlivé i k telavancinu.
	C ≤	R >		C ≥	R <	
Dalbavancin ²	0,125 ^{3,4}	0,125 ³		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Oritavancin, <i>S. aureus</i> ²	0,125 ^{3,4}	0,125 ³		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Teikoplanin, <i>S. aureus</i> ²	2	2		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Teikoplanin, koaguláza-negativní stafylokoky	4	4		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Telavancin, MRSA ²	0,125 ^{3,5}	0,125 ^{3,5}		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Vankomycin, <i>S. aureus</i> ²	2	2		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Vankomycin, koaguláza-negativní stafylokoky ²	4	4		Poznámka ^A	Poznámka ^A	

Tabulka breakpointů - část 5

Makrolidy, linkosamidy a streptograminy	Breakpoint MIC (mg/l)		Obsah disku (µg)	Breakpoint průměru zóny (mm)		Poznámky
	C ≤	R >		C ≥	R <	
Azitromycin	1 ¹	2 ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	<p>Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC.</p> <p>Písmena se vztahují k diskové difuzní metodě.</p> <p>1A. Erytromycin lze použít k určení citlivosti k azitromycinu, klaritromycinu a roxitromycinu.</p> <p>2. Indukovanou rezistenci ke klindamycinu lze detekovat pomocí antagonizmu mezi klindamycinem a makrolidem. Není-li potvrzena, pak se výsledek hodnotí podle klinických breakpointů. Pokud je potvrzena, kmen se hlásí jako rezistentní s tímto komentářem: "Klindamycin lze použít ke krátkodobé léčbě méně závažných infekcí kůže a měkkých tkání, neboť při této léčbě se nepředpokládá vznik konstitutivní rezistence".</p> <p>B. Disky erytromycinu a klindamycinu se umístí na plochu ve vzdálenosti 12-20 mm od sebe (okraj od okraje) a pátrá se po antagonizmu (D-test) k deteci indukované rezistence ke klindamycinu.</p> <p>C. U izolátů nečitlivých podle výsledků diskové difuzní metody by měla být vyšetřena MIC.</p>
Klaritromycin	1 ¹	2 ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Erytromycin	1 ¹	2 ¹	15	21 ^A	18 ^A	
Roxitromycin	1 ¹	2 ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	
Telitromycin	IE	IE		IE	IE	
Klindamycin ²	0,25	0,5	2	22 ^B	19 ^B	
Quinupristin-dalfopristin	1	2	15	21 ^C	18 ^C	

Tetracykliny	Breakpoint MIC (mg/l)		Obsah disku (µg)	Breakpoint průměru zóny (mm)		Poznámky
	C ≤	R >		C ≥	R <	
Doxycyklin	1 ¹	2 ¹		Poznámka ^A	Poznámka ^A	<p>Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC.</p> <p>Písmena se vztahují k diskové difuzní metodě.</p> <p>1A. Izoláty citlivé k tetracyklinu jsou citlivé rovněž k doxycyklinu a minocyklinu, avšak některé rezistentní izoláty mohou být citlivé k minocyklinu a/nebo k doxycyklinu. V případě potřeby se u izolátů rezistentního k tetracyklinu vyšší MIC doxycyklinu.</p> <p>2. Nečitlivé izoláty jsou vzácné, nebo nebyly pozorovány. Identifikace a vyšetření citlivosti jakéhokoliv takového izolátu se musí ověřit a izolát se zašle do referenční laboratoře.</p> <p>3. Pro vyšetření MIC tigeicyklinu mikrodiluční metodou musí být v den přípravy použita čerstvá půda.</p>
Minoocyklin	0,5 ¹	1 ¹	30	23 ^A	20 ^A	
Tetracyklin	1 ¹	2 ¹	30	22 ^A	19 ^A	
Tigeicyklin ²	0,5 ³	0,5 ³	15	18	18	

Tabulka breakpointů - část 6

Oxazolidinony	Breakpoint MIC (mg/l)		Obsah disku (µg)	Breakpoint průměru zóny (mm)		Poznámky
	C ≤	R >		C ≥	R <	
Linezolid	4	4	10	21 ^A	21 ^A	Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC. Písmena se vztahují k diskové difuzní metodě.
Tedizolid	0,5 ¹	0,5		Poznámka ^B	Poznámka ^B	1. Izoláty citlivé k linezolidu lze hlásit citlivé i k tedizolidu. A. Okraje zón se prohlíží v procházejícím světle (plošna se dříží proti světlu). B. Izoláty citlivé k linezolidu lze hlásit citlivé i k tedizolidu. U rezistentních izolátů se všíří MIC.
Další antibiotika	Breakpoint MIC (mg/l)		Obsah disku (µg)	Breakpoint průměru zóny (mm)		Poznámky
Chloramfenikol	8	8	30	18	18	Poznámky označené číslem se vztahují k obecným komentářům anebo k breakpointům MIC. Písmena se vztahují k diskové difuzní metodě.
Kolistin	-	-		-	-	1. Necitlivé izoláty jsou vzácné, nebo nebyly pozorovány. Identifikace a všíření citlivosti jakéhokoli takového izolátu se musí ověřit a izolát se zašle do referenční laboratoře.
Daptomycin ¹	1 ²	1 ²		Poznámka ^A	Poznámka ^A	2. MIC daptomycinu se musí všířovat v půdě s Ca ²⁺ (50 mg/l v půdě pro bujónovou metodu; agarová metoda nebyla validována). U komerčních systémů je zapotřebí postupovat podle pokynů výrobce.
Fosfomycin iv	32 ³	32 ³		Poznámka ^A	Poznámka ^A	3. Referenční metoda pro fosfomycin je agarová diluční metoda. MIC fosfomycinu se musí všířovat v půdě s glukoso-6-fosfátem (25 mg/l pro agarovou i bujónovou metodu). U komerčních systémů je zapotřebí postupovat podle pokynů výrobce.
Fosfomycin perorální	-	-		-	-	4. Trimetoprim-sulfametoxazol v poměru 1:19. Breakpointy jsou vyjádřeny v koncentraci trimetoprimu.
Fusidová kyselina	1	1	10	-	-	A. Všířuje se MIC.
Metronidazol	-	-		-	-	
Nitrofurantoin (pouze nekomplikované IMC) saprophyticus	64	64	100	13	13	
Nitroxolin (pouze nekomplikované IMC) saprophyticus	IE	IE		IE	IE	
Rifampicin	0,06	0,5	5	26	23	
Spectinomycin	-	-		-	-	
Trimetoprim (pouze nekomplikované IMC)	2	4	5	17	14	
Trimetoprim-sulfametoxazol ⁴	2	4	1,25-23,75	17	14	

10 Seznam zkratek

EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
ARDS	syndrom respiračního selhání
BAL	bronchoalveolární laváž
C	citlivý
CNS	centrální nervová soustava
CXT	cefoxitin
CŽK	centrální žilní katetr
DDT	diskový difúzní test
ETA, ETB	exfoliativní toxin-A;-B
FOX	cefoxitin - zkratka přímo na disku ATB
KKN	Karlovarská krajská nemocnice
KNS	koaguláza-negativní stafylokoky
McF	McFarland
MH	Mueller hintonův agar
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MRSA	methicillin – resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (meticilin – rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>)
MSSA	meticilin-senzitivní <i>Staphylococcus aureus</i>
PBP	penicilin vázající protein (penicillin-binding protein)
PCR	polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction)
PVL	Pantonův-Valentinův leukocidin
R	rezistentní

RIF	rifampicin
SSSS	stafylokokový syndrom opařené kůže (Staphylococcal scalded skin syndrome)
STAU	<i>Staphylococcus aureus</i>
STŠ	syndrom toxického šoku
SXT	kotrimoxazol - zkratka přímo na disku ATB
TAS	tracheální aspirát
TEN	toxická epidermální nekrolýza
TEP	totální endoprotéza
TSA	trypton sojový agar
TSST-1	toxin syndromu toxického šoku
VISA	vancomycin-intermediate-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
VRSA	vancomycin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>