Zdravotně sociální fakulta
Faculty of Health and Social Sciences

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

Výskyt ESBL kmenů v Nemocnici Písek, a.s.

Bakalářská práce

Studijní program: ZDRAVOTNÍ LABORANT

Autor práce: Michaela Kothánková

Vedoucí práce: MUDr. Věra Kůrková

České Budějovice 2018

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou/diplomovou práci s názvem jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské/diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích 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 bakalářské/diplomové práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské/diplomové práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne **……**

Poděkování

Ráda bych poděkovala prim. MUDr. Věře Kůrkové za odbornou pomoc, ochotu a čas, který věnovala tomu, aby tato práce mohla vzniknout. Dále bych chtěla poděkovat celému týmu Oddělení klinické mikrobiologie v Nemocnici Písek, a.s. V neposlední řadě děkuji celé své rodině a přátelům za pomoc, podporu a trpělivost.

Výskyt ESBL kmenů v Nemocnici Písek, a.s.

Abstrakt

Rezistence na ATB je čím dál větším problémem na celém světě. Rezistence se u bakterií vyskytuje přirozeně nebo rezistenci získají genovými mutacemi, kde dochází k předání genetické informace mezi rody či druhy. Tyto kmeny jsou poté rezistentní k antibiotikům, která jsou jinak účinná. Největším problémem je, že v těchto případech se prodlužuje léčba, zvyšuje se mortalita i morbidita pacientů a zvyšují se především náklady léčby.

Úvodní teoretická část práce je věnována charakteristice a typům účinku antimikrobiálních látek, beta-laktamovým antibiotikům, rezistenci na antibiotika, kde jsou popsány cesty přenosu rezistence, multirezistence a mechanismy rezistence. Dále je tato část věnována beta-laktamázám a jejich klasifikaci, širokospektrým beta-laktamázám (ESBL) a jejich producentům, zejména rodu *Klebsiella,* rodu *Escherichia,* rodu *Enterobacter* a rodu *Proteus.* Poslední kapitola této části je zaměřena na dopad rezistence na terapii a možnosti léčby.

Metodická část práce byla prováděna na Oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek, a.s., kde byl sledován záchyt ESBL pozitivních kmenů rodu *Klebsiella,* rodu *Escherichia,* rodu *Enterobacter* a rodu *Proteus* během jednoho roku (leden-prosinec 2016). Tato část práce je zaměřena na mikroby zmiňovaných rodů a jejich citlivosti k antibiotikům. V případě testování citlivosti se jedná o diskový difúzní test založený na inhibiční zóně a o bujonovou mikrodiluční metodu, která je založena na minimální inhibiční koncentraci. Dále tato část popisuje vyšetření produkce ESBL, kde je popsán screeningový test pomocí chromogenní půdy Brilliance ESBL agar a metoda průkazu produkce ESBL a AmpC nazývaná MAST test. Poslední kapitola této části je věnována kontrole kvality.

V praktické části práce nalezneme porovnání výskytu bakterií rodu *Klebsiella,* rodu *Escherichia,* rodu *Enterobacter,* rodu *Proteus* a jejich produkce ESBL. Dále je tato část věnována rozdělení izolátů s produkcí ESBL dle typu nemocničního oddělení, kde byl zjištěn největší záchyt na oddělení následné péče a oddělení sociálních lůžek. Tato část

také popisuje rozdělení izolátů produkujících ESBL dle typu klinického materiálu, kde byl obrovský záchyt v moči. Dále byl porovnán počet producentů ESBL v nemocnici a komunitě, kde byl zjištěn 85 % výskyt v nemocnici, což se předpokládalo.

Klíčová slova: bakteriální rezistence, beta-laktamová antibiotika, širokospektrá beta-laktamáza, rod *Klebsiella*, rod *Escherichia*, rod *Enterobacter*, rod *Proteus*

Occurrence of ESBL strains in Hospital Písek, a.s.

Abstract

Resistance to ATB is becoming a big problem all round the world. Bacterial resistance occurs naturally or is obtained by gene mutations where genetic information is transmitted between genera or species. These strains are then resistant to antibiotics that are otherwise effective. The biggest problem is that in these cases the treatment is prolonged, the mortality and morbidity of the patients increases and the costs of the treatment as well.

The initial theoretical part is devoted to the characteristics and types of effects of antimicrobial agents, beta-lactam antibiotics, antibiotic resistence, where resistance transfer process, multiresistance and resistance mechanisms are described. Further, this part is dedicated to beta-lactamases and their classification, broad-spectrum beta-lactamases (ESBL) and their producers, especially the genus *Klebsiella*, the genus *Escherichia*, the genus *Enterobacter* and the genus *Proteus*. The last chapter of this part is focused on the impact of resistance to therapy and treatment options.

A methodical part of this work was performed at the Department of Clinical Microbiology of Písek Hospital, Inc., where the detection of ESBL positive strains of the genus *Klebsiella, Escherichia, Enterobacter* and *Proteus* was observed during one year (January-December 2016). This part focuses on microbes of the mentioned genera and their antibiotic susceptibility. For susceptibility testing, this is a disk diffusion test based on the inhibition zone and a bouillon microdilution method, which is based on minimum inhibitory concentration. Further, this part also deals with an ESBL production test where a screening test using Brilliance ESBL agar chromogenic soil and method of detection ESBL and AmpC production (known as the MAST test) are described. The last chapter of this part is dedicated to quality control.

In the practical part of the thesis, we can compare the incidence of bacteria genus *Klebsiella,* genus *Escherichia,* genus *Enterobacter*, genus *Proteus* and their production of ESBL. Further, this part is focused on the distribution of isolates with ESBL production according to the type of hospital department, the highest incidence was found in the department of aftercare and department of social beds. This section also

describes the distribution of ESBL-producing isolates according to the type of clinical material, where there was a huge catch in the urine.

It was also compared the number of ESBL producers in the hospital and the community where it was found 85% incidence in the hospital, which was expected.

Keywords: Bacterial resistance, beta – lactam antibiotics, extended spectrum beta – lactamases, genus *Klebsiella,* genus *Escherichia*, genus *Enterobacter*, genus *Proteus*

Obsah

Úvod 11

1. Teoretická část 12

1.1. Antibakteriální látky 12

1.1.1. Charakteristika 12

1.1.2. Typy účinku 12

1.2. Beta-laktamová antibiotika 13

1.3. Rezistence bakterií k antibiotikům 13

1.3.1. Cesty přenosu antibiotické rezistence 14

1.3.2. Multirezistence 15

1.3.3. Mechanismy rezistence bakterií 15

1.4. Beta-laktamázy 17

1.4.1. Klasifikace 17

1.5. Širokospektré beta – laktamázy (ESBL) 18

1.5.1. Klinický význam 19

1.6. Producenti ESBL 19

1.6.1. Rod *Klebsiella* 19

1.6.2. Rod *Escherichia* 19

1.6.3. Rod *Enterobacter* 20

1.6.4. Rod *Proteus* 20

1.6.5. Další producenti 20

1.7. Dopad rezistence na terapii a možnosti léčby 20

2. Cíle práce a hypotézy 22

2.1. Cíle práce 22

2.2. Hypotézy 22

3. Praktická část 23
3.1. Metodika 23
3.2. Odběr, transport a zpracování biologického materiálu 23
3.3. Kultivace vzorků 24
3.4. Identifikace mikrobů a jejich testování na citlivost k ATB 24
3.5. Vyšetření produkce ESBL 25
3.6. Kontrola kvality 26
4. Výsledky 28
4.1. Rozdělení izolátů dle typu nemocničního oddělení 28
4.1.1. Rod *Klebsiella* 28
4.1.2. Rod *Escherichia* 30
4.1.3. Rod *Enterobacter* 31
4.1.4. Rod *Proteus* 32
4.1.5. Statistické zpracování 34
4.2. Rozdělení izolátů dle typu klinického materiálu 34
4.2.1. Rod *Klebsiella* 34
4.2.2. Rod *Escherichia* 35
4.2.3. Rod *Enterobacter* 37
4.2.4. Rod *Proteus* 38
4.2.5. Statistické zpracování 39
4.3. Počet producentů ESBL v nemocnici a v komunitě 39
4.3.1. Rod *Klebsiella* 39
4.3.2. Rod *Escherichia* 40
4.3.3. Rod *Enterobacter* 41
4.3.4. Rod *Proteus* 42
4.3.5. Statistické zpracování 43
5. Diskuze 45

6. Závěr 47
7. Seznam literatury 49
8. Seznam příloh 53
9. Seznam zkratek 71

Úvod

Stále častěji se setkáváme s odolností bakterií na současná antibiotika. Tímto trendem, který má mezinárodní charakter, se zabývá Světová zdravotnická organizace (WHO) a lékaři po celém světě. Bakterie zvané jako multirezistentní se nacházejí především v nemocnicích, kde se šíří kontaminovanými předměty, kontaminovanými rukami ošetřujícího personálu a vzduchem. Tyto bakterie komplikují léčbu především hospitalizovaným pacientům, kterým způsobují různé druhy infekce. Jednou z rizikových skupin způsobujících rezistenci k antibiotikům jsou gramnegativní bakterie. Gramnegativní bakterie získávají odolnost k penicilinům, cefalosporinům, monobaktamům nebo karbapenemům pomocí produkce širokospektrých beta-laktamáz typu ESBL.

Do čeledi *Enterobacteriaceae* patří zejména rod *Klebsiella,* rod *Escherichia,* rod *Enterobacter* a rod *Proteus*. Zástupci těchto rodů jsou producenti ESBL a nejčastěji způsobují močové infekce. Dále mohou způsobovat infekce dýchacích cest, chorobné stavy ve střevě atd.

Neadekvátní volba antibiotické terapie, kdy se začnou podávat antibiotika ještě před zjištěním, o kterou bakterii způsobující infekci vlastně jde, má podíl na vzniku rezistence. V minimalizování šíření rezistence by pomohlo zvýšení hygienicko-epidemiologických opatření, do kterých spadá izolace pacienta, hygiena rukou, dezinfekce a úklid, dezinfekce používaných předmětů, likvidace infekčního materiálu atd.

Cílem této práce je si osvojit metody průkazu ESBL kmenů a zjistit zastoupení ESBL kmenů ve vztahu k celkovému počtu získaných kmenů gramnegativních tyček patřících mezi *Enterobacteriaceae*. Tato práce je zaměřena na čtyři rody patřící do čeledi *Enterobacteriaceae*. Jedná se o rod *Klebsiella,* rod *Escherichia,* rod *Enterobacter* a rod *Proteus.*

1. Teoretická část

1.1. Antibakteriální látky

1.1.1. Charakteristika

Antibakteriální látky neboli antibiotika (ATB) jsou látky zprvu původu mikrobiálního, které jsou používány k léčbě infekčních onemocnění. „*Antibiotika jsou nejčastěji produkty půdních mikroorganizmů.“* Druhy, které tyto látky produkují, jsou chráněny před jejich účinkem díky produkci enzymů, které ATB štěpí. Obrat v terapii zaznamenalo zavedení ATB do léčebné praxe ve čtyřicátých a padesátých letech. (Bednář, 1996, str. 160-161) ATB nejsou pouze látky mikrobiálního původu, ale mohou to být i synteticky připravovaná chemoterapeutika. (Schindler, 2014, str. 47) Účinek ATB na eukaryotické buňky musí být zanedbatelný, nejlépe žádný a nesmí tyto buňky poškozovat. Neexistují žádná ATB, která by byla pro makroorganismus neškodná, jelikož to je látka tělu cizí. (Schindler, 2014, str. 47) Dalším požadavkem je účinnost nízkých koncentrací, řádově v mg/l a jeho rychlé dosahování těchto hladin. (Bednář, 1996, str. 160-161)

1.1.2. Typy účinku

Účinky ATB na bakterie jsou dva. Bakteriostatický účinek znamená, že ATB reverzibilně zastavují růst a množení mikrobů. Mezi ATB s reverzibilním účinkem patří tetracykliny, chloramfenikol, makrolidy, linkosamidy atd. Nastoupení účinku se klinicky projeví za 3–4 dny. Po ukončení léčby těmito ATB může mikrob znovu začít růst, k tomu dochází v případě nedostatečné síly hostitele. (Votava, 2005, str. 235-236)

Druhým účinkem je účinek baktericidní, který je charakterizován ireverzibilním usmrcením mikrobů. Jedná se o beta-laktamy, aminoglykosidy, glykopeptidy atd. Tento účinek se projeví již do 48 hodin. Tyto ATB se podávají v klinicky závažných stavech, nebo při snížené obranyschopnosti pacienta. (Votava, 2005, str. 235-236)

Toto rozdělení neplatí vždy. V případě nižších koncentrací baktericidních ATB mohou tyto ATB vykazovat bakteriostatický účinek. A naopak, bakteriostatická ATB působí baktericidně při vyšších koncentracích. (Čížková, 2007, str. 11)

K pozitivním, ale i negativním účinkům může vést současné podávání více druhů ATB. K potlačení účinku může dojít při špatné kombinaci ATB. U kombinace baktericidních

ATB s bakteriostatickými ATB dojde dříve k inhibici růstu mikroba (vlivem bakteriostatických ATB), než baktericidní ATB začnou vůbec účinkovat. Závažným problémem je v dnešní době hlavně vznik rezistence na obě podaná ATB a indukce tvorby beta-laktamázy. Beta-laktamázy jsou enzymy s účinkem proti beta-laktamovým ATB. (Polenová, 2014, str. 19) Kombinace beta-laktamů s inhibitory bakteriálních beta-laktamáz je vhodná, jelikož touto kombinací se získává velmi účinný preparát proti působení těchto enzymů. (Votava, 2005, str. 235-236)

1.2. Beta-laktamová antibiotika

Látky patřící do této skupiny mají společnou strukturu beta-laktamového kruhu v molekule a způsob účinku. (Bednář, 1996, str. 164) Beta-laktamový kruh je čtyřčlenná struktura složená ze tří atomů uhlíku a jednoho atomu dusíku. Podskupiny beta-laktamových antibiotik (ATB) členíme podle složení dalšího připojeného kruhu. V příloze č. 1 jsou znázorněny struktury podskupin beta-laktamových ATB.

Na tvorbě peptidoglykanu se podílejí enzymy, na které se váží beta-laktamy. Peptidoglykan je látka, ze které je tvořena buněčná stěna bakterií. Enzymy slouží jako katalyzátory, díky nimž se snižuje aktivační energie při tvorbě peptidových a glycinových můstků, střídavě spojujících N-acetylglukosamin a kyselinu N-acetylmuramovou. Tyto enzymy se označují jako PBP. V případě uskutečnění této vazby, dochází k zastavení tvorby peptidoglykanu a je zahájeno působení autolytických enzymů, které mají za následek rozpad dané bakterie. (Votava, 2005, str. 245-247) *„Jejich účinek je baktericidní a závisí na době, po kterou je ATB v séru pacienta v dostatečné koncentraci.“* (Polenová, 2014, str. 22-23)

Toxicita ATB z této skupiny není vysoká. Může však dojít k nežádoucím účinkům, ke kterým patří např. alergická reakce.

Peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy a karbapenemy patří do skupiny beta-laktamová ATB (viz příloha č. 2). Inhibitory beta-laktamáz jsou zvláštní skupinou.

1.3. Rezistence bakterií k antibiotikům

Schopnost bakterií přežít účinek inhibiční koncentrace daného ATB. Tento um umožňuje vedle přirozené rezistence určitých mikrobů k určitým ATB získaná

rezistence, která vzniká působením ATB na bakteriální populaci. (Rozsypal et al., 2013, str. 52-53)

Existují kmeny, které jsou rezistentní k většině dostupných ATB (některé *Enterobacteriaceae* produkující širokospektré beta-laktamázy, *Acinetobacter* a *Pseudomonas aeruginosa*) nebo ke všem dostupným ATB, tzv. panrezistence (*Klebsiella pneumoniae*). (Polenová, 2014, str. 27)

Přirozená (primární) rezistence je dána strukturou bakteriální buňky. Takováto přirozeně rezistentní buňka nemá transportní systém, který by transportoval ATB do buňky, nebo nemá cílovou strukturu, na kterou ATB účinkuje, anebo je buněčná stěna pro ně nepropustná. Změnami v genomu se může původně citlivá populace bakterií stát rezistentní. (Schindler, 2014, str. 54)

Dále rezistence získaná (sekundární), která vzniká v průběhu nebo následkem předchozí ATB léčby. Tato rezistence může být získaná chromozomální mutací nebo vlivem extrachromozomální plazmidové informace. Získaná rezistence má několik forem, jednou z nich je schopnost mikroorganismu produkovat enzym, který účinnou látku ničí. Takto beta-laktamázy štěpí beta-laktamový kruh, a tak ruší účinek beta-laktamových ATB. (Martínková, 2007, str. 304)

1.3.1. Cesty přenosu antibiotické rezistence

Mutacemi DNA nebo horizontálním přenosem může vznikat rezistence. Nejčastějším způsobem přenosu je přenos horizontální a může probíhat i mezi jednotlivými druhy. Možné cesty horizontálního přenosu jsou transformace, konjugace nebo transdukce. (Marešová, 2012, str. 10)

1.3.1.1. Transformace

Transformace je děj, při kterém bakterie (*recipientní*) převezme část DNA od jiné bakterie (donorové) a začlení ji do svého chromozomu. Pouze kompetentní buňka je schopna transformace. Náhodně z jakékoliv části genomu se přenáší pouze okolo 10 genů. DNA, která se přenáší, pochází z rozložených bakterií. Přítomnost peptidu vyžaduje transformace u grampozitivních bakterií. Tento enzym se nazývá kompetenční faktor. DNA se naváže na povrch buňky. Jedno vlákno se rozloží a druhé je vneseno do buňky za pomoci zvláštního peptidu. V případě gramnegativních bakterií není potřeba

kompetenčního faktoru, ale k transformaci dochází pouze u navzájem příbuzných bakterií. Pomocí transformace se do bakteriální buňky mohou dostat transpozony, na kterých jsou geny rezistence. (Votava, 2005, str. 78)

1.3.1.2. Konjugace

Bakteriální konjugace je přenos genetické informace přímým stykem mezi buňkami. V donorové buňce je přítomný plazmid (konjugativní F-plasmid), který je důležitý pro přenos. Geny, které tvoří pili (tzv. sex-pili), jsou přítomny v konjugovaném plazmidu. Těmito pili prochází vlákno z donorové DNA do recipientní buňky. V obou buňkách dochází k dosyntetizování DNA. Výsledkem konjugace je utvoření dvou stejných buněk, které mají konjugativní plazmid. (Votava, 2005, str. 77-78)

1.3.1.3. Transdukce

Transdukce je přenos genetické informace bakterií pomocí *bakteriofágů* (bakteriálních virů), kam se geny dostanou buďto chybou nebo omylem. (Votava, 2005, str. 79) Bakteriofágy umějí do bakteriálního chromozomu zanést svou genetickou informaci. Genetická informace může být z chromozomu odštěpena a virus opustí buňku. Pokud nedojde k přesnému odštěpení DNA, virus sebou přenese i část původní bakteriální DNA. V případě, že virus infikuje jinou bakterii, dochází k přenosu i této části genetické informace. (Bakterie a prokaryota obecně, 2014)

1.3.2. Multirezistence

Některé bakterie mohou být rezistentní k několika příbuzným ATB zároveň, a také k ATB s jinou chemickou strukturou. U příbuzných ATB jde většinou o jeden mechanismus *zkřížené rezistence*. Avšak v případě rezistence k různým ATB se mechanismy kumulují, protože zde hrají roli různé geny. *Staphylococcus* spp., které jsou rezistentní k oxacilinu – ORSA (MRSA), bývají často rezistentní ke gentamicinu, ciprofloxacinu, erytromycinu, tetracyklinu aj., je tedy zcela zřejmý rozdíl těchto ATB. Multirezistence vzniká často získáním genů z transpozonů nebo plazmidů. (Schindler, 2014, str. 58-59)

1.3.3. Mechanismy rezistence bakterií

Mikroby využívají 5 mechanismů rezistence, které mezi sebou mohou kombinovat.

1.3.3.1. Produkce enzymů inaktivujících ATB

U rezistence k beta-laktamovým ATB, chloramfenikolu a aminoglykosidům je tento mechanismus nejrozšířenější. U tohoto mechanismu dochází k modifikaci nebo destrukci antibiotické molekuly.

Jde o jednoduchý mechanismus a stačí jeden gen kódující tento typ rezistence. K přenosu dochází, jak mezi jednotlivými bakteriemi v rámci druhu, tak i mezi různými druhy bakterií, a tímto dochází k jejich rychlému šíření. Podáním falešného substrátu, který blokuje aktivní místo enzymu, lze většinou tuto rezistenci inaktivovat. Uplatňují se zde inhibitory jako je kyselina klavulanová, tazobaktam a sulbaktam (viz příloha č. 3).

U beta-laktamových ATB se tyto enzymy nazývají beta-laktamázy. Beta-laktamázy hydrolyzují amidovou vazbu beta-laktamového kruhu ATB. Vzniká neúčinná kyselina penicilanová nebo kyselina cefalosporanová, a tím se bakterie stává odolnou. Tyto enzymy produkují hlavně gramnegativní bakterie. Grampozitivní bakterie tyto enzymy produkují méně. (Polenová, 2014, str. 29)

1.3.3.2. Zapojení alternativní metabolické dráhy

K využití tohoto mechanismu dochází u sulfonamidů, kdy je nalezena jiná metabolická dráha, aby se obešel zablokovaný krok při tvorbě kyseliny listové. (Polenová, 2014, str. 30)

1.3.3.3. Snížení permeability buněčné stěny

Pomocí purinů obsažených ve vnější membráně buněčné stěny mohou gramnegativní bakterie omezit přísun látek a živin, a tím i množství vstupujícího ATB do buňky. Ke znevýhodnění rezistentní buňky vůči původní populaci dochází díky omezenému přísunu živin, což je nevýhodou. Tento mechanismus se uplatňuje hlavně u beta-laktamových ATB (*Enterobacter* spp. a *Pseudomonas aeruginosa*). (Polenová, 2014, str. 29)

1.3.3.4. Změna cílového místa

Díky působení ATB dochází k mutaci. Mutace může postihovat vazebné místo podjednotky ribozomu nebo topoizomerázu, čímž dochází k nerozeznání cílové

struktury antibiotikem. Topoizomeráza je enzym podílející se na replikaci DNA. Tento mechanismus se uplatňuje proti aminoglykosidům, makrolidům, tetracyklinům aj. (Polenová, 2014, str. 30)

1.3.3.5. Eflux

Za pomoci enzymatických systémů dochází k aktivnímu vypuzování ATB z buňky, a tím se sníží jeho koncentrace. Efluxní pumpy využívají mikroby i k odstranění metabolitů a toxinů. Tyto pumpy se podílejí i na vzniku rezistence k některým detergentním přípravkům. Vypuzování jiných látek vnitřního prostředí buňky a oslabení buňky ovlivňuje hyperprodukce efluxních pump. Takto dochází k inaktivaci tetracyklinů, makrolidů a chinolinů. Efluxní systémy u rodu *Pseudomonas aeruginosa* jsou zodpovědné za multirezistenci. (Polenová, 2014, str. 30)

1.4. Beta-laktamázy

Beta-laktamázy jsou enzymy hydrolyzující beta-laktamový kruh, který je obsažen v penicilinech, cefalosporinech a dalších příbuzných antibakteriálních látkách. (Bush, 2007, str. 67-80) Působení beta-laktamáz na beta-laktamová ATB můžeme vidět v příloze č. 4.

1.4.1. Klasifikace

Bakteriální beta-laktamázy mohou být klasifikovány třemi způsoby. Klasifikují se buď podle hydrolytického spektra nebo podle citlivosti k inhibitorům beta-laktamáz a dále podle toho, zda jsou kódovány chromozomem nebo plasmidem. Klasifikace Bush-Jacoby-Medeirose je nejužívanější členění, které zařazuje beta-laktamázy podle preferovaného substrátu a podle jejich citlivosti k inhibitorům. Další užívanou klasifikací je členění dle Amblera, které vychází ze sekvencí aminokyselin. (Bush, 2010, str. 969-976)

Popis klasifikace podle kolektivu Bush,Jacoby,Medeirose, 4 skupiny:

- **Skupina 1:** Patří sem beta-laktamázy, které nejsou inhibovány kyselinou klavulanovou. Tyto beta-laktamázy jsou většinou kódovány chromozomálně. Mezi hlavní producenty těchto enzymů patří enterobakterie.
- **Skupina 2:** Tato skupina je největší a obsahuje enzymy kódované plasmidy. Tyto enzymy jsou obvykle dobře inhibovatelné kyselinou klavulanovou a jsou dále

členěny do podskupin podle preferovaného substrátu. Do této skupiny zařazujeme také širokospektré beta-laktamázy ESBL.

- **Skupina 3:** Sem patří metalo-beta-laktamázy, které hydrolyzují široké spektrum substrátů, včetně karbapenemů.
- **Skupina 4:** Zahrnuje málo běžné enzymy produkované některými kmeny *Burkholderia cepacia.* (Szkanderová, 2008, str. 12-13)

Klasifikace podle Amblera též definuje 4 skupiny, resp. třídy:

- **Třída A:** Tyto enzymy jsou většinou kódovány plasmidy. Mezi nejčastější beta – laktamázy třídy A u čeledi *Enterobacteriaceae* patří enzymy TEM – 1,2 a SHV – 1. Ke vzniku a rozšíření širokospektrých beta-laktamáz AmpA došlo mutací původních enzymů. Širokospekteré beta-laktamázy AmpA zahrnují především enzymy typu TEM, SHV a CTX – M.
- **Třída B:** Třída B je charakteristická svou účinností na karbapenemy.
- **Třída C:** Patří sem chromozomální beta-laktamázy typu AmpC, které mohou mít konstitutivní nebo inducibilní charakter. Produkce těchto enzymů je popisována u kmenů *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp., *Morganella morganii* a *Pseudomonas aeruginosa.* Dnes jsou, především u kmenů *Klebsiella pneumoniae* a *Escherichia coli*, popisovány beta-laktamázy typu AmpC, které jsou kódované plasmidy.
- **Třída D:** Do této třídy patří OXA enzymy, které produkují kmeny *Aeromonas* sp. a nefermentující bakterie. (Szkanderová, 2008, str. 13)

1.5. Širokospektré beta – laktamázy (ESBL)

Širokospektré beta-laktamázy – ESBL (z angl. Extended-spectrum beta-lactamases) jsou enzymy produkované především gramnegativními tyčkami. Hydrolyzují peniciliny, cefalosporiny všech generací a monobaktamy. Jsou inhibovány inhibitory beta-laktamáz, zejména kyselinou klavulanovou, tazobaktamem a sulbaktamem. (Hrabák et al., 2007, str. 31-36)

Většina těchto enzymů obsahuje serin v aktivním místě a díky tomu se řadí do třídy A podle Amblera. Tyto enzymy mají molekulární hmotnost 29 000 Da. (Bradford, 2001, str. 933-951) Některé ESBL zastupují enzymy, které vznikly z beta-laktamáz úzkého spektra, jako jsou TEM-1, TEM-2 a SHV-1. (Mayers et al., 2009, str. 804) Dnes je charakterizováno přes čtyři sta ESBL. (Smet et al., 2010, str. 295-316)

1.5.1. Klinický význam

Dnes nejsou žádné pochybnosti o tom, že infekce způsobené multirezistentními gramnegativními bakteriemi jsou asociované s horší prognózou, s možností selhání léčby či s vyšší mortalitou. (Schwaber, 2007, str. 913-920; Tumbarello et al., 2007, str. 1987-1994) Základní problém se zakládá na neúčinnosti rezervních beta-laktamových ATB, mezi ně patří širokospektré cefalosporiny, piperacilin s tazobaktamem, karbapenemy, která jsou častou volbou u vážně nemocných pacientů. Jelikož mikrobiologická identifikace patogena s určením citlivosti a resistence k ATB trvá minimálne 2 dny, dochází ke zpožděnému podání účinného ATB. Dle doporučení „Surviving Sepsis Campaign“ je však žádoucí, aby v léčbě těžké sepse bylo ATB podáno co nejdříve, nejlépe do 1 hodiny od zjištění diagnózy. (Dellinger et al., 2004, str. 536-555)

1.6. Producenti ESBL

1.6.1. Rod Klebsiella

Klebsielly se u člověka vyskytují ve stolici zcela normálně. Do tohoto rodu se řadí dva důležité druhy – *Klebsiella pneumoniae* a *Klebsiella oxytoca*. *Klebsielly* způsobují močové infekce a jsou druhým nejčastějším původcem tohoto onemocnění. Gastroenteritidy, meningitidy novorozenců a sepse způsobené těmito bakteriemi jsou velmi závažné. (Schindler, 2014, str. 78) Bakterie tohoto rodu produkují výrazné polysacharidové pouzdro a vytvářejí bílé mukózní kolonie. Klebsielly obsahují pouzderné antigeny a vyznačují se ureasovou aktivitou. (Votava, 2003, str. 67-68)

1.6.2. Rod Escherichia

Pro člověka je nejdůležitějším zástupcem této skupiny *Escherichia coli*, je běžným komenzálem střevní mikroflóry, brání zde uchycení patogenů a podílí se i na syntéze vitamínu K. Jedná se o pohyblivou bakterii, která štěpí glukosu a laktosu za tvorby plynu, tvoří indol a neštěpí močovinu. (Votava, 2003, str. 64-66) Tento kmen je mimo střevo patogenní, a pokud obsahuje specifické faktory virulence, může vyvolat ve střevě chorobné stavy. (Bartůněk et. al., 2016, str. 320) *Escherichia coli* způsobuje močové infekce především u žen, kterým se tato infekce může vracet. (Schindler, 2014, str. 78)

1.6.3. Rod Enterobacter

Enterobactery se vyskytují v lidském střevě a jsou to pohyblivé opouzdřené gramnegativní tyčinky. Jsou vyznačovány podobnou biochemickou aktivitou jako Klebsielly. Nejvýznamnějšími kmeny, které způsobují onemocnění, jsou *Enterobacter cloacae* a méně častý *Enterobacter aerogenes*. (Votava, 2003, str. 66-67) Pokud se dostanou mimo střevní trakt, způsobují močové infekce a infekce respiračního traktu. (Polenová, 2014, str. 33)

1.6.4. Rod Proteus

Proteus netvoří uzavřené kolonie a jeho nápadnou vlastností je plazivý růst. Do tohoto rodu patří druhy *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* a *Proteus pennerii*. Vyskytují se ve stolici lidí a zvířat, v půdě a na rostlinách a účastní se rozkladu organické hmoty v odpadcích. Tento rod je nápadný tvorbou ureázy. Především *Proteus mirabilis* je původcem močových infekcí v souvislosti s instrumentálním vyšetřením. (Bednář, 1996, str. 267)

1.6.5. Další producenti

Mezi další producenty ESBL jsou zařazeny i jiné gramnegativní bakterie patřící mezi čeleď *Enterobacteriaceae*, které začínají být častěji rezistentní na beta-laktamová ATB. Z větší části však jde v terapii použít cefalosporiny vyšší generace nebo ATB jiné skupiny. Pro příklad bych uvedla zástupce rodu *Citrobacter* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp., *Salmonella* spp. a *Serratia* spp.

1.7. Dopad rezistence na terapii a možnosti léčby

Dříve než byla zavedena ATB do lékařské praxe, vyskytovaly se u bakterií už geny rezistence. Bakterie, které přirozeně produkují antibiotické látky, se tímto způsobem zvýhodňují před jinými mikroby. Tyto bakterie využívají geny rezistence k ochraně před inhibicí vlastními ATB. Takto se mikroby přizpůsobují novým podmínkám v jejich životě.

Pokud se v populaci mikrobů objeví rezistentní jedinec, snaží se pomnožit a rozšířit rezistenci, čímž potlačuje citlivé jedince. Toto podporuje i podávání antimikrobiálních látek, které zničí citlivou populaci, a tím zároveň umožní převládnutí rezistentní populace.

Za vznik rezistence nemohou pouze ATB, ale také k tomu přispívá nadbytečné používání dezinfekčních prostředků ve zdravotnictví, veterinářství, zemědělství, a samozřejmě v domácnostech (čistící prostředky). Dochází k likvidaci běžně se vyskytujících bakterií. Vhodný prostor pro vznik rezistentních bakterií vzniká naředěním přípravků do nižších koncentrací, protože dochází ke stimulaci efluxních pump, kdy jsou nejen odstraněny škodlivé látky, ale i ATB. Takto mohou vznikat multirezistentní kmeny, které se vyskytují běžně v komunitě. (Polenová, 2014, str. 34)

Nejlepší je podání ATB k cílené léčbě, kdy je znám původce onemocnění, je stanovena citlivost, případně je stanovena i rezistence k ATB. V tomto případě je možno podávat cílené (úzkospektré) ATB přímo na daného původce. Při terapii založené na zkušenostech se podává ATB bez známé etiologie nemoci, očekává se nejpravděpodobnější agens a předpokládaná citlivost na tento druh ATB. V případě, že pacient prodělává život ohrožující infekci a nelze čekat na výsledky mikrobiologického vyšetření, podávají se širokospektrá ATB. Tímto se pokryje co nejvíce možných patogenů. Po stanovení původce onemocnění by měla následovat terapie pomocí ATB s úzkým spektrem. Takto by se mělo postupovat pouze v případě život ohrožující infekce.

K negativním důsledkům terapie vede kolonizace rezistentními kmeny. Dochází ke kratšímu přežití pacientů s infekcemi způsobenými multirezistentními kmeny a zvyšuje je mortalita. (Kolář, 2009, str. 22-30)

Gramnegativní tyčky se charakterizují rychlou schopností přizpůsobit se nově zavedeným ATB. Toto dokazuje fakt rychlého nástupu rezistence k cefalosporinům III. generace, a to hlavně díky produkci ESBL, která se může za pomoci konjugace plazmidů šířit dále. Lékem na infekce způsobené těmito kmeny jsou karbapenemy, ale v poslední době přibývá kmenů, které produkují karbapenemázy a zůstává účinný pouze Colimycine. (Polenová, 2014, str. 35) V České republice v roce 2009 byl zachycen kmen *Serratia marcescens*, který produkuje současně metalo-beta-laktamázu, širokospektrou beta-laktamázu a dvě beta-laktamázy typu AmpC. Představuje to hrozbu pro antibiotickou léčbu v dalších letech, protože tento kmen vykazoval rezistenci ke všem dostupným ATB. (Hrabák et al., 2009, str. 139-141) Tyto kmeny jsou označovány jako panrezistentní a do České republiky se mohou dostat přenosem ze zemí jejich častého výskytu, což je např. Turecko a Řecko.

2. Cíle práce a hypotézy

2.1. Cíle práce

Cílem této práce bylo osvojit si metody průkazu ESBL kmenů. A dále zjistit zastoupení ESBL kmenů ve vztahu k celkovému počtu získaných kmenů gramnegativních tyček patřících mezi *Enterobacteriaceae*.

2.2. Hypotézy

1. Předpokládám, že nevyšší výskyt ESBL kmenů, dle nemocničních oddělení, bude zaznamenán na oddělení následné péče a sociálních lůžek a na rehabilitačním oddělení.
2. Předpokládám, že nejvíce mikrobů produkujících ESBL bude prokázáno v moči.
3. Předpokládám, že větší procentuální zastoupení ESBL kmenů bude zjištěno ve vzorcích z nemocnice v porovnání se vzorky z komunity.

3. Praktická část

3.1. Metodika

Data k této bakalářské práci jsem sbírala v období od 1.1.2016 do 31.12.2016 na Oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek, a.s. V této práci jsem se zaměřila na rod *Klebsiella*, rod *Escherichia*, rod *Enterobacter* a rod *Proteus*, které bývají producenty ESBL kmenů. Pokud došlo k izolování těchto rodů z biologického materiálu, testovala jsem je na citlivost k příslušným ATB, popřípadě jsem dále zjišťovala jejich pozitivitu produkce ESBL. Bakterie byly izolovány z klinického materiálu příchozího na Oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek, a.s. Bakterie těchto rodů byly izolovány zejména z moče, ale také např. ze stěru z ložiska a z dalších materiálů.

Ke statistickému zpracování byl použit chí kvadrát test. Tento test byl proveden pomocí softwarového programu Microsoft Excel, kde byla nejprve zpracována tabulka s pozorovanými četnostmi. Dále bylo nutné vypočítat očekávané četnosti podle pravidla: očekávaná četnost = součet ve sloupci / celkový počet * součet v řádku. Na základě tohoto výpočtu vznikla tabulka s očekávanými četnostmi. K výpočtu dosažené hladiny statistické významnosti neboli signifikance (tzv. *p*-hodnoty) bylo využito funkce CHITEST. Funkce CHITEST v Excelu nezobrazuje hodnotu testového kritéria χ_2, zobrazí pouze *p*-hodnotu. Výsledek, tedy dosaženou hladinu statistické významnosti, bylo nutno porovnat s hodnotou 0,05. Pokud je dosažená hladina statistické významnosti <0,05, nulová hypotéza se zamítá a to znamená, že jde o statistikou významnost. V případě dosažení hladiny statistické významnosti >0,05 nelze nulovou hypotézu zamítnout a jde tedy o statistickou nevýznamnost.

3.2. Odběr, transport a zpracování biologického materiálu

U každého vyšetření je velmi důležitý odběr a transport biologického materiálu. Každý biologický materiál má jiné požadavky na odběr a jiné podmínky transportu. Je důležité vše provést správně, aby nedošlo ke kontaminaci vzorku a znehodnocení materiálu.

Po doručení vzorků do laboratoře se zkontrolují s přiloženou žádankou (viz příloha č. 5) a označí se číslem, pod kterým je vzorek veden po celou dobu všech vyšetření. Dále jsou vzorky zpracovány podle standartních laboratorních postupů, naočkovány

a kultivovány na příslušných půdách. Bakterie zmiňovaných rodů se kultivují na krevním agaru (viz příloha č. 6), Endově půdě (viz příloha č. 7) a Deoxycholát-citrát agaru (viz příloha č. 8), lze je však kultivovat i na chromogenní půdě (viz příloha č. 9).

3.3. Kultivace vzorků

Kultivace půd probíhá v termostatu při 36 +/- 1 °C 18-24 hod., případně déle (dle druhu hledaného patogenu). Některé půdy jsou kultivovány mikroaerofilně (přítomnost tenze CO_2), jiné zase anaerobně, kdy kultivace probíhá ve speciálních sáčcích, nebo v anaerobním boxu bez přístupu vzduchu. Kultivace mikrobů patřících do čeledi *Enterobacteriaceae* probíhá aerobně při 37°C.

3.4. Identifikace mikrobů a jejich testování na citlivost k ATB

Druhý den, případně později, po kultivaci vzorku lékař určuje, zda jde o běžnou nebo patogenní mikroflóru a případně identifikuje mikroba. Pokud však není jednoznačně zřejmé, o kterého mikroba se jedná, laborantka provede doplňující biochemické testy. V mém případě byla použita Švejcarova plotna (neboli Biochemický klín), která nahrazuje několik zkumavkových testů (viz příloha č. 10). V příloze č. 11 najdeme popis Švejcarovy plotny, správný postup zhotovení tohoto testu a jeho vyhodnocení.

U identifikovaných vzorků se dále analyzuje jejich citlivost k ATB. Nejprve se vzorky testují diskovým difúzním testem, který patří mezi metody kvalitativní. Jako kultivační půda se zde používá Mueller – Hinton agar (MH). K provedení testu je nutné si připravit suspenzi z vyšetřovaného kmene a fyziologického roztoku (3 ml). Koncentrace inokula buněk bakterií by se měla pohybovat okolo 10^5 buněk/ml, což odpovídá 0,5 McF. (Hrabák et al., 2007, str. 31-36) Suspenze se pomocí výtěrového tamponu nanese na plotnu, kde se po celé plotně rozetře. Plotna se nechá zaschnout a poté se na ní pokládají papírové disky napuštěné daným množstvím ATB. Takto naočkované plotny se kultivují při 37 °C do druhého dne. (viz příloha č. 12)

Principem této metody je proniknutí molekuly ATB z disku do agaru za tvorby koncentračního gradientu. Určitá koncentrace ATB potlačuje růst a množení vyšetřovaného mikroba a při kultivaci vytváří inhibiční zónu (IZ) v okolí disku s ATB. (viz příloha č. 13) Na základě velikosti IZ (mm) lze posuzovat citlivost nebo rezistenci mikroba k danému ATB. Podle tabulek EUCAST poznáme, které ATB je citlivé a které nikoliv (viz příloha č. 14). IZ lze odečíst vizuálně nebo pomocí automatu. Celý postup

musí být standardizován, jelikož výsledek může být ovlivněn řadou faktorů (např. tloušťka agaru nebo velikost bakteriálního inokula). (Melter, 2014, str. 35-36)

Druhým testem, který se používá k analýze citlivosti na ATB, je test kvantitativní. Tato metoda se provádí jako bujónová mikrodiluční metoda nebo agarová diluční metoda a je vhodná ke zjištění minimální inhibiční koncentrace (MIC). MIC je nejnižší koncentrace ATB v µg/ml, která potlačuje viditelný růst bakterie. Breakpoint (hranice) v µg/ml třídí testovaný mikroorganismus na rezistentní nebo citlivý. (Melter, 2014, str. 36)

K tomuto testu se používají vyšetřovací destičky s jamkami (G-1 a G-2), ve kterých je obsažen bujón s koncentračním gradientem ATB (viz příloha č. 15). Tyto jamky jsou inokulovány 100 µl bakteriální suspenze o 0,5 McF. Přesné měření 0,5 McF se provádí na přístroji, který se nazývá denzitometr (viz příloha č. 16). Takto hotové destičky se inkubují v termostatu 16-20 hod. při 35 +/- 2°C. (Melter, 2014, str. 36; Příbalová informace k soupravě MIC G-1, 2013) Jamka s nejnižší koncentrací ATB, která zamezí okem viditelnému růstu bakterií, je hodnocena jako MIC (viz přílohy č. 17 a 18). (Příbalová informace k soupravě MIC G-1, 2013)

Na základě velikosti IZ nebo hodnoty MIC se mikroorganismus považuje buď to za citlivý nebo rezistentní k ATB. (Melter, 2014, str. 36) V případě MIC jsou výsledky interpretovány do kategorií citlivosti pomocí break-pointů ATB, které jsou vyjádřené hodnotou MIC v mg/l. Tyto break-pointy stanovuje European Committee on Antimicrobial Suspectibility Testing (EUCAST) v základním dokumentu. (EUCAST, 2000, str. 570-572)

3.5. Vyšetření produkce ESBL

Jako screening test lze použít chromogenní půdu Brilliance ESBL Agar, která slouží k předběžné identifikaci ESBL produkujících bakterií přímo z klinických vzorků za 24 hod. (viz příloha č. 19). (Thermo scienntific)

Pro detekci produkce AmpC a širokospektrých beta-laktamáz se používá testovací sada ESBL a AmpC MASTDISCS neboli MAST test. V případě průkazu ESBL je principem, využití inhibice hydrolýzy ATB kyselinou klavulanovou. K vyhledání podezřelých kmenů je možno použít výsledky vyšetření citlivosti pomocí diskové difúzní metody, nebo hodnoty MIC. (Procházková, 2016, str. 1) Sada k testu obsahuje 4 cartridge, z nichž každá obsahuje 50 disků (viz příloha č. 20):

Cartridge A: disky s obsahem 10 µg cefpodoximu

Cartridge B: disky s obsahem 10 µg cefpodoximu + ESBL inhibitor

Cartridge C: disky s obsahem 10 µg cefpodoximu + AmpC inhibitor

Cartridge D: disky s obsahem 10 µg cefpodoximu + ESBL inhibitor + AmpC inhibitor (Mast Group, 2009)

Na MH agar se naočkuje vyšetřovaná, čistá a čerstvá kultura. Na takto připravený MH agar se rovnoměrně rozmístí 4 ATB disky pomocí sterilní pipety ve vzdálenosti cca 2 cm od sebe (viz příloha č. 21). Hotové plotny se inkubují v termostatu po dobu 18 až 24 hod. Druhý den se odečítají výsledky za pomoci měření IZ okolo jednotlivých disků a porovnávají se mezi sebou podle návodu pro interpretaci výsledků. (Marinčáková, 2016, str. 41)

Interpretace výsledků vychází z rozdílu mezi IZ kolem disku A a kolem ostatních disků. Nejprve se porovnává IZ kolem disku A s IZ zbylých disků (B, C a D). Výsledek testu je negativní a testovaný kmen nevykazuje aktivitu AmpC ani ESBL, pokud je rozdíl průměrů IZ do 2 mm (viz příloha č. 22). Je-li však rozdíl průměrů IZ disků B-A a D-C větší nebo roven 5 mm a každý z rozdílu D-B a C-A menší než 5 mm, vykazuje testovaný mikroorganismus ESBL aktivitu (viz příloha č. 23). Dále pokud je rozdíl průměrů IZ disků B-A a D-C menší než 5 mm a každý z rozdílu D-B a C-A větší nebo roven 5 mm, vykazuje testovaný mikroorganismus AmpC aktivitu. Pokud dojde k tomu, že rozdíl průměrů IZ D-C je větší nebo roven 5 mm, ale rozdíl průměrů IZ B-A je menší než 5 mm, vykazuje testovaný mikroorganismus kombinaci ESBL a AmpC aktivity. (Marinčáková, 2016, str. 40-41)

3.6. Kontrola kvality

Kontrola kvality je nedílnou součástí správné laboratorní praxe. Nutné je pracovat s ověřenými diagnostikami od výrobce a zároveň kontrolovat, zda kvalita zůstává zachována i v aktuálních laboratorních podmínkách. Kontrola kvality diagnostických souprav je zajištěna výrobcem, která je doložena certifikátem (osvědčením kvality). Kontrola komerčních souprav se provádí za pomoci sbírkových kmenů v laboratorních podmínkách uživatele. (Marinčáková, 2016, str. 42-43)

Sbírkové kmeny lze získat od společnosti České sbírky mikroorganismů (CCM), která uchovává kultury mikroorganismů. (České sbírky mikroorganismů (CCM), 2017) Sbírkové kmeny jsou uchovávány ve tmavých lahvičkách, na kterých můžeme nalézt nápis o jaký sbírkový kmen se jedná, číslo, pod kterým je tento kmen veden ve společnosti CCM, podmínky uchovávání a doba expirace (viz příloha č. 24). Vše o CCM, včetně sbírkových kmenů, lze najít na http://www.sci.muni.cz/ccm/.

Provádí se také kontrola ATB disků pomocí referenčních sbírkových kmenů. Kontrola se provádí u každé nové šarže ATB disků, ale také u již používaných disků v raznicích. Kontrolují se také růstové vlastnosti půd určených k testování citlivostí. Důležitou součástí kontroly kvality je kontrola doby expirace u komerčních diagnostických souprav a kitů používaných při vyšetření, a také dodržování a monitorování skladovacích podmínek těchto souprav. (Marinčáková, 2016, str. 43)

4. Výsledky

Na oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek, a.s. bylo v roce 2016 zaznamenáno celkem 933 vzorků s pozitivním nálezem bakterie rodu *Klebsiella*, z toho 306 těchto bakterií produkovalo ESBL. V případě rodu *Escherichia* se jednalo o 4 437 pozitivních vzorků tohoto rodu, z toho 219 těchto bakterií produkovalo ESBL. Dalším sledovaným rodem byl rod *Enterobacter*, pozitivních vzorků tohoto rodu bylo 329, z toho 46 produkovalo ESBL. Posledním sledovaným rodem byl rod *Proteus*, který měl pozitivní zastoupení v 953 vzorcích, z nichž 51 produkovalo ESBL. Zastoupení těchto rodů ukazuje tabulka č. 1.

Je však nutno zdůraznit, že ne všechny vzorky s pozitivním nálezem bakterií z těchto rodů se dále testují na produkci ESBL. Na produkci ESBL se testují bakterie ze vzorků z oddělení nemocnice, z ambulancí nemocnice a dále všechny vzorky močí z hemodialyzačního oddělení. V případě přijatých vzorků z ordinací mimo nemocnici, kam patří lékaři s vlastní praxí, kteří spadají do oblasti Nemocnice Písek, a.s., se testují na produkci ESBL pouze bakterie, které jsou rezistentní k furantoinu při stanovení základní citlivosti.

Tabulka č. 1: Zastoupení rodu *Klebsiella*, rodu *Escherichia*, rodu *Enterobacter* a rodu *Proteus*, včetně produkce ESBL

	počet celkem	počet ESBL
rod *Klebsiella*	933	306
rod *Escherichia*	4 437	219
rod *Enterobacter*	329	46
rod *Proteus*	953	51

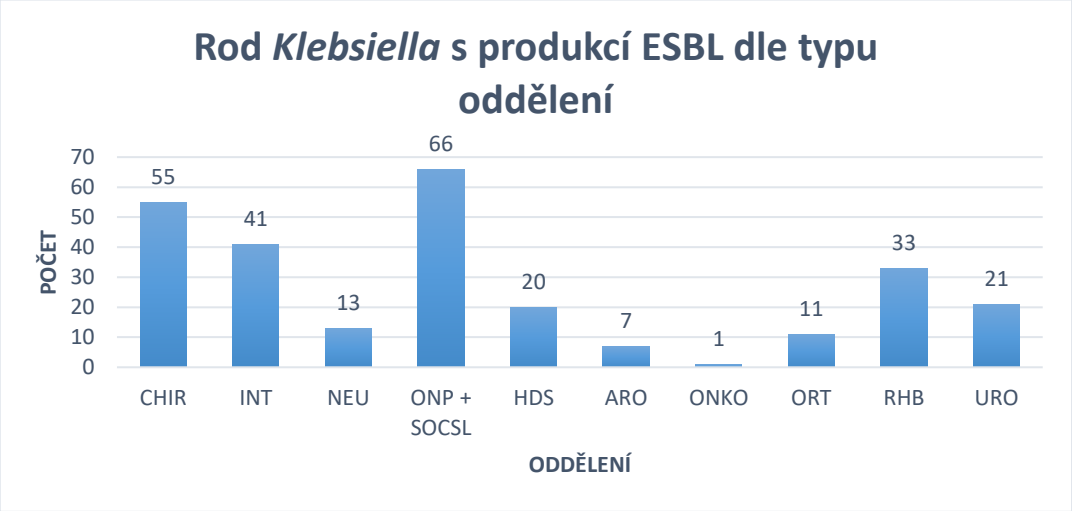
4.1. Rozdělení izolátů dle typu nemocničního oddělení

4.1.1. Rod Klebsiella

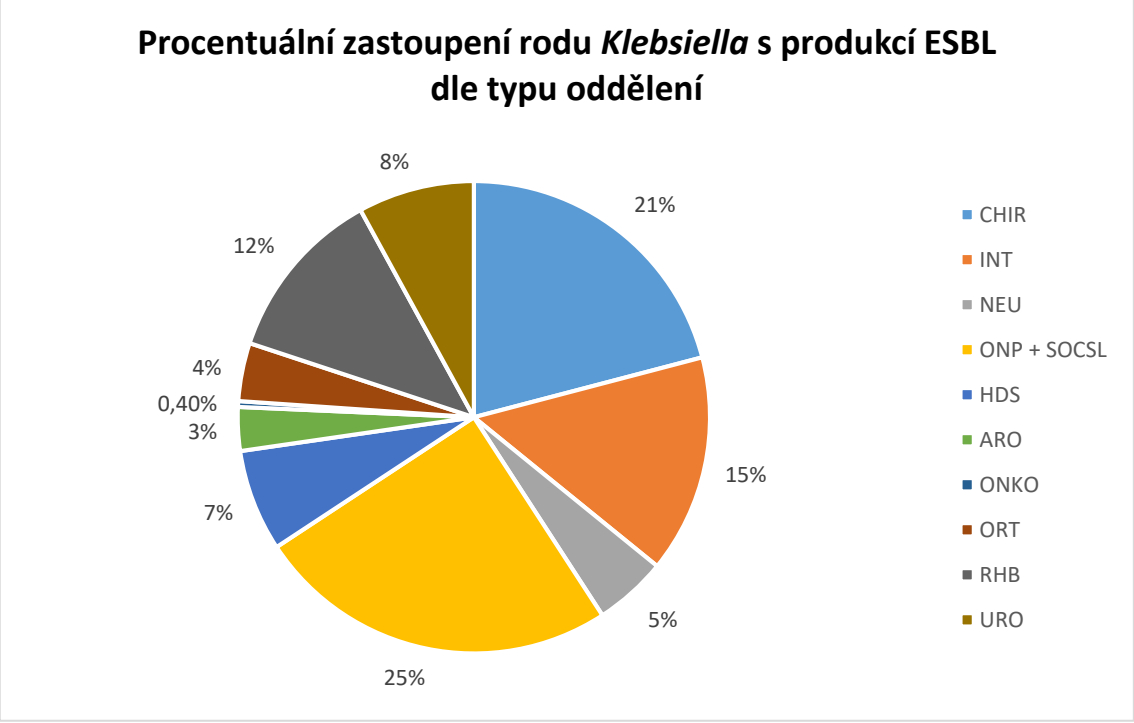
V této části jsou vzorky rozděleny podle nemocničních oddělení na chirurgické oddělení (CHIR), oddělení následní péče (ONP) + sociální lůžka (SOCSL), interní oddělení (INT), neurologické oddělení (NEU), rehabilitační oddělení (RHB), ortopedické

oddělení (ORT), urologické oddělení (URO), anestezio-resuscitační oddělení (ARO), hemodialyzační oddělení (HDS) a onkologické oddělení (ONKO). Analýzu výskytu rodu *Klebsiella* s produkcí ESBL, dle typu nemocničního oddělení, uvádí graf č. 1. Procentuální zastoupení tohoto rodu s produkcí ESBL, dle typu oddělení nemocnice, znázorňuje graf č. 2.

Graf č. 1: Výskyt rodu *Klebsiella* s produkcí ESBL, dle typu nemocničního oddělení, za rok 2016



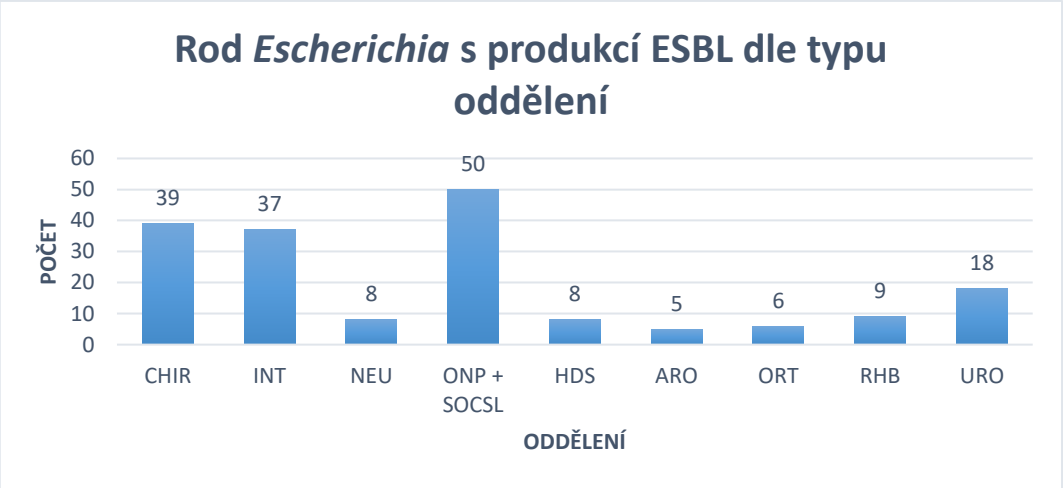
Graf č. 2: Procentuální zastoupení rodu *Klebsiella* s produkcí ESBL, dle typu nemocničního oddělení, za rok 2016



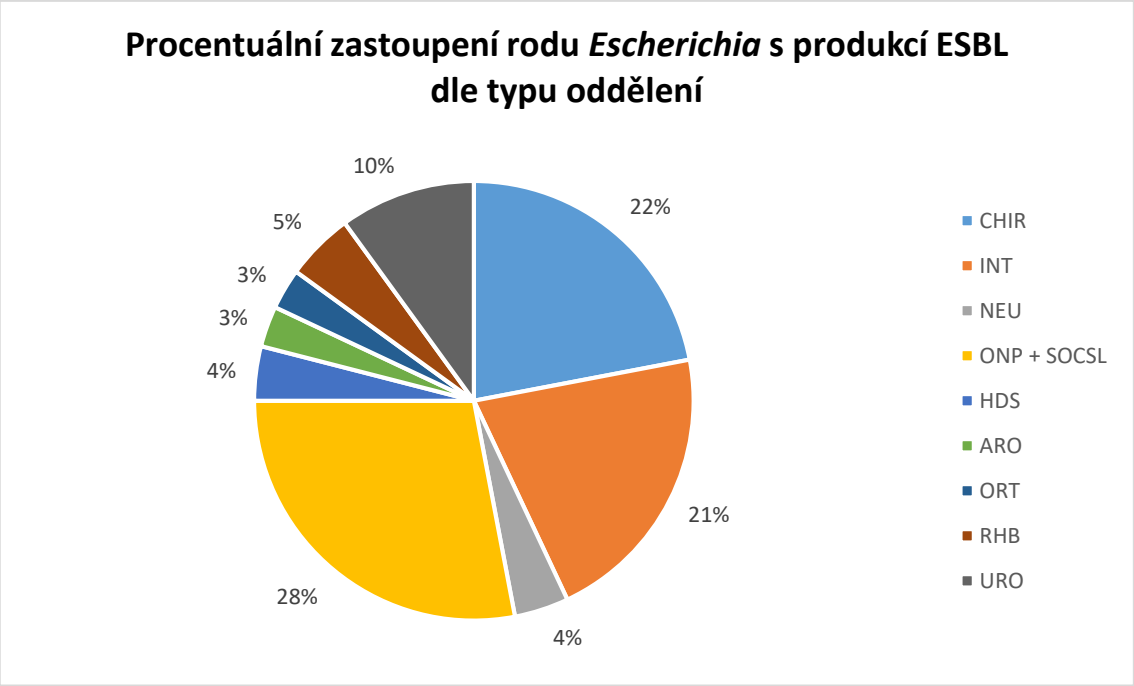
4.1.2. Rod Escherichia

V případě rodu *Escherichia* se jednalo o anestezio-resuscitační oddělení (ARO), oddělení následní péče (ONP) + sociální lůžka (SOCSL), hemodialyzační oddělení (HDS), chirurgické oddělení (CHIR), interní oddělení (INT), neurologické oddělení (NEU), ortopedické oddělení (ORT), rehabilitační oddělení (RHB) a urologické oddělení (URO). Analýzu výskytu rodu *Escherichia* s produkcí ESBL, dle typu nemocničního oddělení, uvádí graf č. 3. Procentuální zastoupení tohoto rodu s produkcí ESBL, dle typu oddělení nemocnice, znázorňuje graf č. 4.

Graf č. 3: Výskyt rodu *Escherichia* s produkcí ESBL, dle typu nemocničního oddělení, za rok 2016



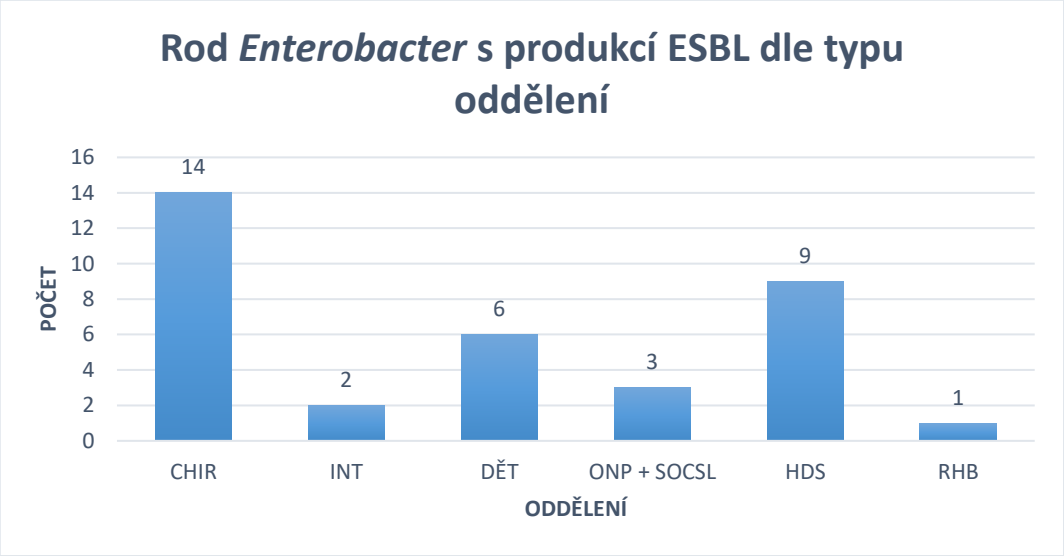
Graf č. 4: Procentuální zastoupení rodu *Escherichia* s produkcí ESBL, dle typu nemocničního oddělení, za rok 2016



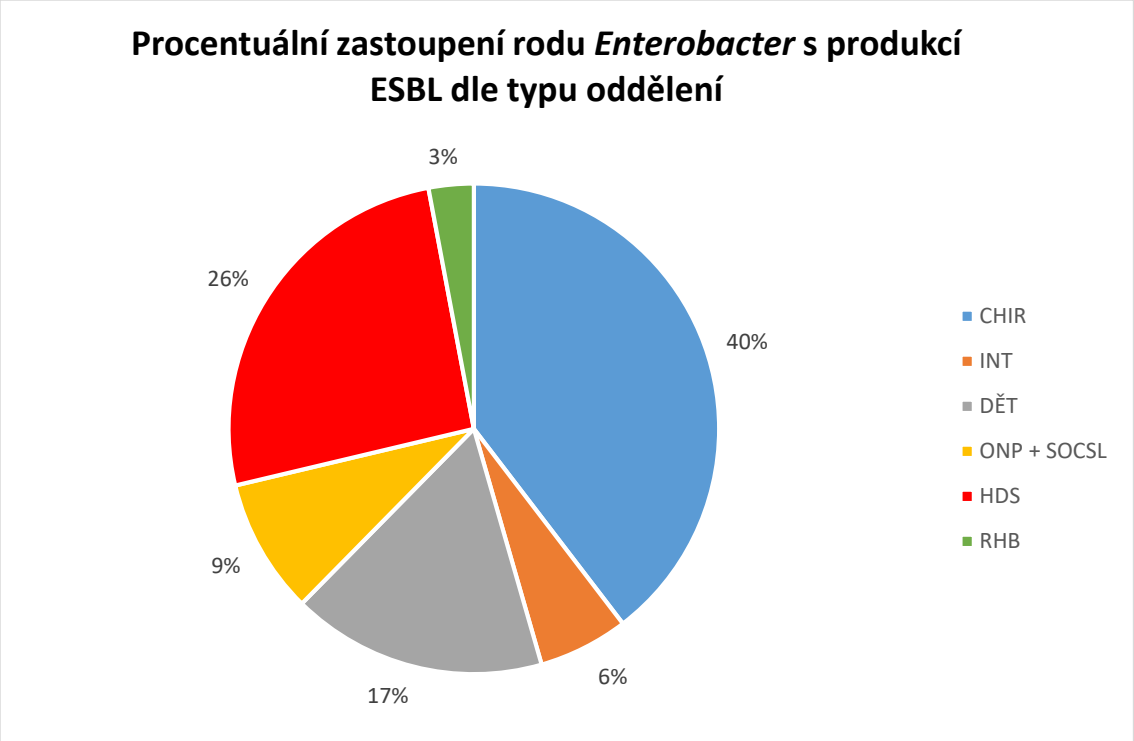
4.1.3. Rod Enterobacter

Bakterie rodu *Enterobacter* měly zastoupení na dětském oddělení (DĚT), chirurgickém oddělení (CHIR), interním oddělení (INT), hemodialyzačním oddělení (HDS), oddělení následné péče (ONP) + sociální lůžka (SOCSL) a na rehabilitačním oddělení (RHB). Analýzu výskytu rodu *Enterobacter* s produkcí ESBL, dle typu nemocničního oddělení, uvádí graf č. 5. Procentuální zastoupení tohoto rodu s produkcí ESBL, dle typu oddělení nemocnice, znázorňuje graf č. 6.

Graf č. 5: Výskyt rodu *Enterobacter* s produkcí ESBL, dle typu nemocničního oddělení, za rok 2016



Graf č. 6: Procentuální zastoupení rodu *Enterobacter* s produkcí ESBL, dle typu nemocničního oddělení, za rok 2016

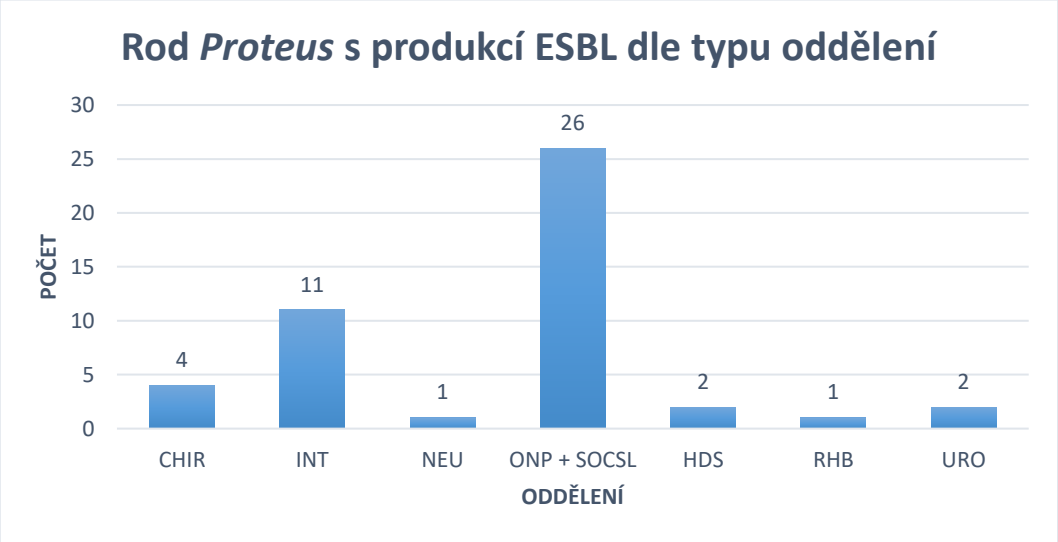


4.1.4. Rod Proteus

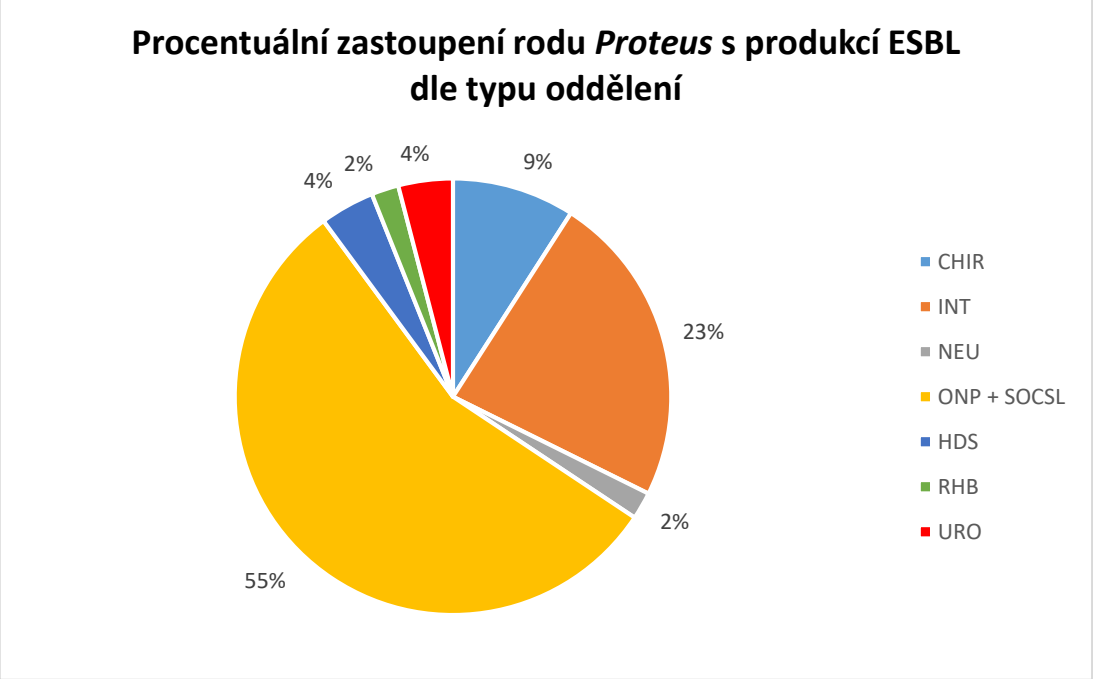
Bakterie rodu *Proteus* byly prokázány ve vzorcích z oddělení následné péče (ONP) + sociální lůžka (SOCSL), hemodialyzačního oddělení (HDS), chirurgického oddělení

(CHIR), interního oddělení (INT), neurologického oddělení (NEU), rehabilitačního oddělení (RHB) a z urologického oddělení (URO). Analýzu výskytu rodu *Proteus* s produkcí ESBL, dle typu nemocničního oddělení, uvádí graf č. 7. Procentuální zastoupení tohoto rodu s produkcí ESBL, dle typu oddělení nemocnice, znázorňuje graf č. 8.

Graf č. 7: Výskyt rodu *Proteus* s produkcí ESBL, dle typu nemocničního oddělení, za rok 2016



Graf č. 8: Procentuální zastoupení rodu *Proteus* s produkcí ESBL, dle typu nemocničního oddělení, za rok 2016



4.1.5. Statistické zpracování

Pomocí funkce CHITEST programu Excel byla zjištěna hodnota signifikance $p = 3{,}24 * 10^{-34}$, což je podstatně menší než 0,05. Z toho vyplývá, že můžeme zamítnout nulovou hypotézu, a tudíž je rozdíl mezi pozorovanými a očekávanými hodnotami, tedy mezi výsledky, dle nemocničních oddělení, statisticky významný.

4.2. Rozdělení izolátů dle typu klinického materiálu

Data byla rozdělena dle výskytu rodu *Klebsiella,* rodu *Escherichia,* rodu *Enterobacter* a rodu *Proteus* v konkrétním typu materiálu. Výskyt byl sledován v katetrech, částích tkáně, hemokulturách, výtěrech z abscesů a hnisu, z drenů, moče, stěrů (z dekubitu, kůže, ložisek), výtěrů z laparotomie, ze žlučníků, z kanyl a výtěrů z rekta (pouze v případě novorozenců). Výsledky na základě producenta a materiálu jsou zobrazeny v tabulce č. 2.

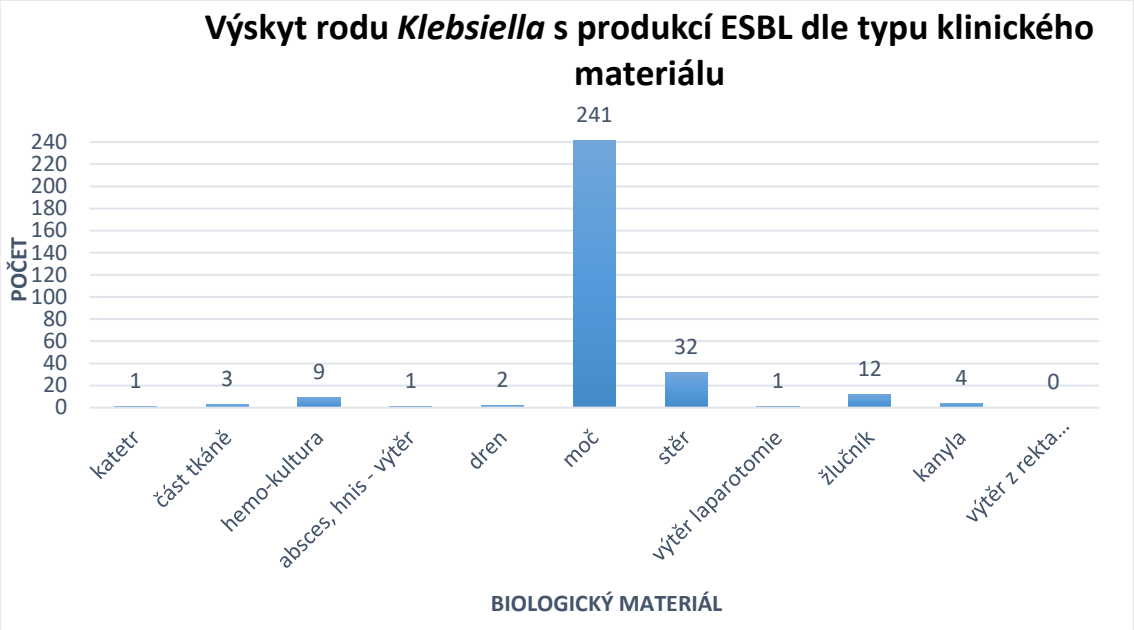
Tabulka č. 2: Výskyt rodu *Klebsiella,* rodu *Escherichia,* rodu *Enterobacter* a rodu *Proteus* s produkcí ESBL, dle klinického materiálu, v roce 2016

Druh	katetr	část tkáně	hemo-kultura	Výtěr – absces, hnis	dren	moč	stěr	výtěr laparotomie	žlučník	kanyla	výtěr z rekta (novorozenci)	celkem
rod *Klebsiella*	1	3	9	1	2	241	32	1	12	4	0	306
rod *Escherichia*	0	1	3	4	0	184	12	1	12	2	0	219
rod *Enterobacter*	0	0	2	0	1	38	0	0	0	2	3	46
rod *Proteus*	0	1	0	0	0	38	8	0	0	4	0	51
celkem	1	5	14	5	3	501	52	2	24	12	3	622

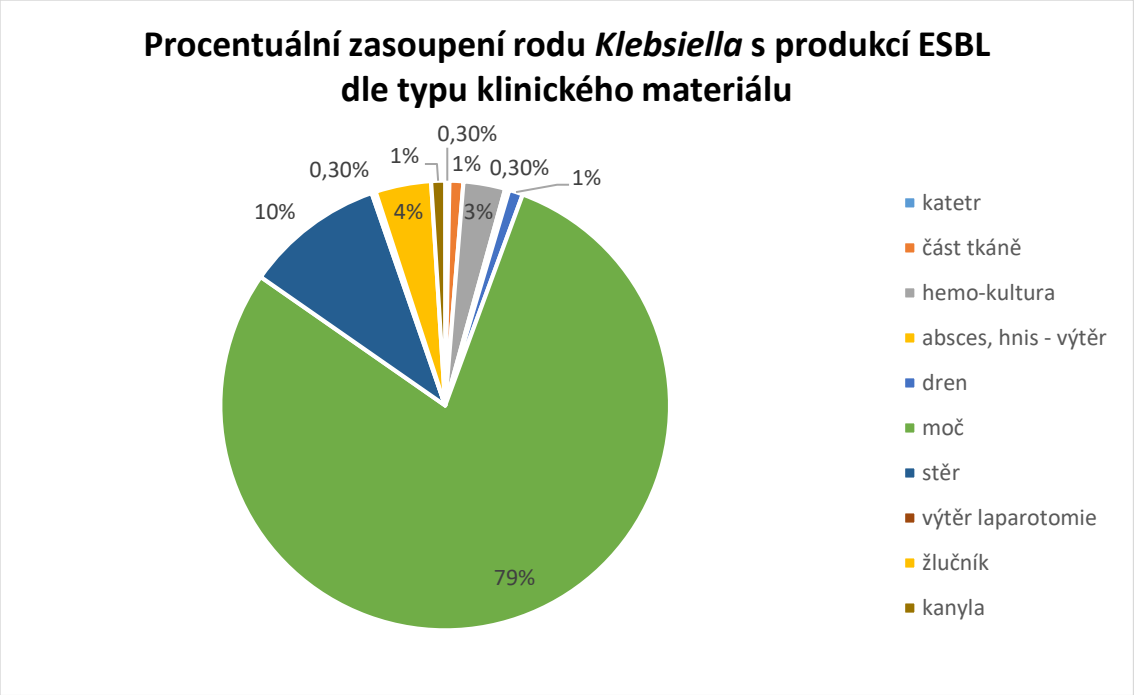
4.2.1. Rod Klebsiella

Bakterie rodu *Klebsiella* se vyskytovaly v katetru, částích tkáně, hemokulturách, výtěru z hnisu, drenu, moči, stěrech (dekubity, kůže, ložiska), výtěru z laparotomie, žlučníku a kanylách. Analýzu výskytu rodu *Klebsiella* s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, uvádí graf č. 9. Procentuální zastoupení tohoto rodu s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, znázorňuje graf č. 10.

Graf č. 9: Výskyt rodu *Klebsiella* s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, za rok 2016



Graf č. 10: Procentuální zastoupení rodu *Klebsiella* s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, za rok 2016

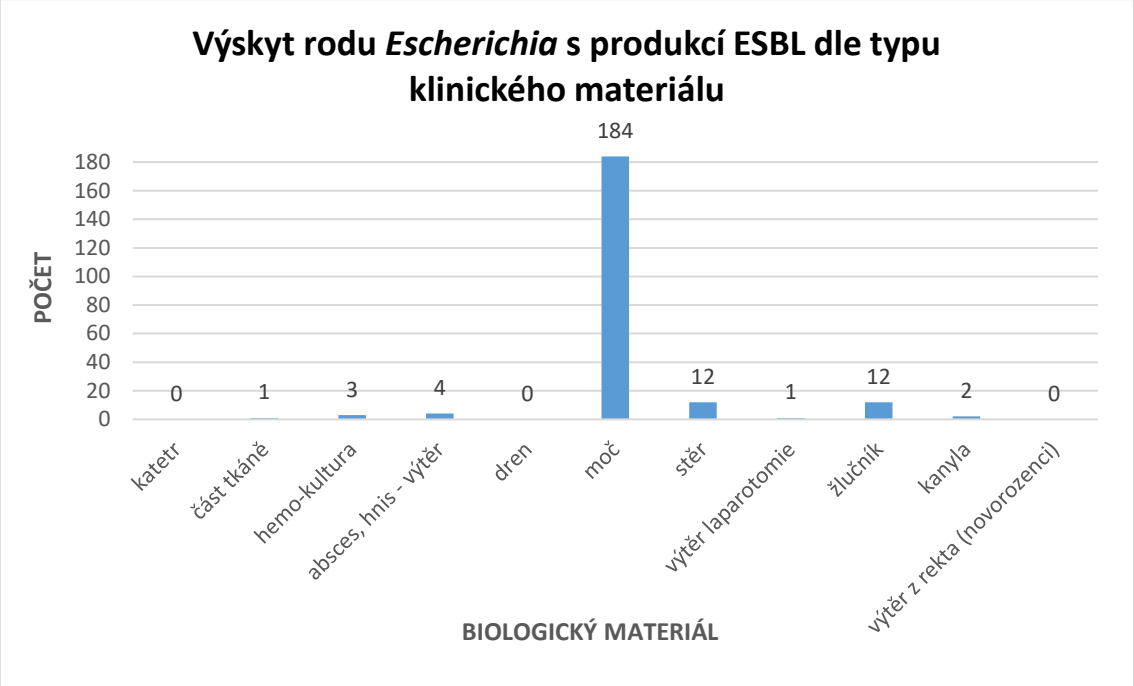


4.2.2. Rod Escherichia

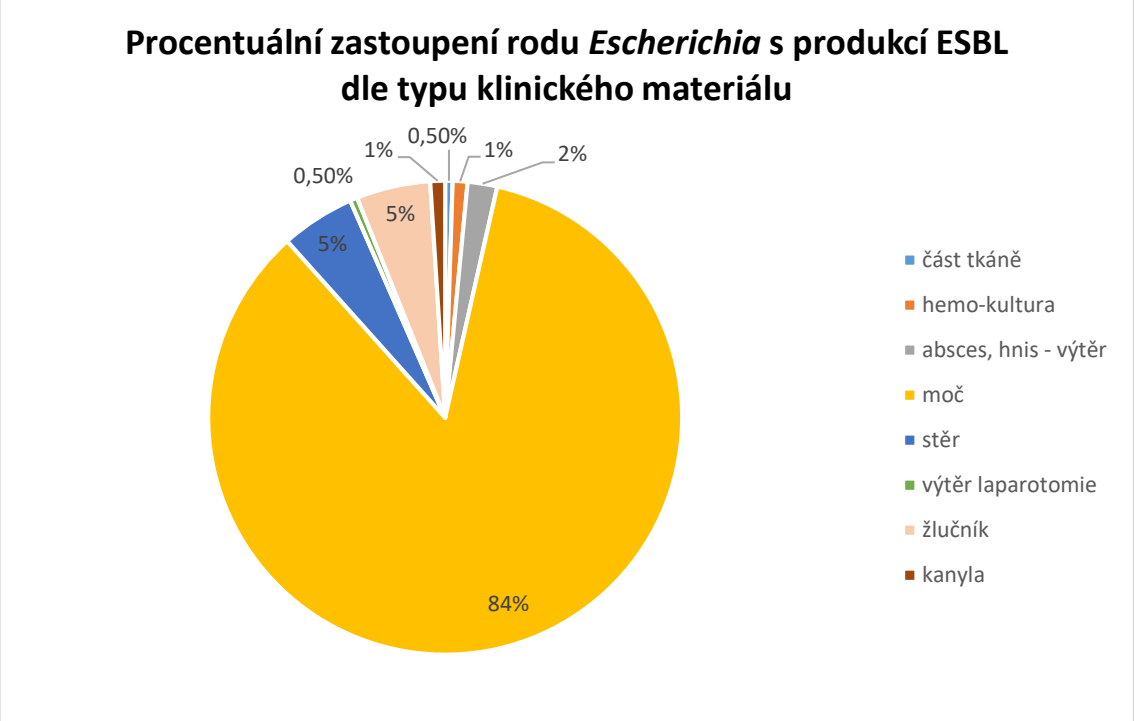
Bakterie patřící do rodu *Escherichia* byly nalezeny ve výtěrech z abscesu a hnisu, částech tkání, kanylách, hemokulturách, močích, stěrech (dekubity, ložiska), výtěrech

z laparotomie a ve žlučnících. Analýzu výskytu rodu *Escherichia* s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, uvádí graf č. 11. Procentuální zastoupení tohoto rodu s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, znázorňuje graf č. 12.

Graf č. 11: Výskyt rodu *Escherichia* s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, za rok 2016



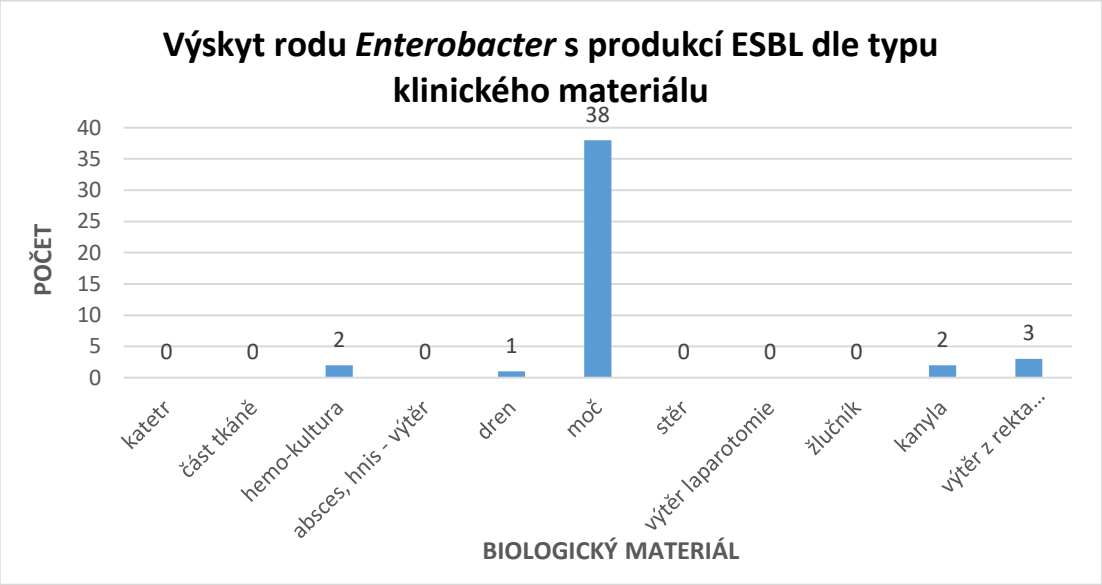
Graf č. 12: Procentuální zastoupení rodu *Escherichia* s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, za rok 2016



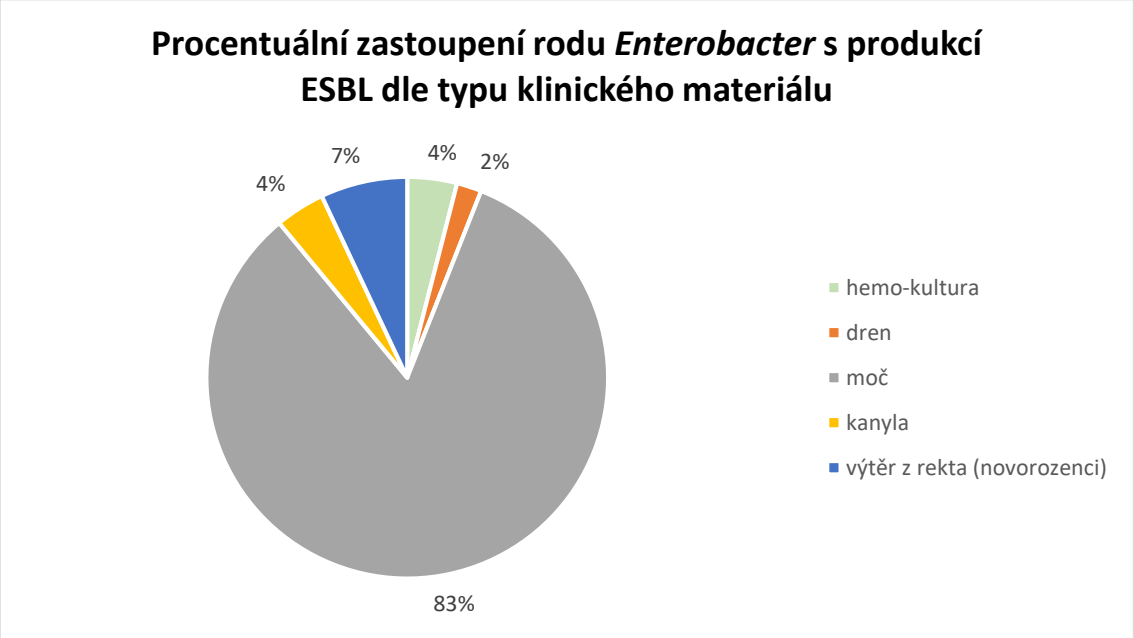
4.2.3. Rod Enterobacter

V případě bakterií tohoto rodu se jedná o klinické materiály jako je kanyla, hemokultura, dren, moč a výtěr z rekta (pouze novorozenci). Analýzu výskytu rodu *Enterobacter* s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, uvádí graf č. 13. Procentuální zastoupení tohoto rodu s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, znázorňuje graf č. 14.

Graf č. 13: Výskyt rodu *Enterobacter* s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, za rok 2016



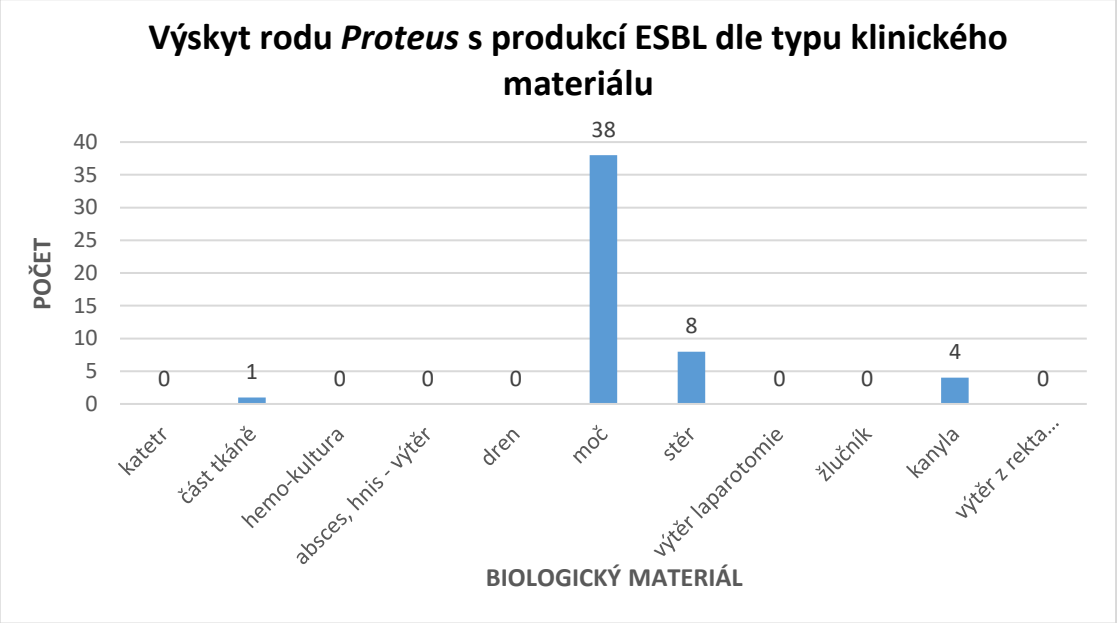
Graf č. 14: Procentuální zastoupení rodu *Enterobacter* s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, za rok 2016



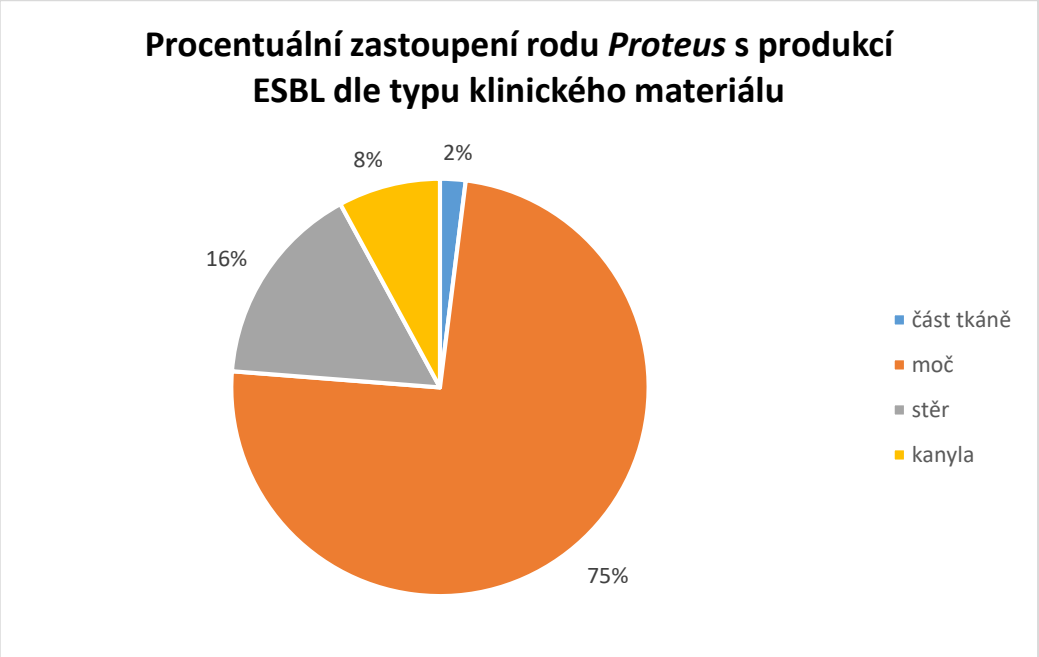
4.2.4. Rod Proteus

Bakterie tohoto rodu se nacházely v části tkáně, kanylách, močích a stěrech (dekubity, kůže, ložiska). Analýzu výskytu rodu *Proteus* s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, uvádí graf č. 15. Procentuální zastoupení tohoto rodu s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, znázorňuje graf č. 16.

Graf č. 15: Výskyt rodu *Proteus* s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, za rok 2016



Graf č. 16: Procentuální zastoupení rodu *Proteus* s produkcí ESBL, dle typu klinického materiálu, za rok 2016



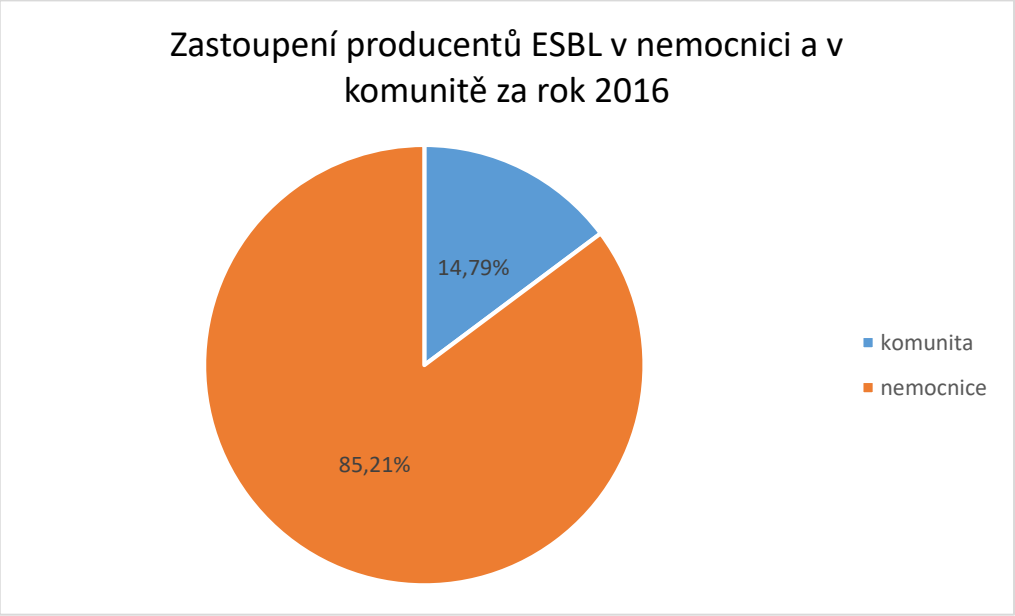
4.2.5. Statistické zpracování

Pomocí funkce CHITEST programu Excel byla zjištěna hodnota signifikance $p = 5{,}93 * 10^{-10}$, což je menší než 0,05. Z toho vyplývá, že můžeme zamítnout nulovou hypotézu, a tudíž je rozdíl mezi pozorovanými a očekávanými hodnotami, tedy mezi výsledky, dle typu klinického materiálu, statisticky významný.

4.3. Počet producentů ESBL v nemocnici a v komunitě

V této části je znázorněn vztah mezi výskytem producentů ESBL zmiňovaných rodů v nemocnici a v komunitě. Do komunity jsou zařazeni producenti ESBL, kteří byli zjištěni v klinických materiálech poslaných z ordinací lékařů s vlastní praxí, kteří spadají do oblasti Nemocnice Písek, a.s. Výsledky vyobrazuje graf č. 17.

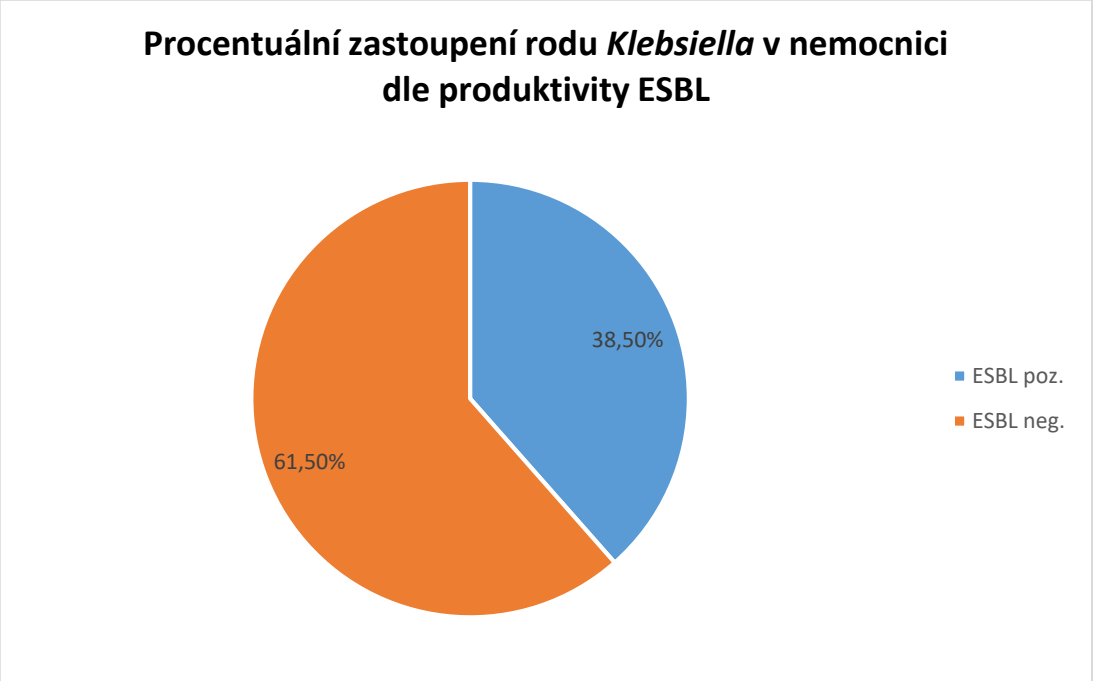
Graf č. 17: Procentuální zastoupení producentů ESBL zmiňovaných rodů v nemocnici a v komunitě, za rok 2016



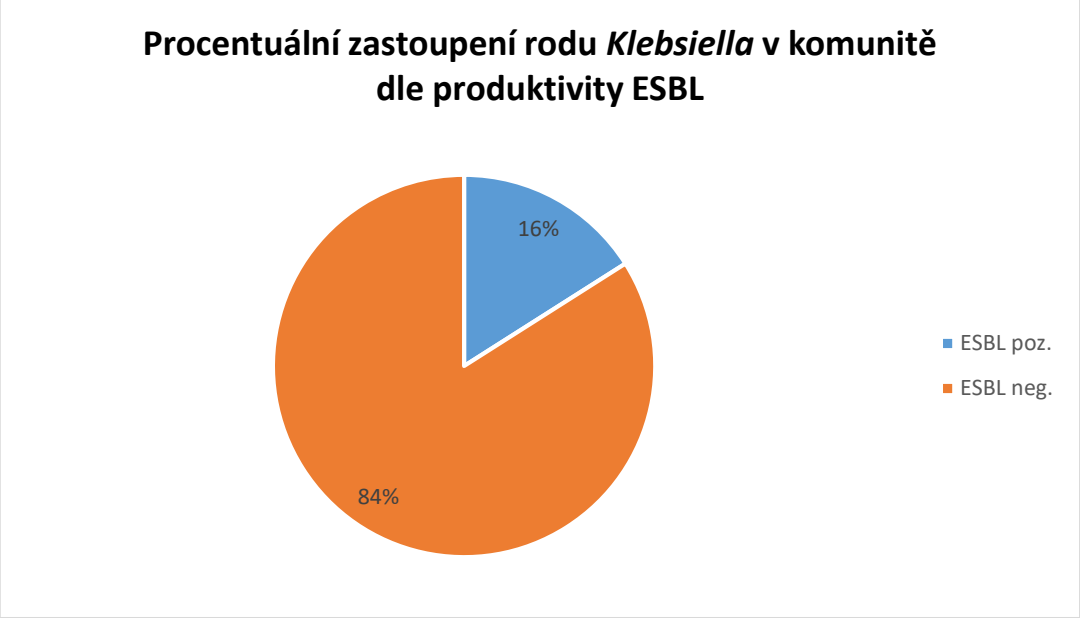
4.3.1. Rod Klebsiella

Graf č. 18 znázorňuje procentuální zastoupení rodu *Klebsiella* dle produktivity ESBL v nemocnici a dále graf č. 19 ukazuje procentuální zastoupení tohoto rodu dle produktivity ESBL v komunitě.

Graf č. 18: Procentuální zastoupení rodu *Klebsiella* v nemocnici, dle produktivity ESBL, za rok 2016



Graf č. 19: Procentuální zastoupení rodu *Klebsiella* v komunitě, dle produktivity ESBL, za rok 2016



4.3.2. Rod Escherichia

Graf č. 20 znázorňuje procentuální zastoupení rodu *Escherichia* dle produktivity ESBL v nemocnici a dále graf č. 21 ukazuje procentuální zastoupení tohoto rodu dle produktivity ESBL v komunitě.

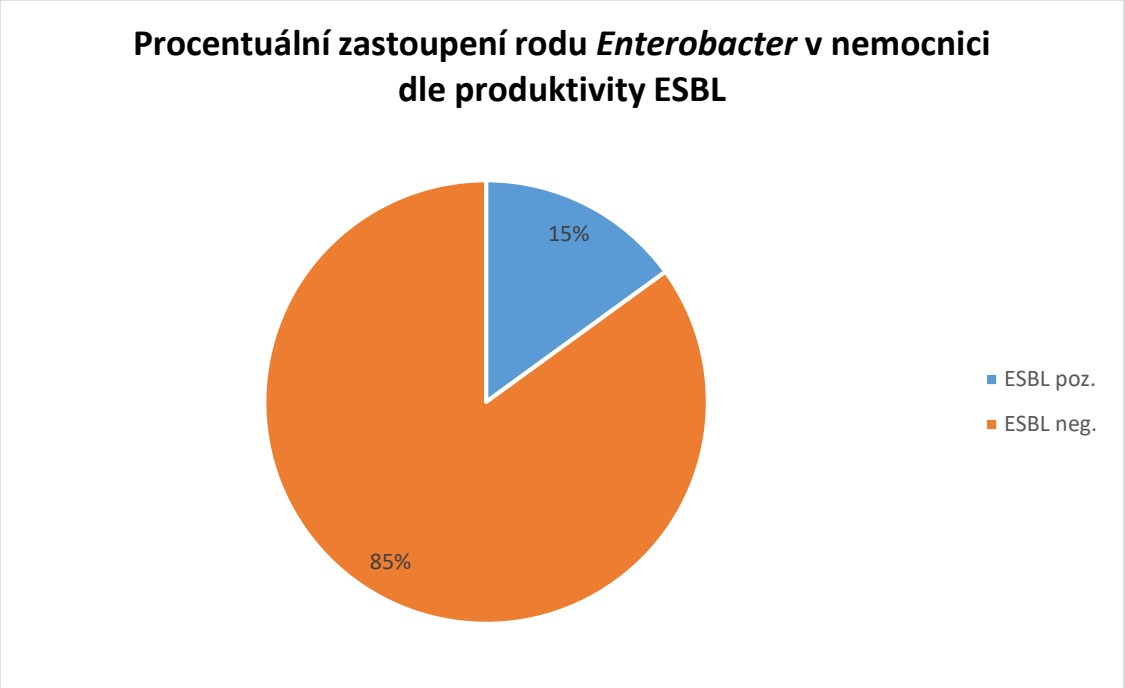
Graf č. 20: Procentuální zastoupení rodu *Escherichia* v nemocnici, dle produktivity ESBL, za rok 2016

Graf č. 21: Procentuální zastoupení rodu *Escherichia* v komunitě, dle produktivity ESBL, za rok 2016

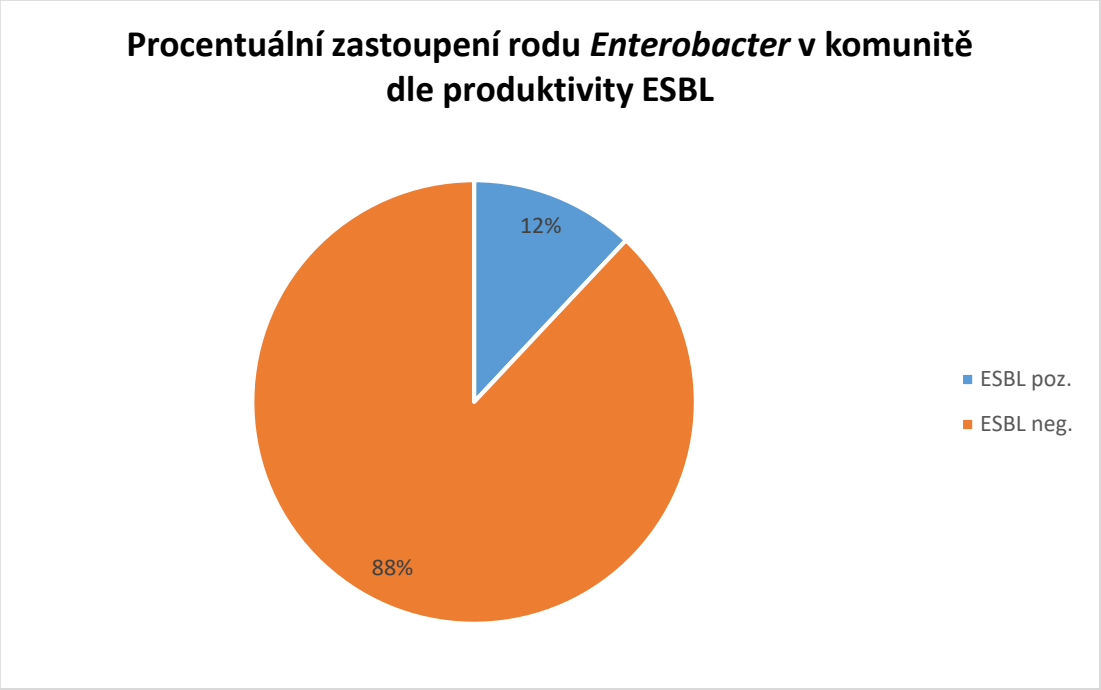
4.3.3. Rod Enterobacter

Graf č. 22 znázorňuje procentuální zastoupení rodu *Enterobacter* dle produktivity ESBL v nemocnici a dále graf č. 23 ukazuje procentuální zastoupení tohoto rodu dle produktivity ESBL v komunitě.

Graf č. 22: Procentuální zastoupení rodu *Enterobacter* v nemocnici, dle produktivity ESBL, za rok 2016



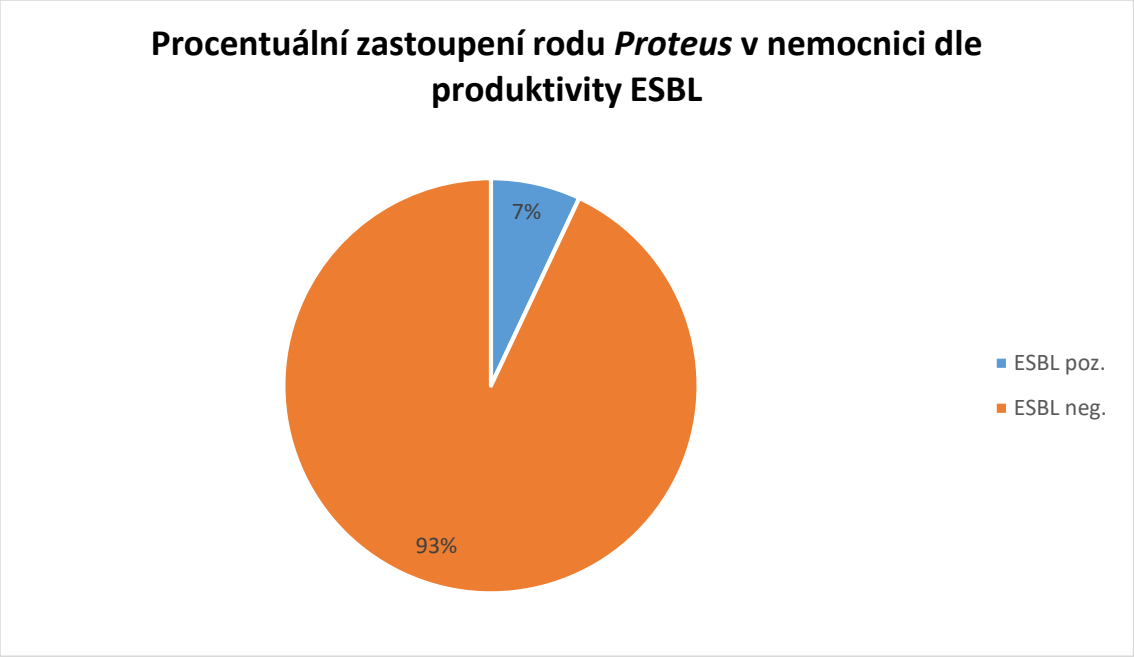
Graf č. 23: Procentuální zastoupení rodu *Enterobacter* v komunitě, dle produktivity ESBL, za rok 2016



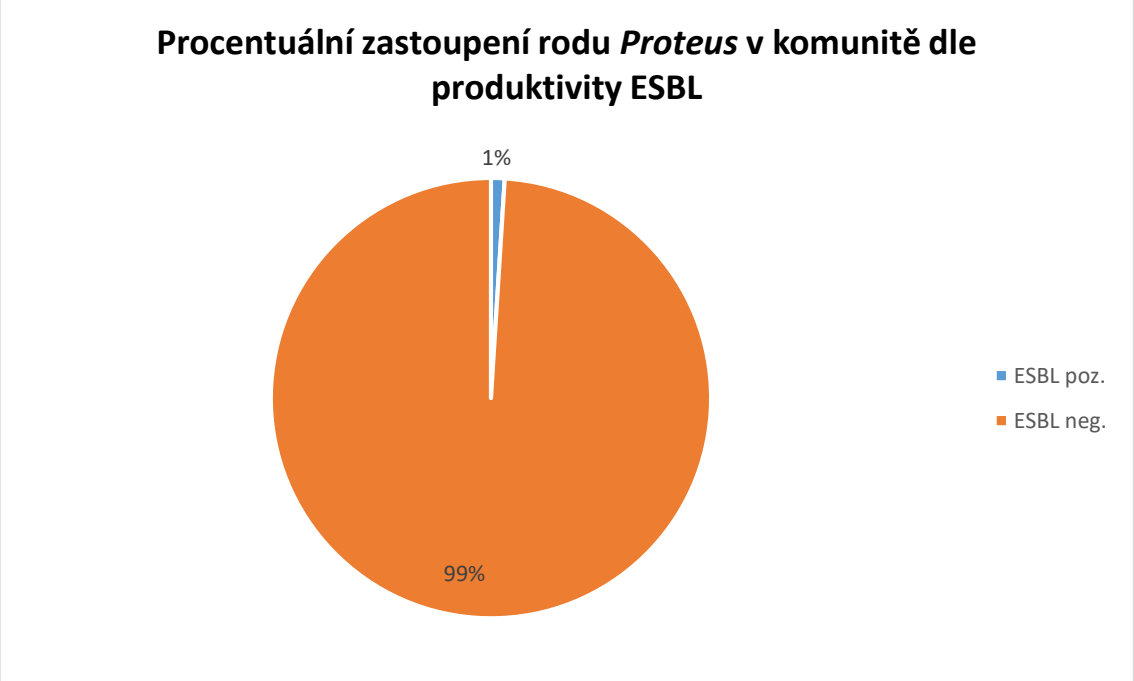
4.3.4. Rod Proteus

Graf č. 24 znázorňuje procentuální zastoupení rodu *Proteus* dle produktivity ESBL v nemocnici a dále graf č. 25 ukazuje procentuální zastoupení tohoto rodu dle produktivity ESBL v komunitě.

Graf č. 24: Procentuální zastoupení rodu *Proteus* v nemocnici, dle produktivity ESBL, za rok 2016



Graf č. 25: Procentuální zastoupení rodu *Proteus* v komunitě, dle produktivity ESBL, za rok 2016



4.3.5. Statistické zpracování

Pomocí funkce CHITEST programu Excel byla zjištěna hodnota signifikance $p = 3{,}86 * 10^{-46}$, což je výrazně menší než 0,05. Z toho vyplývá, že můžeme zamítnout

nulovou hypotézu, a tudíž je rozdíl mezi pozorovanými a očekávanými hodnotami, tedy mezi výsledky získanými z nemocnice a komunity, statisticky významný.

5. Diskuze

Cílem práce bylo osvojit si metody průkazu ESBL kmenů a dále zjistit zastoupení ESBL kmenů ve vztahu k celkovému počtu získaných kmenů gramnegativních tyček patřících mezi *Enterobacteriaceae*. Tato práce byla zaměřena na rod *Klebsiella,* rod *Escherichia,* rod *Enterobacter* a rod *Proteus*, které patří mezi nejčastější původce ESBL.

V Nemocnici Písek, a.s. jsou prováděny dvě metody průkazu ESBL kmenů. První z těchto metod je screeningová metoda pomocí chromogenní půdy Brilliance ESBL Agar. Druhou metodou je průkaz produkce ESBL a AmpC pomocí testovací sady ESBL a AmpC MASTDISCS neboli MAST test. V případě screeningové metody jde pouze o zjištění, zda daná bakterie produkuje či neprodukuje ESBL, ale nelze touto metodou určit, o jaký typ se jedná. V případě metody průkazu produkce ESBL a AmpC lze zjistit, zda jde o produkci AmpC nebo ESBL.

V roce 2016 bylo na oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek, a.s. zaznamenáno celkem 933 bakterií rodu *Klebsiella,* z toho 306 produkujících ESBL, 4 437 bakterií rodu *Escherichia,* z toho 219 produkujících ESBL, 329 mikrobů rodu *Enterobacter,* z toho 46 produkujících ESBL a 953 mikrobů rodu *Proteus* produkujících ESBL. Z toho vyplývá, že největší procento bakterií produkujících ESBL je z rodu *Klebsiella*.

V případě rozdělení izolátů, dle typu nemocničního oddělení, byl zjištěn nejvyšší výskyt mikrobů produkujících ESBL především na oddělení následné péče a sociálních lůžek. Pouze v případě rodu *Enterobacter* byl nevyšší výskyt zaznamenán na oddělení chirurgie. Jelikož na oddělení následné péče a sociálních lůžek obvykle bývají pacienti se špatnou pohyblivostí, mohl by to být důvod nejvyššího výskytu mikrobů produkujících ESBL ve srovnání s ostatními odděleními.

Dále byl zjišťován výskyt mikrobů s produkcí ESBL dle typu klinického materiálu. V tomto případě byl zjištěn největší výskyt v moči. U všech zkoumaných rodů byl výskyt vyšší než 50 %. Toto zjištění není překvapivé, jelikož je známo, že v moči jsou často nalézány multirezistentní kmeny.

Z mého pozorování bylo také zjištěno, že 85,21 % bakterií produkujících ESBL, bylo prokázáno ve vzorcích z nemocnice. Jak se uvádí, je to způsobeno především rozsáhlejším a častějším podáváním ATB.

6. Závěr

Rezistence bakterií k dostupným ATB je jedním z problémů ohrožujících obyvatelstvo na celém světě. Produkce ESBL patří mezi nejzávažnější typy rezistence. Dochází k neustálému zvyšování výskytu tohoto typu rezistence. Z tohoto důvodu je důležitá včasná detekce ESBL a jejich správná klinická interpretace, což jsou důležité úkoly mikrobiologických laboratoří. Mimo správné detekce a klinické interpretace je důležitá prevence šíření rezistence. Jednou z možností prevence je podávání ATB pouze v případě nutnosti a průkazu bakterie, způsobující onemocnění. Další možností prevence je nastavení hygienických opatření na odděleních zvýšeného výskytu této rezistence. Je tedy velice důležité nastavit co nejvíce opatření, která minimalizují šíření rezistence.

Jedním z cílů této práce bylo si osvojit metody průkazu ESBL. Můžu tedy říci, že s metodami průkazu ESBL, jak se screeningovou metodou pomocí chromogenní půdy, tak s metodou průkazu produkce ESBL a AmpC pomocí testovací sady ESBL a AmpC MASTDISCS, jsem se seznámila a vyzkoušela jsem je.

Druhým z cílů bylo zjistit zastoupení ESBL kmenů ve vztahu k celkovému počtu získaných kmenů gramnegativních tyček patřící mezi *Enterobacteriaceae*. V případě této práce se jednalo o kmeny rodu *Klebsiella*, rodu *Escherichia*, rodu *Enterobacter* a rodu *Proteus*. Pozorovala jsem tedy výskyt ESBL kmenů v rámci zmiňovaných rodů v Nemocnici Písek, a.s. Zaměřila jsem se na rozdělení bakterií produkujících ESBL jednotlivých rodů, dle nemocničních oddělení, kde jsem zjistila nejvyšší zastoupení těchto bakterií na oddělení následné péče a sociálních lůžek. Dále jsem se zaměřila na rozdělení dle klinického materiálu, kde se jednalo o více jak 50 % nález těchto bakterií v moči. A v poslední části jsem se zaměřila na porovnání výskytu zmiňovaných rodů a jejich produktivity ESBL v nemocnici a komunitě, kde jsem zjistila 85,21 % výskyt v nemocnici.

Z výše uvedeného mohu tedy říci, že hypotéza č. 1 (Předpokládám, že nejvyšší výskyt ESBL kmenů, dle nemocničních oddělení, bude zaznamenán na oddělení následní péče a sociálních lůžek a na rehabilitačním oddělení.) mému pozorování odpovídá pouze z poloviny. Avšak hypotéza č. 2 (Předpokládám, že nejvíce mikrobů produkujících ESBL bude prokázáno v moči.) a hypotéza č. 3 (Předpokládám, že větší procentuální

zastoupení ESBL kmenů bude zjištěno ve vzorcích z nemocnice v porovnání se vzorky z komunity.) zcela odpovídá mému pozorování.

V celé České republice stále narůstá antibiotická rezistence. V dnešní době je největším problémem špatné a mnohdy zbytečné předepisování ATB na základě neprovedeného laboratorního vyšetření před jejich užíváním. Pokud by se ATB začala správně dávkovat a podávala se pouze v nutných případech, mohla by se antibiotická rezistence začít snižovat.

7. Seznam literatury

1. BARTŮNĚK, Petr, Dana JURÁSKOVÁ, Jana HECZKOVÁ a Daniel NALOS, ed., 2016, *Vybrané kapitoly z intenzivní péče*. Praha: Grada Publishing. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-4343-1.

2. Bakterie a prokaryota obecně, 2014. *Genetika - Biologie* [online]. [cit. 2017-07-03]. Dostupné z: http://www.genetika-biologie.cz/prokaryota

3. BEDNÁŘ, Marek. 1996. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil. ISBN 8023802976.

4. Beta-lactam Pharmacology, 2016. In: *Tulane University School of Medicine* [online]. [cit. 2017-07-31]. Dostupné z: http://tmedweb.tulane.edu/pharmwiki/doku.php/betalactam_pharm

5. *Biosan: Medical-Biological Research & Technologies* [online], 2017. Biosan [cit. 2017-07-31]. Dostupné z: https://biosan.lv/en/products/katalog/densitometers/den-1b

6. BRADFORD, P.A., 2001. Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistence threat. *Clin. Microbiol. Rev*. (14), 933-951.

7. BUSH, K. a P.A. BRADFORD, 2007. B-lactamases: historical perspectives. In: Bonomo R.A., Tolmasky M.E. (eds.). *Enzyme-Mediated Resistance to Antibiotics*. ASM Press, Washington, DC, 67-80.

8. BUSH, K. a G. A. JACOBY, 2010. Updated functional classification of beta - lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. **54**(3), 969-976.

9. CORVAGLIA, A.R., A. DEMARTA, V. GAIA, R. PEDUZZI (2008): Role of residual antibiotics in aquatic environment on the selection and diffusion of bacterial resistances of Aeromonas, Acinetobacter and Legionella. Archives des Sciences. 61: 89-99.

10. České sbírky mikroorganismů (CCM), 2017. *Czech Collection of Microorganismus* [online]. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta [cit. 2017-07-31]. Dostupné z: http://www.sci.muni.cz/ccm/

11. ČÍŽKOVÁ, Veronika, 2007. *Vážíme si antibiotik?*. Brno.

12. DELLINGER, R.P., J.M. CARLET, H. MASUR a et al., 2004. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Medicine*. (30), 536-555.

13. ERBA GROUP, 2018. MIKRO-LA-TEST MIC. In: *Erba Lachema* [online]. [cit. 2018-04-03]. Dostupné z: https://www.erbalachema.com/attachments/MIC_soupravy_letak_CZ_092017.pdf

14. EUCAST, 2000. Determination of antimicrobial susceptibility test breakpoints: EUCAST Definitive Document E.DEF 2.1. *Clinical Microbiology and Infection*. **6**(10), 570-572.

15. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net), 2017. *European Centre for Disease Prevention and Control: An agency of the European Union* [online]. [cit. 2017-08-02]. Dostupné z: https://ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/ears-net

16. HRABÁK, J., T. BERGEROVÁ, P. URBÁŠKOVÁ a V. VANIŠ, 2007. Průkaz β-laktamáz širokého spektra (ESBL) a typu AmpC u enterobakterií. *Zprávy CEM*. Praha: Státní zdravotní ústav, **16**(1), 31-36.

17. HRABÁK, J., E. BÉBROVÁ, O. NYČ a M. FRIDRICHOVÁ, 2009. Záchyt kmene Serratia marcescens současně produkujícího metalo – β – laktamázu (MBL), širokospektrou β – laktamázu (ESBL) a dvě β – laktamázy typu AmpC ve FN Motol. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie*. **18**(4), 139-141.

18. KIM J., H.Y. KANG, Y. LEE (2008): The identification of CTX-M-14, TEM-52, and CMY-1 enzymes in Escherichia coli isolated from the Han River in Korea. J. Microbiol. 46: 478-481

19. KOLÁŘ, Milan, 2009. Bakteriální rezistence k antibiotikům - vznik, šíření a možnosti prevence. *Nozokomiálne nákazy : vedecko-odborný časopis*. Zvolen: MEDISTAR, **8**(3), 22-30.

20. LEVY, S.B. (2002): The antibiotic paradox: how the misuse of antibiotics destroys their curative powers. Perseus Publishing, United States, 312 s.

21. MAREŠOVÁ, Lucie, 2012. *Vývoj antibiotické rezistence na vybrané bakteriální druhy v komunitě a v nemocnici ve spádové oblasti oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek a.s. v letech 2000 - 2010* [online]. České Budějovice [cit. 2017-07-03].

22. MARINČÁKOVÁ, Jana, 2016. *Testování citlivosti bakterií k antimikrobním preparátům a metody vyhledávání mechanismů rezistence* [online]. Kladno [cit. 2017-07-29].

23. MARTÍNKOVÁ, Jiřina, 2007. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada. ISBN 9788024713564.

24. MAST GROUP, 2009. AmpC and Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESβL) Detection Discs. In: *Mast group* [online]. USA [cit. 2017-07-28]. Dostupné z: http://www.diachel.gr/files/products/AmpC%20ESBL%20MastDiscs%20ID%20D68C.pdf

25. MAYERS, Douglas L., Stephen A. LERNER, Marc. OUELLETTE a Jack D. SOBEL, 2009. *Antimicrobial drug resistance*. Totowa, N.J.: Humana Press. Infectious disease (Totowa, N.J.). ISBN 9781603275958.

26. MELTER, Oto a Annika MALMGREN, 2014. *Principy a praktika lékařské mikrobiologie*. Praha: Karolinum Press. ISBN 9788024624143.

27. POLENOVÁ, Lucie. 2014. *Detekce producentů širokospektré beta - laktamázy (ESBL - Extended Spectrum Beta - Lactamase) v komunitě a v nemocnici* [online]. České Budějovice [cit. 2017-01-07].

28. *Privátní mikrobiologická laboratoř Hradec Králové* [online], 2017. Hradec Králové [cit. 2017-07-31]. Dostupné z: http://www.mikrobiologiehk.cz/provadena-vysetreni

29. PROCHÁZKOVÁ, Marie, 2016. *ESBL MAST test: pracovní postup mikro-097*. Písek.

30. *Příbalová informace k soupravě MIC G-1,* 2013. [online]. Erba Lachema s.r.o. [cit. 2017-07-28]. Dostupné z: http://www.erbalachema.com/

31. ROZSYPAL, Hanuš, Michal HOLUB a Monika KOSÁKOVÁ, 2013. *Infekční nemoci ve standardní a intenzivní péči*. Praha: Karolinum. ISBN 9788024621975.

32. SCHINDLER, Jiří, 2014. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Grada. Sestra (Grada). ISBN 9788024747712.

33. SCHWABER, M.J. a Y. CARMELI, 2007. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum β-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. (60), 913-920.

34. SCHWARTZ, T., B. JANSEN, W. KOHNEN, U. OBST (2003): Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. FEMS Microbiol. Ecol. 43: 325-335.

35. SMET, A., P. BUTAYE, J. DEWULF, F. HAESEBROUCK, L. HERMAN, M. HEYNDRICKX, A. MARTEL a D. PERSOONS, 2010. Broad-spectrum β-lactamases among Enterobacteriaceae of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. *FEMS Microbiology Reviews*. (34), 295-316.

36. SZKANDEROVÁ, Lydie, 2008. *Možnosti stanovení širokospektrých beta-laktamáz a jejich význam pro klinickou mikrobiologii* [online]. Hradec Králové [cit. 2017-06-30].

37. TEJKALOVÁ, Renata, 2014. *Základy antimikrobiální terapie 3: Peniciliny, infekce dýchacích cest*. Brno.

38. *Thermo scienntific: Oxoid Microbiology Products* [online], [cit. 2017-07-28]. Dostupné z: http://www.oxoid.com/brilliance/chromogenni-pudy-brilliance.asp

39. TUMBARELLO, M., M. SANGUINETTI, E. MONTUORI a et al., 2007. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: importance of inadequate initial antimicrobial treatment. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. (51), 1987-1994.

40. URBÁŠKOVÁ, Pavla, 2018. Tabulky breakpointů EUCAST pro interpretaci MIC a průměrů inhibičních zón. *Státní zdravotní ústav* [online]. Praha [cit. 2018-04-30]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/EUCAST/BP/Tabulka_breakpointu_EUCAST_v_8.0_CZ.xlsx

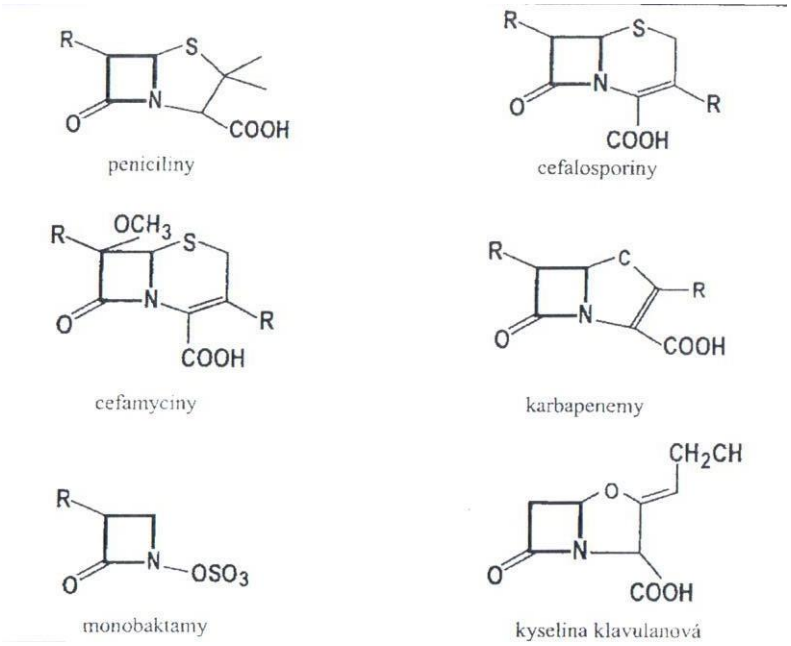
41. VOTAVA, Miroslav, 2003. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun. ISBN 8090289665.

42. VOTAVA, Miroslav. 2005. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun. ISBN 8086850005.

43. *Žádanka na bakteriologické vyšetření* [online], Oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek, a.s. [cit. 2017-07-27]. Dostupné z: http://nemopisek.cz/index.php/oddeleni/laboratore/28-klinicka-mikrobiologie?showall=&start=2

8. Seznam příloh

Příloha č. 1: Beta-laktamy



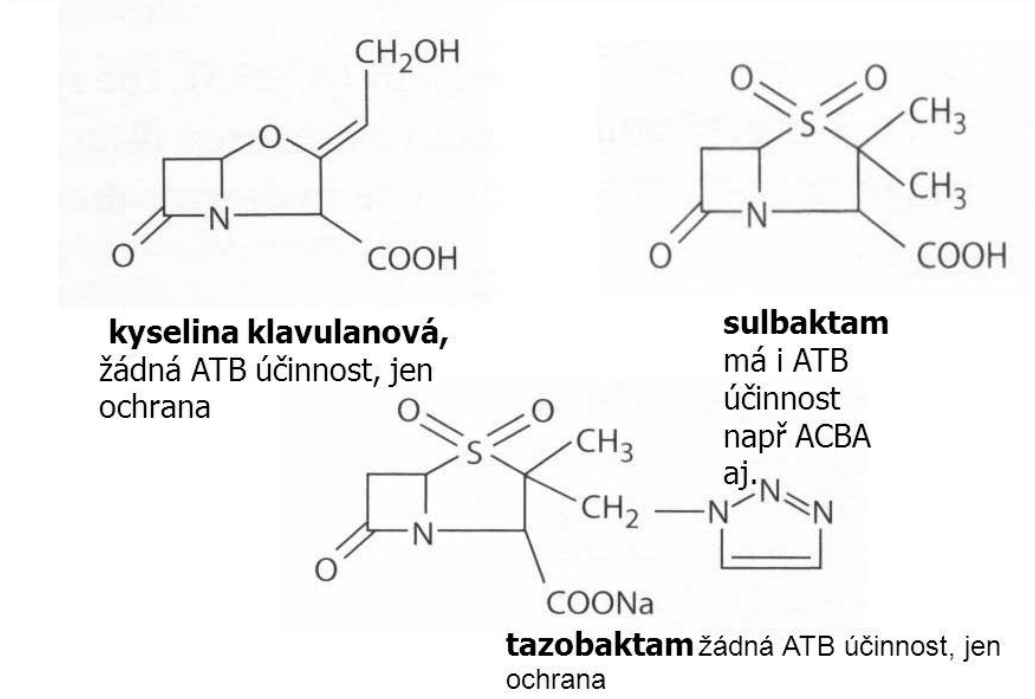
(Votava, 2005, str. 246)

Příloha č. 2: Rozdělení beta-laktamů

ROZDĚLENÍ BETA-LAKTAMŮ	
peniciliny	
acidolabilní	benzylpenicilin (penicilin G)
acidostabilní	fenoxymethylpenicilin (penicilin V)
odolné vůči stafylokokové penicilinase	oxacilin
aminopeniciliny	ampicilin, amoxicilin, co-ampicilin, co-amoxicilin
ureidopeniciliny	azlocilin, piperacilin, co-piperacilin
karboxypeniciliny	co-ticarcilin
cefalosporiny	
I. generace	inj.: cefalotin, cefazolin p.o.: cefalexin, cefadroxil, cefaclor
II. generace	inj.: cefuroxim p.o.: cefuroxim axetil, cefprozil
III. generace	inj.: cefotaxim, ceftriaxon, ceftazidim, cefoperazon, co-cefoperazon p.o.: cefixim
IV. generace	inj.: cefepim p.o.: -
monobaktamy	aztreonam
karbapenemy	imipenem/cilastatin, meropenem

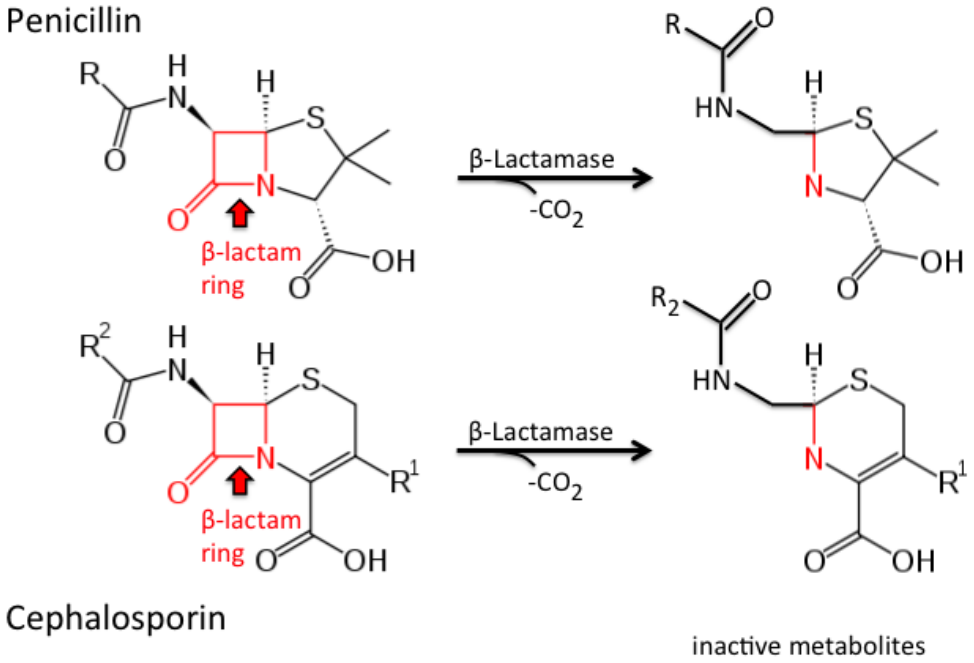
(Votava, 2005, str. 247)

Příloha č. 3: Inhibitory beta-laktamáz



(Tejkalová, 2014, str. 26)

Příloha č. 4: Struktury penicilinů a cefalospocinových ATB a jejich hydrolýza beta-laktamázou



(Beta-lactam Pharmacology, 2016, str. 5)

Příloha č. 5: Žádanka na bakteriologické vyšetření Nemocnice Písek, a.s.

ŽÁDANKA NA BAKTERIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

ODDĚLENÍ KLINICKÉ MIKROBIOLOGIE
NEMOCNICE PÍSEK

Nemocnice Písek, a.s. Karla Čapka 589 397 01 Písek www.nemopisek.cz 382 77 **2166** ☐ 382 77 **2162**
Antibiotické konzultace - 382 77 **2160** (602 493 952 mimo pracovní dobu)
Pracovní doba: Po – Pá 6:30 – 15:00 So 7:00 – 12:00 Ne 9:00 – 11:00

M 8156

Identifikační číslo: / **Pohlaví:** ☐ Ž ☐ M
Datum odběru:
Čas odběru:
Příjmení:
Pojišťovna:
Odebral:
Jméno:
Samoplátce: ☐
Razítko a podpis lékaře:
Diagnóza:
Datum a čas příjmu:
Adresa:
Přijal:
ATB terapie: **Počátek terapie:**

MOČOVÝ TRAKT

- ○ Moč [a]
- ○ Uricult [a]
- ○ cévkovaná moč [a]
- ○ močový katetr
- ○ základní bakter. vyšetření 7,13
- ○ mykologie 7,13
- ○ MRSA screening 7,13
- ○ Mycoplasma hominis [a] 1
- ○ Ureaplasma urealytica [a] 1
- ○ Legionella průkaz Ag [a] 7
- ○ Str.pneumoniae Ag [a] 7
- ○ autovakcina 7
- ○ jiné

RESPIRAČNÍ TRAKT

- ○ citlivost
- ○ *bez* citlivosti
- ○ krk [a]
- ○ nos [a]
- ○ jazyk [a]
- ○ larynx [a]
- ○ sputum [a]
- ○ tonsila [a]
- ○ dutina ústní [a]
- ○ punktát dutin [a]
- ○ odsátí dutin [a]
- ○ peritonsilární hlíza [a]
- ○ jiné
- ○ základní bakter. vyšetření 3,4
- ○ mykologie 3,4
- ○ MRSA screening 3,4
- ○ Neisseria gonorrhoeae (tonsila) 12**
- ○ Neisseria meningitis 3**
- ○ Corynebacterium diphtheria (krk) 3,4
- ○ Bordetella pertussis, parapertussis 3**
- ○ autovakcina
- ○ jiné

GASTROINTESTINÁLNÍ TRAKT

- ○ rektální výtěr [a]
- ○ stolice [a]
- ○ návrat z tropů / subtropů
- ○ ČR
- ○ ostatní
- ○ základní barter.vyšetření [a] 3,6
- ○ základní parazit. vyšetření [a] 6
- ○ virologické vyšetření 6
- ○ kombinovaná stolice [a] 6
- ○ cílená kultivace - Salmonella spp. [a] 3
- ○ cílená kultivace - Campylobacter spp. [a] 3
- ○ MRSA screening 3
- ○ Campylobacter spp. Ag 6
- ○ Dyspeptické E. coli [a] 3
- ○ Salmonella spp. průkaz Ag 6
- ○ Vibrio cholera 6
- ○ Helicobacter pylori průkaz Ag 6
- ○ Adenoviry průkaz Ag [a] 6
- ○ Astroviry průkaz Ag 6
- ○ Enteroviry průkaz Ag [a] 6
- ○ Rotaviry průkaz Ag [a] 6
- ○ Noroviry průkaz Ag 6
- ○ Clostridium *difficile* – toxin + průkaz Ag [a] 6
- ○ Clostridium *perfringens* toxin 6
- ○ Cryptosporidia [a] 6
- ○ autovakcina
- ○ identifikace parazita 9
- ○ vyšetření na roupy [a] 11
- ○ jiné

UROGENITÁLNÍ TRAKT

- ○ vagina [a]
- ○ IUD
- ○ cervix [a]
- ○ vulva [a]
- ○ uretra [a]
- ○ ejakulát [a]
- ○ Bartholin. žláza [a]
- ○ prostat. sekret [a]
- ○ základní bakteriologické vyšetření [a] 3,4
- ○ aktinomykóza 3,4
- ○ anaeroby 7
- ○ Chlamydia trachomatis průkaz Ag 2
- ○ Trichomonas vaginalis 3
- ○ mykologie 3,4
- ○ Mycoplasma hominis 1
- ○ Neisseria gonorrhoeae 12**
- ○ Screening GBS/pochva 3,4
- ○ Ureaplasma urealyticum 1
- ○ autovakcina
- ○ jiné:

MIKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ

- ○ MOP [a]
- ○ vyšetření na přítomnost acidorezistentních tyček (TBC, aj.)

Odběrový materiál
1 transp. nádobka na mykoplasmy
2 odběrový tampon na chlamydie
3 odběrovka s transportní půdou
4 odběrový tampon suchý ...
5 hemokultivační nádobka
6 stolice v kontejneru
7 zkumavka sterilní
8 nátěr na sklíčko
9 kontejner
10 kapilára
11 nálepky
12 plotna
13 uricult
a akreditovaná metoda
* hlásit den předem
** materiál nedávat do lednice

OSTATNÍ MATERIÁL

- ○ exsudát [a]
- ○ katétr [a]
- ○ dekubitus [a]
- ○ bércový vřed [a]
- ○ dialyzát [a]
- ○ ucho - L P [a]
- ○ spojivkový vak L P [a]
- ○ hemokultura [a]
- ○ mozkomíšní mok [a]
- ○ tekutina [a] _____
- ○ stěr [a] _____
- ○ nebiologický mat.
- ○ hnis [a]
- ○ drén [a]
- ○ tkáň [a]
- ○ pištěl [a]
- ○ kanyla [a]
- ○ absces [a]
- ○ punktát [a]
- ○ rána [a]
- ○ základní bakteriolog. vyšetření 3,4
- ○ mykologie 3,4
- ○ anaeroby 9,7
- ○ aktinomykóza 3
- ○ MRSA screening 3,4
- ○ Neisseria Gonorrhoeae 12**
- ○ Chlamydia průkaz Ag (spojivkový vak) 2
- ○ autovakcina
- ○ jiné:

Doplňující údaje:

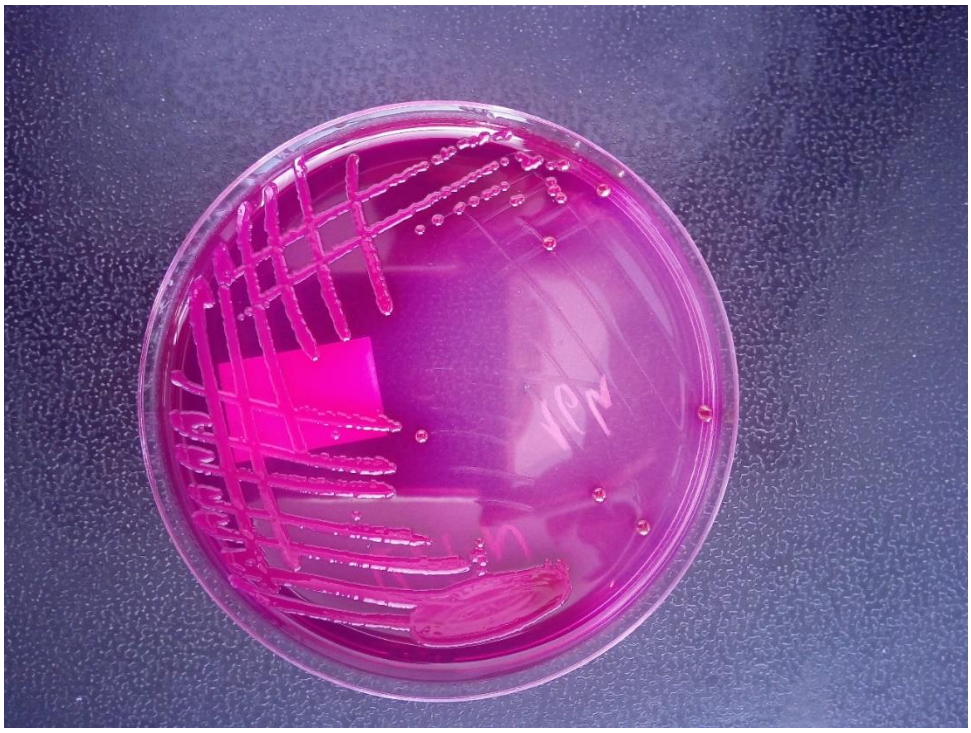
Prosíme na každý soubor vyšetření novou žádanku **OKM 03**

(Žádanka na bakteriologické vyšetření)

Příloha č. 6: Kultivace na krevním agaru – rod *Klebsiella*

(Vlastní zdroj)

Příloha č. 7: Kultivace na Endově půdě – rod *Klebsiella*



(Vlastní zdroj)

Příloha č. 8: Kultivace na Deoxycholát-citrát agaru – rod *Klebsiella*

(Vlastní zdroj)

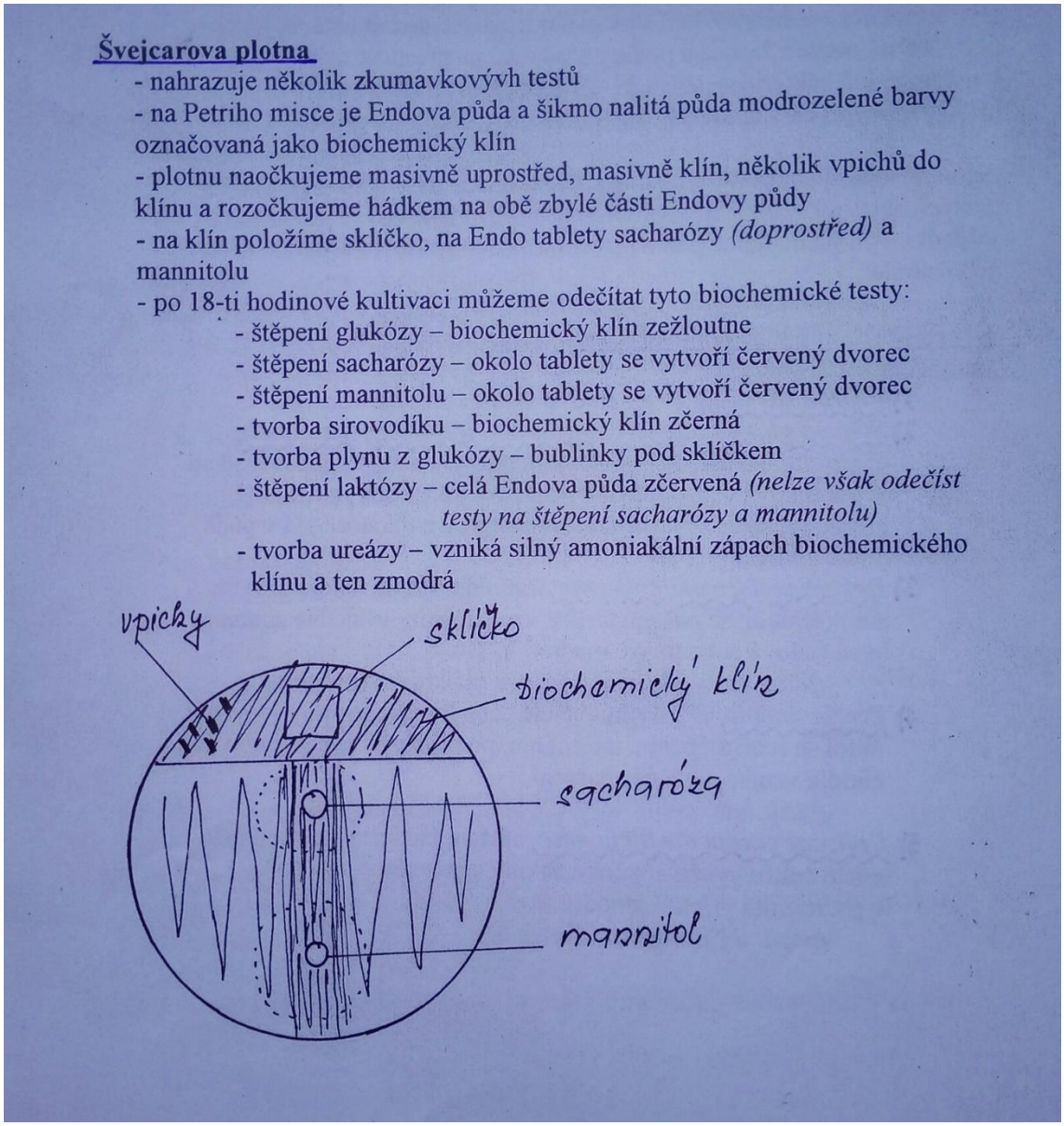
Příloha č. 9: Kultivace na chromogenní půdě – rod *Klebsiella*

(Vlastní zdroj)

Příloha č. 10: Kultivace na Švejcarově plotně – rod *Klebsiella*

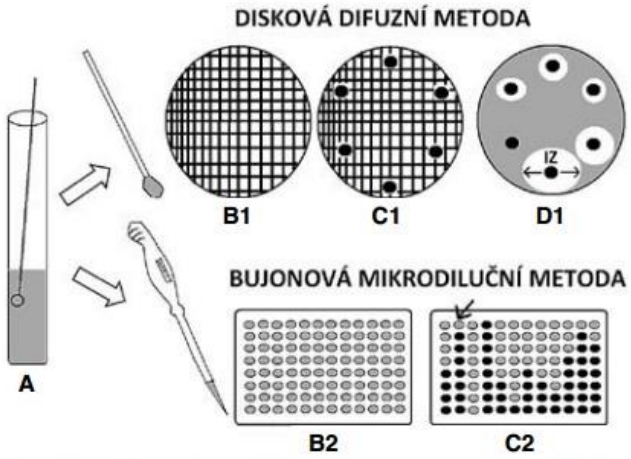
(Vlastní zdroj)

Příloha č. 11: Švejcarova plotna



(vlastní zdroj)

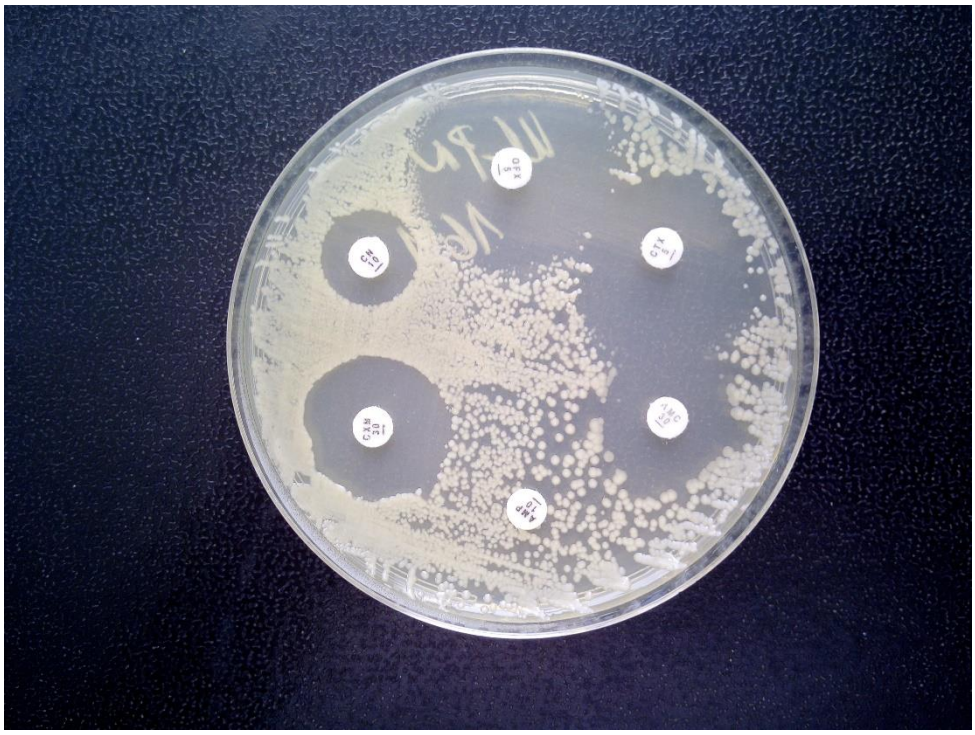
Příloha č. 12: Disková difúzní metoda a bujónová mikrodiluční metoda



Obr. 5.2 Disková difuzní metoda – bakteriální inokulum je naředěno ve fyziologickém roztoku (A) a rozetřeno tampónem po povrchu agaru (B1), inokulum je vysušeno 15 minut a na agar jsou umístěny antibiotické disky a inokulum je kultivováno 18–24 hodin při 37°C (C1), odečet IZ (D1) a interpretace výsledků podle znalosti IZ pro citlivé mikroorganismy. Bujónová mikrodiluční metoda – jamky obsahující bujón s koncentračním gradientem antibiotika jsou inokulovány pomocí pipety (B2), po kultivaci přes noc se odečítá MIC (hodnota nejnižší koncentrace, která inhibuje viditelný růst bakterií) (C2).

(Melter, 2014, s. 36)

Příloha č. 13: Diskový difúzní test, *Klebsiella pneumoniae*



(Vlastní zdroj)

Příloha č. 14: Tabulky EUCAST

Peniciliny[1]	**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.
	C ≤	**R >**		**C ≥**	**R <**	
Benzylpenicilin	-	-		-	-	**1/A.** Enterobacteriaceae divokého typu jsou kategorizovány jako citlivé k aminopenicilinům. V některých zemích kategorizují divoké typy izolátů *E. coli* a *P. mirabilis* jako intermediárně rezistentní, a používají breakpoint MIC C ≤ 0,5 mg/l a odpovídající breakpoint pro průměr inhibiční zóny C ≥ 50 mm. **2.** Pro účely vyšetření citlivosti se používá fixní koncentrace 4 mg/l sulbaktamu. **3.** Pro účely vyšetření citlivosti se používá fixní koncentrace 2 mg/l klavulanové kys. **4.** Pro účely vyšetření citlivosti se používá fixní koncentrace 4 mg/l tazobaktamu. **5.** Breakpointy jsou stále v prověřování. **6.** Referenční metoda pro MIC mecilinamu je agarová diluce. **B.** Růst, který se na některých šaržích MH agaru jeví jako úzká vnitřní zóna, se ignoruje. **C.** Citlivost se odvozuje od ampicilinu. **D.** Při testování *E. coli* se ignorují kolonie rostoucí uvnitř inhibiční zóny.
Ampicilin	8[1]	8	**10**	14[A,B]	14[B]	
Ampicilin-sulbaktam	8[1,2]	8[2]	**10-10**	14[A,B]	14[B]	
Amoxicilin	8[1]	8	**-**	Pozn.[C]	Pozn.[C]	
Amoxicilin-klavulanová kys.	8[1,3]	8[3]	**20-10**	19[A,B]	19[B]	
Amoxicilin-klavulanová kys. (pouze nekomplikované IMC)	32[1,3]	32[3]	**20-10**	16[A,B]	16[B]	
Piperacilin	8	16	**30**	20	17	
Piperacilin-tazobaktam	8[4]	16[4]	**30-6**	20	17	
Tikarcilin	8	16	**75**	23	20	
Tikarcilin-klavulanová kys.	8[3]	16[3]	**75-10**	23	20	
Temocilin	Pozn.[5]	Pozn.[5]		Pozn.[5]	Pozn.[5]	
Fenoxymetylpenicilin	-	-		-	-	
Oxacilin	-	-		-	-	
Cloxacilin	-	-		-	-	
Dicloxacilin	-	-		-	-	
Flucloxacilin	-	-		-	-	
Mecilinam (pouze nekomplikované IMC) *E.coli, Klebsiella* spp., *P. mirabilis*	8[6]	8[6]	**10**	15[D]	15[D]	

Cefalosporiny[1]	**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.
	C ≤	**R >**		**C ≥**	**R <**	
Cefaklor	-	-		-	-	**1.** Breakpointy cefalosporinů detekují u čeledi Enterobacteriaceae všechny klinicky významné mechanizmy rezistence (včetně ESBL a plazmidem zprostředkované AmpC). Některé izoláty produkující beta-laktamázy jsou podle těchto breakpointů citlivé nebo intermediárně rezistentní k 3. nebo 4. generaci cefalosporinů a tak by měly být vyhodnoceny; to znamená, že samotná přítomnost nebo absence ESBL nemá vliv na kategorizaci citlivosti. Doporučuje se provádět detekci a analýzu vlastností ESBL pro účely veřejného zdravotnictví a kontrolu infekcí. **2.** ECOFF cefoxitinu (8 mg/l) má vysokou specificitu, ale nízkou senzitivitu pro produkci AmpC u Enterobacteriaceae, neboť cefoxitin ovlivňují i změny permeability a některé karbapenemázy. Kmeny neprodukující AmpC jsou klasicky divokého typu, zatímco producenti plazmidové AmpC nebo chromozomální hyperproducenti AmpC nepatří k divokému typu. **3.** Pro účely vyšetření citlivosti se používá fixní
Cefadroxil (pouze nekomplikované IMC)	16	16	**30**	12	12	
Cefalexin (pouze nekomplikované IMC)	16	16	**30**	14	14	
Cefazolin	-	-		-	-	
Cefepim	1	4	**30**	27	24	
Cefixim (pouze nekomplikované IMC)	1	1	**5**	17	17	
Cefotaxim	1	2	**5**	20	17	
Cefoxitin (screening)[2]	NA	NA	**30**	19	19	
Cefpodoxim (pouze nekomplikované IMC)	1	1	**10**	21	21	
Ceftarolin	0,5	0,5	**5**	23	23	
Ceftazidim	1	4	**10**	22	19	
Ceftazidim-avibaktam	8[3]	8[3]	**10-4**	13	13	
Ceftibuten (pouze IMC)	1	1	**30**	23	23	
Ceftobiprol	0,25	0,25	**5**	23	23	

Ceftolozan-tazobaktam	1[4]	1[4]	**30-10**	23	23	koncentrace 4 mg/l avibaktamu. **4.** Pro účely vyšetření citlivosti se používá fixní koncentrace 4 mg/l tazobaktamu. **5.** Breakpointy cefuroximu jsou založeny na vysokých dávkách ~~(1,5 g x 3)~~.
Ceftriaxon	1	2	**30**	25	22	
Cefuroxim iv[5], *E. coli, Klebsiella spp.* and *P. mirabilis*	8	8	**30**	19	19	
Cefuroxim perorální (pouze nekomplikované IMC)	8	8	**30**	19	19	

Karbapenemy[1]	**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.
	C ≤	**R >**		**C ≥**	**R <**	
Doripenem	1	2	**10**	24	21	**1.** Breakpointy karbapenemů detekují u čeledi Enterobacteriaceae klinicky významné mechanizmy rezistence (včetně většiny karbapenemáz). Některé izoláty, které vytvářejí karbapenemázy, jsou podle těchto breakpointů citlivé a tak by měly být vyhodnoceny; to znamená, že samotná přítomnost nebo absence karbapenemáz nemá vliv na kategorizaci citlivosti. Doporučuje se provádět detekci a analýzu vlastností karbapenemáz pro účely veřejného zdravotnictví a kontrolu infekcí. **2.** Rezistence v nízkém stupni (low-level) je obvyklá u *Morganella* spp., *Proteus* spp. a *Providencia* spp.
Ertapenem	0,5	1	**10**	25	22	
Imipenem[2]	2	8	**10**	22	16	
Meropenem	2	8	**10**	22	16	

Monobaktamy	**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.
	C ≤	**R >**		**C ≥**	**R <**	
Aztreonam[1]	1	4	**30**	26	21	**1.** Breakpointy aztreonamu detekují u čeledi Enterobacteriaceae klinicky významné mechanizmy rezistence (včetně ESBL). Některé izoláty, které vytvářejí beta-laktamázy, jsou podle breakpointů citlivé nebo intermediárně rezistentní k cefalosporinům a tak by měly být vyhodnoceny; to znamená, že samotná přítomnost nebo absence ESBL nemá vliv na kategorizaci citlivosti. Doporučuje se provádět detekci a analýzu vlastností ESBL pro účely veřejného zdravotnictví a kontrolu infekcí.

(Urbášková, 2018)

Příloha č. 15: Rozložení ATB a jejich koncentračních řad na destičce MIC G-1 a MIC G-2

G minus I (Enterobacteriaceae)	
ampicillin	128 – 1 mg/L
ampicillin–sulbactam	128/64 – 1/0,5 mg/L
cefazolin	16 – 0,12 mg/L
cefuroxime	64 – 0,5 mg/L
aztreonam	16 – 0,12 mg/L
gentamicin	32 – 0,25 mg/L
amikacin	64 – 0,5 mg/L
colistin	16 – 0,12 mg/L
trimethoprim/sulfamethoxazole	4/76 – 0,03/06 mg/L
ciprofloxacin	8 – 0,06 mg/L
chloramfenikol	32 – 0,25 mg/L
tetracycline	32 – 0,5 mg/L

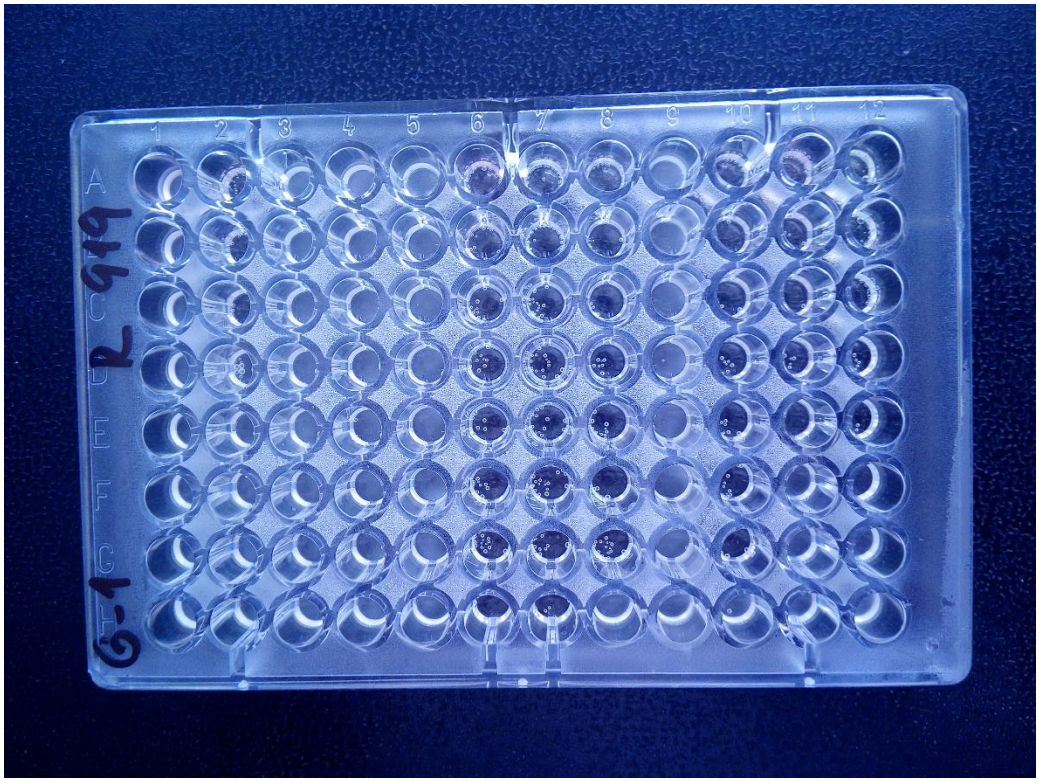
G minus II (Enterobacteriaceae)	
piperacillin	128 – 1 mg/L
piperacillin–tazobactam	128/4 – 1/4 mg/L
cefotaxime	8 – 0,06 mg/L
ceftazidime	16 – 0,12 mg/L
cefoperazone	64 – 0,5 mg/L
cefoperazone/sulbactam	64/32 – 0,5/0,25 mg/L
cefepime	16 – 0,12 mg/L
meropenem	16 – 0,12 mg/L
ertapenem	2 – 0,015 mg/L
tigecyclin	8 – 0,06 mg/L
netilmicin	16 – 0,12 mg/L
tobramycin	8 – 0,12 mg/L

(ERBA GROUP, 2018)

Příloha č. 16: Denzitometr

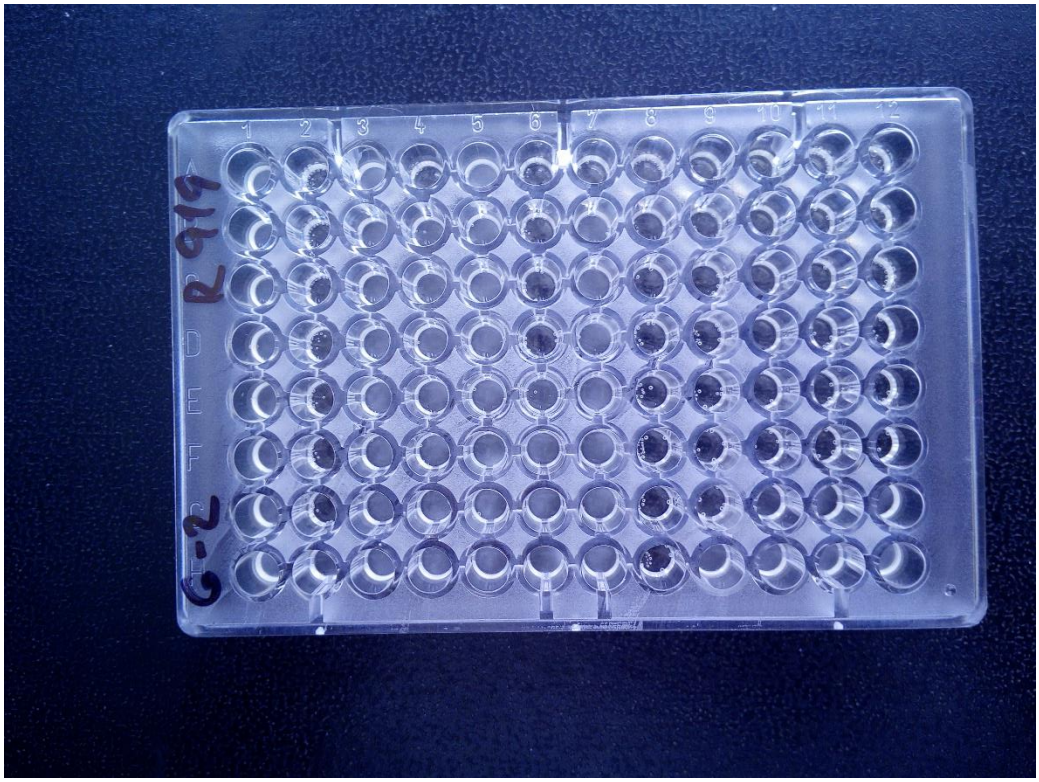
(Biosan, 2017)

Příloha č. 17: Bujonová mikrodilační metoda – MIC G-1 ERBA Lachema – rod *Klebsiella*



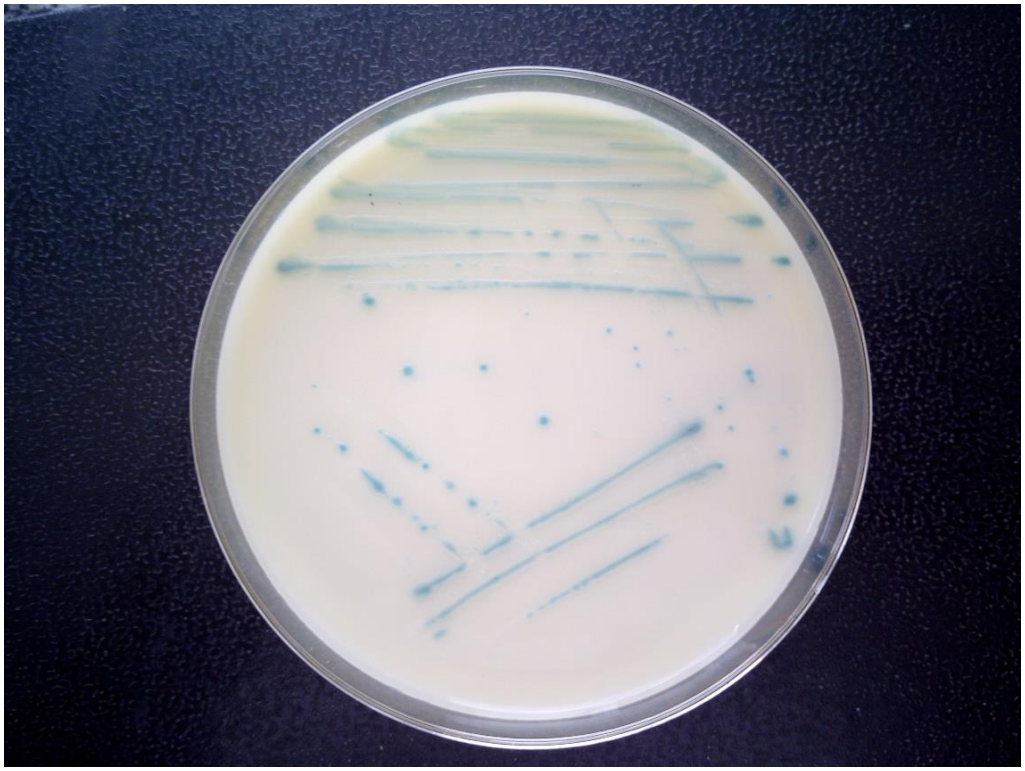
(Vlastní zdroj)

Příloha č. 18: Bujonová mikrodilační metoda – MIC G-2 ERBA Lachema – rod *Klebsiella*



(Vlastní zdroj)

Příloha č. 19: *Klebsiella pneumoniae* kultivovaná na Brilliance ESBL agaru

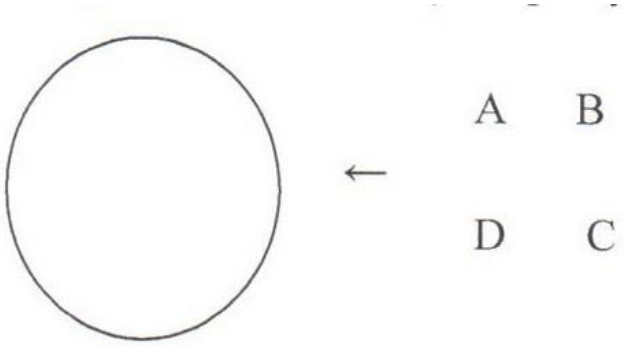


(Vlastní zdroj)

Příloha č. 20: Testovací sada ESBL a AmpC MASTDISCS (MAST test)

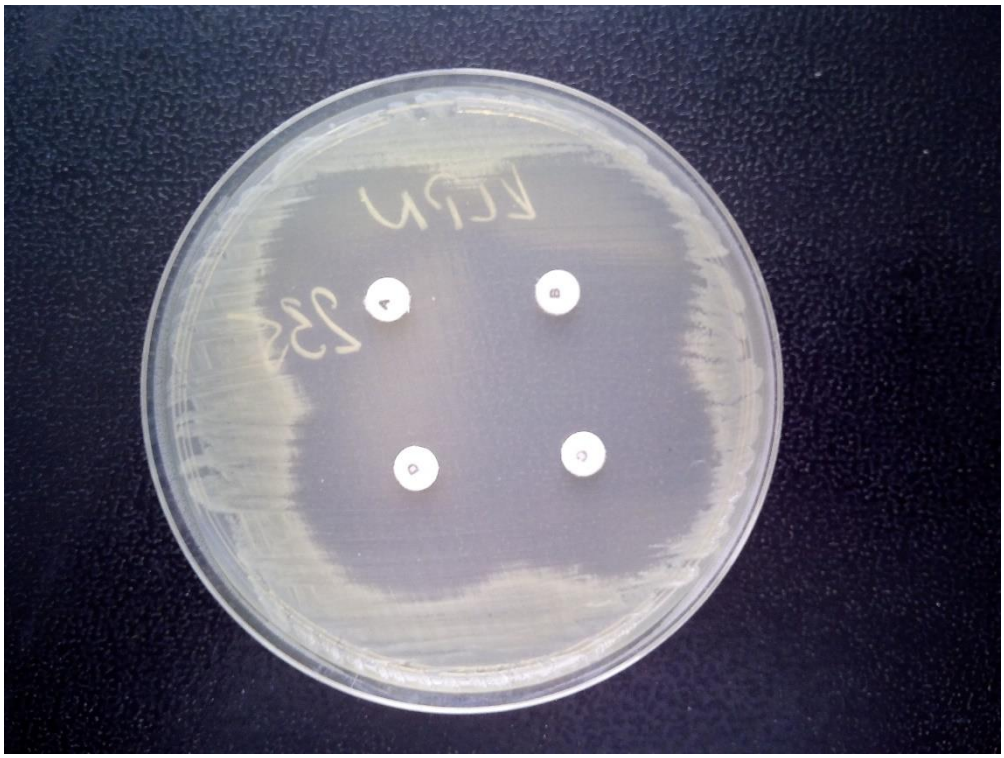
(Vlastní zdroj)

Příloha č. 21: Správné rozmístění disků u MAST testu



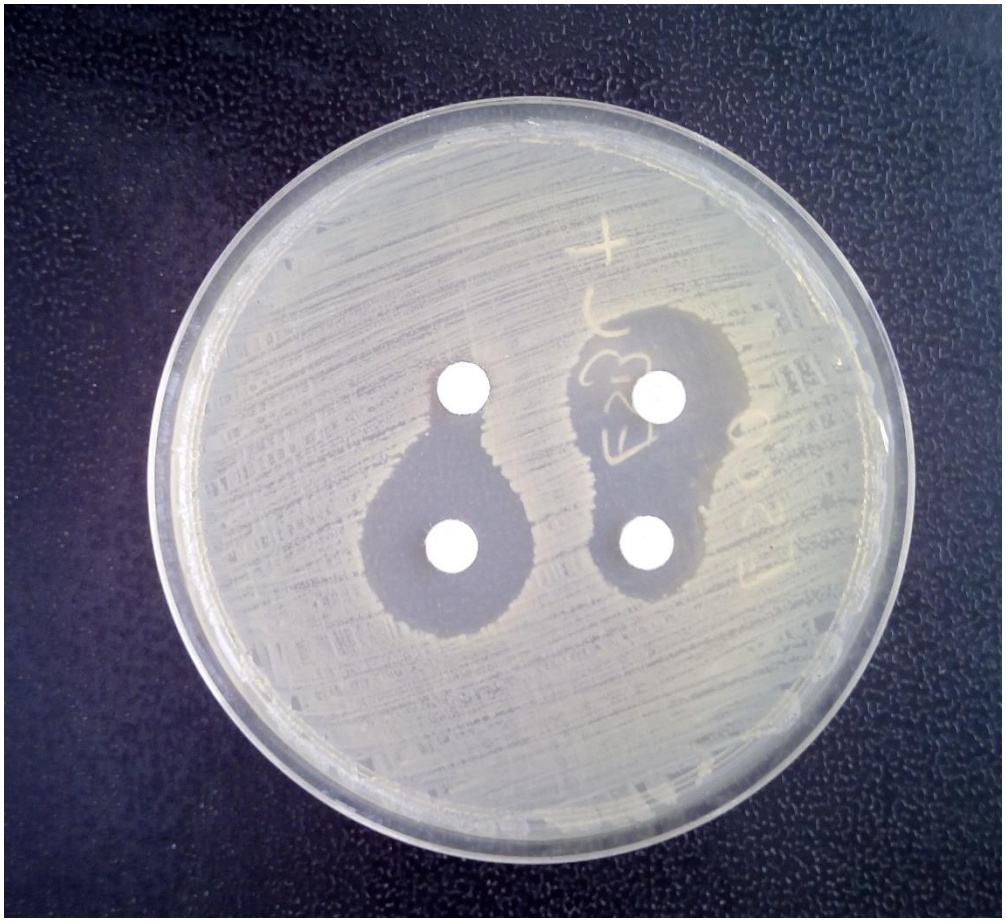
(Procházková, 2016, s. 3)

Příloha č. 22: Negativní výsledek testu MAST – rod *Klebsiella*



(Vlastní zdroj)

Příloha č. 23: MAST test pozitivní na aktivitu ESBL – rod *Klebsiella*



(Vlastní zdroj)

Příloha č. 24: Sbírkové kmeny *Klebsiella pneumoniae* ze sbírky Masarykovy univerzity

(Vlastní zdroj)

9. Seznam zkratek

ARO = Anestezio-resuscitační oddělení

ATB = Antibiotika

CCM = České sbírky mikroorganismů

DĚT = dětské oddělení

EARSS = The European Antimicrobial Resistance Surveillance System

ESBL = Extended-spectrum beta-lactamases (= Širokospektré beta-laktamázy)

EUCAST = European Committee on Antimicrobial Suspectibility Testing

HAI = Infekce spojené se zdravotní péčí

HDS = Hemodyalizační oddělení

CHIR = Chirurgické oddělení

INT = Interní oddělení

IZ = Inhibiční zóna

MH = Mueller-Hilton agar

MIC = Minimální inhibiční koncentrace

MRSA = Methicillin – resistant *Staphyloccocus aureus* (= Meticilin – rezistentní zlatý stafylokok)

NEU = Neurologické oddělení

ONKO = Onkologické oddělení

ONP = Oddělení následné péče

ORSA = Oxacillin – resistant *Staphyloccocus aureus* (= Oxacilin – rezistentní zlatý stafylokok)

ORT = Ortopedické oddělení

PBP = Penicillin binding protein (= Penicilinový vazebný protein)

RHC = Rehabilitační oddělení

SOCSL = Sociální lůžka

URO = Urologické oddělení

WHO = Světová zdravotnická organizace