



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Studies

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

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta
Katedra laboratorních metod a informačních systémů

Bakalářská práce

Výskyt MRSA v Nemocnici Havlíčkův Brod v letech 2009 – 2013

Vypracoval: Šárka Koudelová
Vedoucí práce: Mgr. Antonín Melichar

České Budějovice 2014

Abstrakt

Staphylococcus aureus je gram-pozitivní bakterie, se kterou se až jedna třetina populace setkává jako s přirozenou mikroflórou sliznice, zejména nosní. Pokud nejde o vnímavého jedince, patogen v těle nevyvolá žádnou reakci. V opačném případě může *S. aureus* vyvolat vážná onemocnění – od drobných hnisavých onemocnění až po vážné sepse, které mohou končit až smrtí (Votava, 2010).

Velký problém však nastává, pokud je jedinec infikován Methicilin-rezistentním druhem *Staphylococcus aureus* (MRSA). Tento kmen je rezistentní k většině antibiotik, jeho léčba je tedy složitější a finančně náročnější. Největším problémem MRSA je jeho výskyt ve zdravotnických zařízeních, kde má ideální podmínky pro šíření. Je tu mnoho vnímavých jedinců, kteří mohou být infikováni od asymptomatických nosičů (ostatní pacienti, ošetřující personál, ...).

V teoretické části práce jsou obecné informace o *S. aureus* – taxonomie, antigenní stavba, onemocnění způsobená touto bakterií, faktory virulence, stafylokoková rezistence k antibiotikům a detekce kmene. Dále se práce věnuje MRSA, hlavně jako původci nozokomiálních nákaz – obsahuje protiepidemiologická opatření, která by se měla v rámci snížení výskytu MRSA dodržovat. V konečné fázi se má práce zabývat Nemocnicí Havlíčkův Brod a její vnitřní protiepidemiologickou politikou.

Výzkumná část bakalářské práce probíhala v již zmíněné Nemocnici Havlíčkův Brod během roku 2013. Hypotézy jsou zaměřeny na výskyt *S. aureus* v období 2009 – 2013, podíl MRSA kmenů v klinickém materiálu a detekce MRSA v rutinní laboratoři.

Ve výsledcích se tedy vyskytují tabulky demonstrující výskyt *S. aureus* a MRSA v této nemocnici během pěti let. Na základě laboratorních výsledků byl u MRSA-pozitivních pacientů sestaven antibiogram, podle kterého může VŠ odborník rozdělit kmeny na nemocniční a komunitní. V poslední části výsledků jsou kmeny *S. aureus* a MRSA detekované v rutinní laboratoři. Jelikož je výskyt MRSA v této nemocnici malý, detekce kmene byla prováděna z cílených odběrů a z horních cest dýchacích, kde

bylo možné zachytit *S. aureus* jako součást mikroflóry a MRSA jako ukázkou asymptomatického nosičství.

Jelikož není mikrobiologická laboratoř vybavena PCR, kmeny MRSA byly odhalovány diskovým difúzním testem. Tato metoda je časově náročnější, ale ve zdravotnických zařízeních s nízkým výskytem MRSA je postačující, protože spolehlivost metody je shodná s PCR.

V diskuzi jsou shrnuty výsledky jak ze zpracování údajů za uplynulá léta, tak výsledky z vlastního měření. Výsledky jsou okomentovány a nastiňují výsledky hypotéz uvedené v závěru.

Klíčová slova: *Staphylococcus aureus*, MRSA, nozokomiální nákaza

Abstract

Staphylococcus aureus is a gram-positive bacteria living in one third of human population as a natural skin microflora, nasal flora in particular, where in majority of cases this bacteria does not evoke any reaction. In some cases, however, *S. aureus* may cause severe health issues, ranging from minor festering disease to severe sepsis, which can even lead to death (Votava, 2010).

Major problem occurs while the individual is infected with Methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), as this type is resistant to majority of antibiotics, making its treatment more difficult and financially demanding. The biggest danger associated with MRSA lies within its high presence in medical centres and hospitals, which is one of the reasons responsible for its rapid spread in whole population. In other words, there is a high volume of individuals, who are infected from those regularly present in affected areas, but without symptoms of infection, such as hospital staff, other patients etc.

In the theoretical background section of this thesis, author discusses the following topics related to the area of research: general information about *S. aureus* - taxonomy, cell structure, details of diseases caused by this bacteria, factors of virulence, resistance to antibiotics and detection of type. In addition, author focuses on MRSA, in particular in its role as a source of nosocomial infections. Moreover, the work takes interest in anti-epidemic solutions that should be put into practise in order to decrease and eliminate the spread of MRSA. To link this theory with the practise, author explores the internal anti-epidemic policies of Havlickuv Brod hospital in the final part of this study.

The actual research part of this study took place within Havlickuv Brod hospital in 2013. Hypotheses made by the researcher suggest presence of *S. aureus* between 2009 and 2013. Research points out to the existence of MRSA in clinical material as well the detection of MRSA in routine laboratory.

The results of the study indicate that both *S. aureus* and MRSA are evident in the studied hospital. Data collected during the research are consistent with the hypotheses, as the data, assorted into tables in results section of the study demonstrate existence of *S. aureus* and MRSA in the Havlickuv Brod hospital within the five period of research. Furthermore, an antibiogram of MRSA-positive patients divided into types of hospital-associated and community-associated has been designed on the basis of laboratory data. The final part of the results section considers the detection of *S. aureus* and MRSA results from routine laboratory. As the presence of MRSA in the studied hospital is insignificant, its detection has been conducted on the basis of sample groups, from upper respiratory tract samples, thanks to which the research has been able to identify *S. aureus* as a part of microflora, and MRSA as an example of presence of asymptomatic infection.

In regards to the methods carried out by researcher, as the laboratory used was not equipped with PCR, the types of MRSA have been identified using disc diffuse test. Such method is more timely consuming, nevertheless as there was a low presence of MRSA in the research area, this method served its aim with reliability comparative to PCR.

The Discussion section of the thesis consists of the summary of results, where the author comments on the results and data collected in this research, and analyzes their significance in comparison with the data collected in the past. Results are also discussed in relation to the hypotheses made by the research prior to the study.

Key words: *Staphylococcus aureus*, MRSA, nosocomial infection

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci 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 9. 8. 2014

.....

Šárka Koudelová

Poděkování

Na tomto místě bych velice ráda poděkovala Mgr. Antonínu Melicharovi za skvělé vedení mé práce, za jeho trpělivost, ochotu a cenné rady. Dále bych chtěla poděkovat MUDr. Petru Linahrtovi, který mi umožnil provádět výzkumnou část v mikrobiologické laboratoři Oddělení společných laboratoří v Nemocnici Havlíčkův Brod.

Obsah

Úvod	12
1 Rod <i>Staphylococcus</i>	13
2 <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.1 Taxonomie	15
2.2 Výskyt	16
2.3 Onemocnění	16
2.4 Morfologie	17
2.5 Antigenní stavba	17
2.5.1 Protein A	17
2.5.2 Kyselina teichoová	18
2.5.3 Peptidoglykan	18
2.5.4 Vázaná koaguláza	18
2.6 Faktory virulence	19
2.6.1 Hyaluronidáza	19
2.6.2 Panton-Valentinův leukocidin	19
2.7 Rezistence k antibiotikům	20
2.7.1 Penicilin	21
2.7.2 Methicilin	21
2.7.3 Oxacilin	22

2.8	Kultivace	22
2.9	Detekce	23
2.9.1	Vizuální hodnocení.....	23
2.9.2	Volná koagulasa	23
2.9.3	Vázaná koagulasa	23
2.9.4	Produkce hyaluronidázy	24
3	MRSA	25
3.1	Rezistence	25
3.2	Nozokomiální charakter MRSA	25
3.2.1	Rizikové faktory pro šíření MRSA v nemocničním zařízení	27
3.2.2	Prevence šíření MRSA v nemocnicích	28
3.3	Detekce MRSA	31
3.3.1	Selektivní půda	31
3.3.2	Diskový difúzní test.....	31
3.3.3	Disk s cefoxitinem.....	32
3.3.4	IDI MRSA	32
4	Nemocnice Havlíčkův Brod.....	33
4.1	Oddělení společných laboratoří	33
4.2	MRSA v Nemocnici Havlíčkův Brod.....	33
4.3	Péče o pacienty s MRSA	34
4.3.1	Informování personálu.....	34

4.3.2	Režimová opatření.....	35
4.3.3	Edukace pacienta při propuštění.....	37
4.3.4	Školení personálu	37
5	Hypotézy	39
6	Materiál a metody	40
6.1	Materiál.....	40
6.2	Metody.....	40
7	Výsledky	45
7.1	Výskyt MRSA v Nemocnici Havlíčkův Brod (2009 – 2013).....	45
7.2	Profil citlivosti	50
7.3	Detekce MRSA v rutinní laboratoři.....	51
8	Diskuze.....	58
9	Závěr	61
10	Použitá literatura	62
11	Příloha	68

Seznam použitých zkratk

GISA – *S. aureus* intermediálně rezistentní ke glykopeptidům

GRSA – *S. aureus* rezistentní ke glykopeptidům

MH – Mueller-Hintonové (agar)

MRSA – Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*

KNS – koagulasnegativní stafylokoky

NI – nozokomiální infekce

NN – nozokomiální nákaza

OOPP – osobní ochranný pracovní prostředek

PBP – penicilin-vázající protein

PCR – polymerázová řetězová reakce

PSMVAC – pracovní skupina pro metody vyšetření citlivosti

PVL – Panton-Valentinův leukocidin

TSS – syndrom toxického šoku

TSST – toxin syndromu toxického šoku

VISA – *S. aureus* intermediálně rezistentní k vankomycinu

VRSA – Vankomycin-rezistentní *Staphylococcus aureus*

Úvod

Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* je velký problém ve zdravotnických zařízeních, kde se snadno šíří mezi pacienty. Je fyzikálně i chemicky velmi odolný, snadno se přenáší, jeho léčba je kvůli široké antibiotické rezistenci složitá a finančně nákladná a hospitalizace pacienta se také prodlužuje.

Proto je velmi důležité dodržování protiepidemiologických opatření. Včasná detekce MRSA-pozitivních pacientů, jejich následná izolace a dodržování bezpečnostních předpisů zdravotnickým personálem.

V Nemocnici Havlíčkův Brod je výskyt MRSA nízký, proto není laboratoř vybavena PCR a MRSA se detekuje pomalejší, ale stejně spolehlivou metodou – diskový difúzní test (disk s 30 μ g cefoxitinem).

Cíle práce:

1. Zpracování literárního přehledu o MRSA
2. Výskyt MRSA ve zdravotnickém zařízení (2009 – 2013)
3. Profil citlivosti – antibiogram zachycených kmenů
4. Posouzení detekce MRSA v rutinní laboratoři

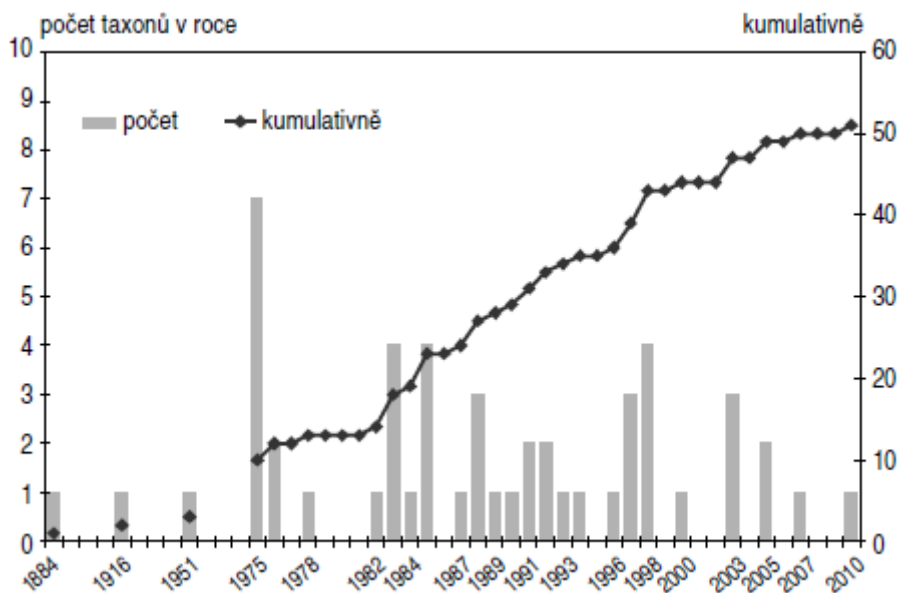
Stručný postup výzkumu:

1. Mikroskopie
2. Kultivace
3. Prolex Staph Xtra Latex Kit
4. Disk s cefoxitinem
5. Selektivní půda

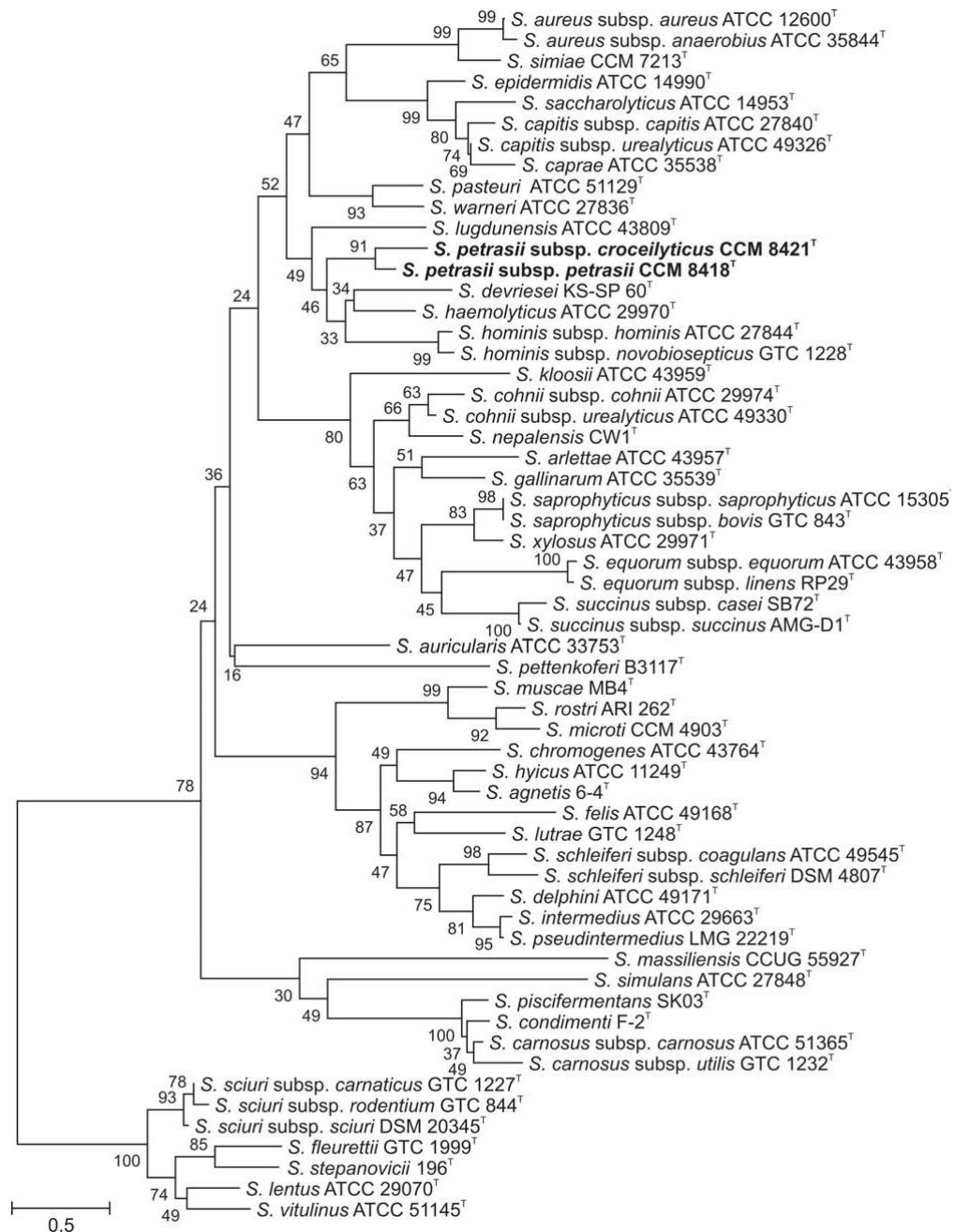
1 Rod *Staphylococcus*

Stafylokok je jeden z nejdéle studovaných bakterií a byl objeven roku 1880 francouzským přírodovědcem Louisem Pasteurem a skotským chirurgem Alexanderem Ogstonem, kteří si všimli přítomnosti koků v hnisu. O dva roky později, roku 1882, Ogston poprvé použil název „*Staphylococcus*“ (Petráš, 2004).

Ještě v roce 1974 byly uváděny pouze 3 druhy rodu *Staphylococcus*, v následujícím roce však přibýlo dalších 7 druhů a tento trend pokračoval i v dalších letech až dodnes (Petráš, 2010). V roce 2013 byl popsán nový druh *Staphylococcus petrasii*, typický koagulasanegativní stafylokok, který může být zachycen v humánním klinickém materiálu (Pantůček, 2013).



Obr. 1 Graf počtu nově popsáných druhů a poddruhů rodu *Staphylococcus* (Petráš, 2010)



Obr. 2 Fylogenetický strom validně popsaných druhů a poddruhů stafylokoků, založený na analýze nukleotidové sekvence genu pro 16S ribozomální RNA (Pantůček, 2013)

2 Staphylococcus aureus

První druh, *Staphylococcus aureus*, označil a pojmenoval německý bakteriolog F. Rosenbach. Druhý stafylokok byl identifikován roku 1891 jako součást mikroflóry a byl pojmenován „*Staphylococcus epidermis albus*“. Brzy se zjistilo, že oba stafylokoky od sebe lze odlišit schopností produkovat enzym plazmakoagulasa (Petráš, 2004).

Staphylococcus aureus je důležitý druh koagulasapozitivních stafylokoků a známe dva jeho poddruhy. *Staphylococcus aureus subsp. aureus* a *Staphylococcus aureus subsp. anareobius*. Pro zjednodušení používáme zkrácený název *S. aureus*, protože poddruh *Staphylococcus aureus subsp. anareobius* se u člověka nevyskytuje (Votava, 2003).

2.1 Taxonomie

Podle Bergeyeho manuálu systematické bakteriologie řadíme rod *Staphylococcus* takto:

Říše: *Eubacteria*

Oddělení: *Firmicutes*

Třída: *Bacilli*

Řád: *Bacillales*

Čeleď: *Staphylococcaceae*

Rod: *Staphylococcus* (Garrity, 2004)

2.2 Výskyt

Dle http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/mikrobiologie_lidskeho_organismu.pdf není lidský organismus ani v běžných podmínkách sterilní a povrch našeho těla pokrývá řada bakterií, které jsou však pro zdravého jedince neškodné. Tato přirozená mikroflóra zabraňuje kolonizaci jiných mikroorganismů, které mohou být pro člověka nebezpečné. *Staphylococcus aureus* je této mikroflóry součástí a můžeme ho nalézt například na nosní sliznici.

2.3 Onemocnění

Zlatý stafylokok způsobuje řadu onemocnění, jako akné, vředy, impetigo, pneumonie, karditida, meningitida aj. část těchto onemocnění je způsobena produkcí hnisu, proto se jim říká hnisavá onemocnění. Často se *Staphylococcus aureus* vyskytuje v horních cestách dýchacích, zvláště pak v nose a krku. Zdraví jedinci jsou pouze nosiči a tak u nich stafylokok žádné onemocnění nezpůsobí. Malé děti jsou infikovány již během prvního týdne života, buď přenosem z matky, nebo blízké osoby. Vážné stafylokokové infekce vznikají u jedinců s oslabenou imunitou.

Některé kmeny *S. aureus* jsou považovány za příčinu vzniku syndromu toxického šoku (TSS), který se projevuje vysokou horečkou, vyrážkou, zvracením a může končit i smrtí. Toxický šok byl poprvé zpozorován u menstruuujících žen používajících vysoce savé tampóny. Díky výměnám materiálů používaných v tampónech, je dnes toxický šok poměrně vzácný. Stále se však můžeme setkat s toxickým šokem vzniklým infekcí po operacích. Syndrom toxického šoku má za následek exotoxin TSST (toxic shock syndrome toxin), superantigen, který se uvolňuje růstem stafylokoků a má za následek masivní reakci T-lymfocytů a charakteristické zánětlivé reakce.

Druhý superantigen, stafylokokový enterotoxin A způsobuje otravu jídlem. Po požití toxinu v kontaminovaném jídle jsou opět stimulovány T-lymfocyty a dojde ke zvýšení permeability sliznice tlustého střeva. Výsledkem je krátkodobý průjem a zvracení (Madigan, 2006).

2.4 Morfologie

Stafylokoky jsou obecně popisovány jako gram-pozitivní koky o průměru 1 μm . V klinickém materiálu je nalézáme především ve dvojicích a nepravidelných shlucích. V hroznících se vyskytují v případě kultur z kultivačních půd (Bednář, 1999).

2.5 Antigenní stavba

Na povrchu bakterie mohou (in vivo) vzniknout různá pouzdra chránící bakterii před složkami imunitního systému – komplement, fagocyty, protilátky, ... Na povrchu buněčné stěny také nalezneme adheziny, které umožňují přilnutí bakterie k mezibuněčné hmotě nebo k povrchu hostitelských buněk, a povrchové antigeny: protein A, kyselinu teichoovou a peptidoglykan (Bednář, 1999).

2.5.1 Protein A

Protein A je povrchový antigen se schopností vázat se na Fc fragment imunoglobulinů, kde o toto místo soutěží s Fc receptory na povrchu fagocytů. Inhibuje opsoniny a má antikomplementární a antifagocytární efekt (Bednář, 1999).

2.5.2 Kyselina teichoová

Kyselina teichoová je součástí polysacharidu A, který je pro *S. aureus* specifický. Tento polysacharid má uplatnění v adhezi na rány a sliznice, kde se kyselina naváže na fibronektin (Votava, 2003).

2.5.3 Peptidoglykan

Peptidoglykan je základní součástí buněčné stěny všech gram-pozitivních bakterií. Podněcuje produkci cytokinů a ovlivňuje nespecifickou imunitu organismu. V kůži způsobuje lokální zánětlivou reakci (Bednář, 1999).

2.5.4 Vázaná koaguláza

Clumping factor, jak je vázaná koaguláza označována, je další povrchový protein, který se váže na fibrinogen a mění ho na aktivní fibrin, což vede ke shlukování stafylokoků (Votava, 2003).

Zjišťování vázané koagulázy se běžně používá v bakteriologických laboratořích pro odlišení *S. aureus* od koagulasanegativních stafylokoků pomocí latexových testů (Petráš, 2005).

2.6 Faktory virulence

Velké množství faktorů virulence buněk *S. aureus* lze nejnadhěji rozdělit na povrchové a extracelulární. O povrchových faktorech byla krátká zmínka v kapitole 1.3.

Extracelulární faktory virulence můžeme rozdělit na enzymy a toxiny (Votava, 2003). V této kapitole bych chtěla zmínit hyaluronidázu, jejíž průkaz pomáhá k odlišení druhu *Staphylococcus aureus* od ostatních druhů stafylokoků (Andrysík, 2004) a Panton-Valentinův leukocidin (PVL).

2.6.1 Hyaluronidáza

Tento enzym je důležitý faktor virulence u kmenů *S. aureus* subsp. *aureus*. Štěpí kyselinu hyaluronovou přítomnou v mezibuněčných tmelech a umožňuje tím mikrobům pronikat dál tkáněmi.

Roku 1985 byl navržen průkaz hyaluronidázy místo průkazu plazmakoagulasy k odlišení druhu *Staphylococcus aureus* od ostatních koagulasapozitivních kmenů (Andrysík, 2004).

2.6.2 Panton-Valentinův leukocidin

PVL je toxin skládající se ze dvou složek: rychlé (F – fast) a pomalé (S – slow). Toto rozdělení je na základě rychlosti separace při chromatografii. Odděleně složky nemají žádnou biologickou aktivitu, ale při společném účinku se dokonale doplňují.

Panton-Valentinův leukocidin vytváří v membráně leukocytů póry a tím je destrukuje. Chrání tak stafylokokové buňky před fagocyty.

Uvádí se, že tento toxin produkují asi 2 % kmenů *S. aureus*. Pokud jde o kmeny MRSA, výskyt se zvyšuje na 5 %. Číslo však rapidně stoupá v případě kmenů izolovaných v souvislosti s nekrotickou hemoragickou pneumonií. Práce francouzských autorů ukazuje, že v souvislosti s touto infekcí byly geny kódující PVL zachyceny u 93 % kmenů *S. aureus*. Kmeny z nozokomiálních nákaz naopak PVL neprodukovaly.

První český kmen *Staphylococcus aureus* s přítomností genů kódujících PVL byl izolován z roku 1992 (Machová, 2004).

2.7 Rezistence k antibiotikům

Získaná rezistence k antibiotikům je stále větší problém. Bakterie citlivé na určité antibiotikum se stávají rezistentní a to zejména v nemocnicích, kde se antibiotika často používají (Votava, 2001).

Antibiotická rezistence má za následek až dvojnásobně vyšší úmrtnost, prodlužuje hospitalizaci pacienta a výrazně zvyšuje náklady na zdravotní péči (Bergerová, 2006).

Mechanismy získání rezistence lze rozdělit na tyto typy:

1. Rezistentní bakterie může mít změněné místo působení
2. Bakterie brání průniku antibiotika do buňky
3. Aktivní vyčerpávání z buňky
4. Bakterie antibiotikum přímo inaktivuje (Votava, 2001).

2.7.1 Penicilin

Právě pro svoji antibiotickou účinnost na *S. aureus* byl penicilin objeven. Dnes už ale více jak 90 % kmenů tohoto druhu je vůči penicilinu rezistentní (Votava, 2001). Je to díky tomu, že tyto kmeny získaly schopnost produkovat penicilinasu (beta-laktamasu), která štěpí molekulu penicilinu. Většina kmenů je ale naštěstí stále citlivá k antibiotikům, do kterých byla uměle vpravena látka zabraňující vstupu beta-laktamasy k citlivému místu. Mezi tyto penicilinasarezistentních antibiotik patří například oxacilin, či v zahraničí používaný methicilin.

Ale stejně, jak vznikla rezistence *S. aureus* k penicilinu, objevily se kmeny rezistentní k polosyntetickým antibiotikům a označují se MRSA (Votava, 2003).

Mgr. Antonín Melichar ještě doplňuje, že „dalším problémem jsou, zatím nepříliš frekventované, kmeny *S. aureus* (ale i KNS), které jsou intermediálně citlivé k vankomycinu a/i teikoplaninu (VISA, GISA). Byl však již zaznamenán výskyt zcela rezistentních stafylokoků k vankomycinu a/i teikoplaninu VRSA, GRSA). Tím se značně zužuje možnost terapie stafylokokových infekcí (VRSA, GRSA)“.

2.7.2 Methicilin

Methicilin je polosyntetické antibiotikum a užívá se zejména v zahraničí. V České republice se k léčbě nasazuje příbuzný oxacilin. Kmeny rezistentní na methicilin se nazývají MRSA a jsou hlavními původci nozokomiálních infekcí (Dostálová, 2008). Blíže se problematice MRSA budu věnovat v dalších kapitolách.

2.7.3 Oxacilin

Oxacilin je antibiotikum ze skupiny penicilinů rezistentních k penicilinase a inhibuje buněčnou stěnu bakteriální buňky vazbou na specifické proteiny (PBP) (Hoza, J., et al., 2002).

2.8 Kultivace

Stafylokoky lze kultivovat na běžných půdách v širokém teplotním rozmezí, nejčastěji 37°C (Votava, 2003).

Nejběžněji se používá krevní agar obsahující 5 – 10 % defibrinované ovčí krve. Na těchto půdách se u *S. aureus* objeví úplná hemolýza projevující se odbarvením a projasněním krevního agaru kolem kolonie.

Na této půdě roste *S. aureus* v pigmentovaných koloniích, které mohou vykazovat různý stupeň hemolýzy. Izoláty *S. aureus* mohou produkovat čtyři hemolýziny (označené jako alfa, beta, gama, delta), které se mohou navzájem ovlivňovat, což může vést až k tomu, že se hemolýza vůbec neprojeví (Votava, 2010).

K záchytu z kontaminovaného vzorku je vhodné použít selektivní půdu, např. krevní agar s 10 % NaCl. Tento agar inhibuje růst gramnegativní flóry, ale také zčásti i růst samotných stafylokoků, proto z této půdy odečítáme i za 48 hodin (Votava, 2003).

2.9 Detekce

2.9.1 Vizuální hodnocení

Stafylokoky rostou na běžných půdách, nejčastěji se používá krevní agar s 5 – 10 % ovčí krve. Na této půdě vyrostou po 24 hodinách kolonie *S. aureus* velké 1 až 3 mm, typická je pro ně neprůhlednost. Mají hladký povrch a jsou vždy pigmentované. Pigment kolonií bývá smetanový, krémový, zlatožlutý až naoranžovělý. Co se týče hemolýzy, liší se podle stupně produkce hemolyzinů (Votava, 2003).

2.9.2 Volná koagulasa

Produkce volné koagulasy je metoda, díky jejímž výsledkům můžeme zařadit kmen stafylokoka do skupiny koagulasapozitivních, či koagulasanegativních. V českých laboratořích se většinou používá přípravek Itest Stafy-koaguláza. V případě pozitivního výsledku dojde k vytvoření sraženiny nebo ztuhnutí plazmy díky přeměny fibrinogenu na fibrin a vzniku fibrinového lemu (Petráš, 2005).

2.9.3 Vázaná koagulasa

V současnosti se v bakteriologických laboratořích využívá detekce tzv. shlukovacího-, neboli clumping-faktoru. Při zjišťování vázané koagulasy našly uplatnění latexové testy. Staly se screeningovou metodou při odlišení kmenů *S. aureus* od koagulasanegativních stafylokoků. Vedle *S. aureus* a *S. intermedius* mohou mít však pozitivní reakci i některé koagulasanegativní kmeny. Jde o závažné nosiče

nemocničních infekcí *S. lugdunensis* a *S. schleiferi*. Jejich aglutinace je obvykle jemnější než u koagulasapozitivních stafylokoků.

Latexová diagnostika je výhodná svojí jednoduchostí a rychlostí provedení, test poskytuje výsledek v řádech sekund (Petráš, 2005).

2.9.4 Produkce hyaluronidázy

Hyaluronidáza je významný faktor virulence a je také označována jako „průnikový faktor“, protože štěpením kyseliny hyaluronové, která je obsažená v mezibuněčných tmelech, umožňuje volný průchod bakterie dál do tkání.

Průkaz hyaluronidázy byl navržen roku 1985 místo průkazu plasmakoagulasy k odlišení *S. aureus* od ostatních druhů stafylokoků, zejména od v té době jediného dalšího známého koagulasapozitivního stafylokoka, *S. intermedius*. Od té doby se však počet stafylokokových taxonů zvýšil na 48 a proto MUC. Andrysík s kolektivem testoval produkci hyaluronidázy u nových kmenů. Z výzkumu vyplývá, že tvorby hyaluronidázy byly schopny pouze dva druhy, *S. aureus* a *S. hyicus*. *S. hyicus* se však v humánních vzorcích nevyskytuje. Z výsledků výzkumu tedy vyplývá, že test na produkci hyaluronidázy je spolehlivou metodou k detekci kmene *S. aureus* subsp. *aureus* a je vhodné jej využívat v rutinní laboratoři (Andrysík, 2004). Podle zkušeností Národní referenční laboratoře je specifita tohoto testu > 99 % (Petráš, 2011). V porovnání s latexovými testy na clumping-factor je však i tato metoda, kvůli nutnosti kultivace, příliš pomalá (Andrysík, 2004).

3 MRSA

Koncem 40. let minulého století se k léčbě stafylokokových infekcí začal využívat penicilin, vzápětí však na toto antibiotikum vznikla u některých kmenů *Staphylococcus aureus* rezistence. Na přelomu padesátých a šedesátých let proto byly vyvinuty peniciliny odolné proti β -laktamáze, tzv. β -laktamová antibiotika. Avšak již v roce 1961 byly objeveny stafylokokové kmeny vůči těmto antibiotikům rezistentní. Tyto kmeny dostaly označení MRSA (methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*) a jejich hlavní problém spočívá v použití omezeného výběru antibiotik při léčbě a finanční nákladnost léčby samotné (Šenkýřová, 2006).

3.1 Rezistence

Mechanismus rezistence na methicilin byl odhalen roku 1981 zjištěním snížené afinity PBP2a – pozměněného druhu penicilinvázajícího proteinu PBP2 (Deresinski, 2005). PBP jsou transpeptidasy, které se účastní na výstavbě buněčné stěny. Peniciliny jejich funkci inhibují, takže se po jejich užití mikroby rozpadají v důsledku narušení buněčné stěny. Modifikovaný PBP2a si ponechává svoji enzymatickou činnost, ale na penicilin se neváže (Votava, 2003).

3.2 Nozokomiální charakter MRSA

Nejčastěji způsobují kmeny MRSA problémy ve zdravotnických zařízeních, kde mají nejlepší podmínky pro šíření. Kromě nemocničních zařízení ale také cirkulují v běžné populaci díky častým asymptomatickým nosičstvím. Na základě představ

o šíření MRSA můžeme kmeny rozdělit na dvě skupiny: HA-MRSA a CA-MRSA (Pazderková, 2012).

HA-MRSA

Za nemocniční MRSA (hospital asociated) kmeny považujeme ty, jež jsou u pacientů zachyceny až po 48 hodinách od začátku hospitalizace (Pazderková, 2012). Rizikovými faktory pro získání nemocničního typu MRSA jsou: dříve prodělaná infekce MRSA, zavedení katétru, zaměstnání v nemocničním zařízení, hospitalizace či operace v předchozích dvou letech apod. Pokud nebyl pacient těmto rizikům vystaven a jeho izolát byl identifikován jako MRSA, jedná se o CA-MRSA (Dostálová, 2008).

CA-MRSA

Jako komunitní kmeny (community asociated) jsou označovány ty, které cirkulují v určité komunitě a do zdravotnických zařízení pronikají v omezeném, ale stále rostoucím, počtu (Pazderková, 2012). K šíření CA-MRSA dochází zejména mezi sportovci, vězni, vojáky, bezdomovci (Nejedlá, 2013).

Kmeny se od sebe liší hlavně geneticky. CA-MRSA má kratší SCCmec segment, takže nemůže vázat tolik genů rezistence, jako HA-MRSA. Proto tyto kmeny nejsou tolik multirezistentní a infekce vyvolané CA-MRSA mají jiný průběh.

Z tohoto důvodu by kmeny měly být označovány na základě genetického vybavení. Místo jejich perzistence by měla být pouze doplňující informace (Pazderková, 2012).

3.2.1 Rizikové faktory pro šíření MRSA v nemocničním zařízení

Délka pobytu

Již řada prací prokázala, že s délkou pobytu v nemocničním zařízení vzrůstá pravděpodobnost infekce MRSA. Ibelingsova a Bruiningova (Ibelings et. al, 1998) studie ukazuje, že pokud pobyt na JIP přesáhne dva týdny, pravděpodobnost infekce vzrůstá dvaapůlkrát, po pobytu delším jak tři týdny až čtyřikrát. Poté to bylo ještě několikrát potvrzeno (Pazderková, 2012).

Závažnost onemocnění a intenzita péče

Čím závažnější onemocnění, tím vyšší riziko infekce. To je dáno zejména větším počtem zákroků a celkovou odolností pacienta. Dalšími rizikovými faktory je zavedené intravenózních kanyl či zavedení permanentního katétru.

Významnou roli však hraje ošetřující personál. Jeho dlouhodobý početní nedostatek je přímo s nárůstem nových infekcí MRSA spojován. Nárůst nových případů MRSA pozitivních pacientů je možný například v letních měsících, kdy dochází ke změně ošetřovatelského týmu z důvodu čerpání dovolených (Pazderková, 2012).

Předchozí kolonizace

Tento rizikový faktor se kvůli různým studiím jeví jako nejvýznamnější. 30 – 60 % kolonizovaných pacientů bylo později bakterií MRSA infikováno. Další studie ukázala, že 83 % pacientů se septickou formou MRSA bylo infikováno již dříve.

Pro šíření infekce je nebezpečné hlavně nosičství, které často končí kolonizací ran nosiče (Pazderková, 2012).

Léčba antibiotiky

Až do konce 90. let minulého století byl výskyt rezistentních bakterií v naší zemi velmi nízký. Po listopadu 1989 se však v naší lékařské praxi objevila řada nových antibiotik, jejichž nadměrné užívání mělo za následek postupný nárůst bakteriální rezistence (Farmakoterapeutické informace, 2011).

Byla prokázána spojitost mezi antibiotickou politikou jednotlivých zemí a výskytem infekcí způsobených kmeny MRSA. Příkladem je Spolková republika Německo, která má v porovnání s USA mnohem přísnější antibiotickou politiku (vyšší podíl ATB s užším spektrem účinku) a výrazně nižší výskyt MRSA infekcí.

Častá léčba antibiotiky má za následek změnu kožní a slizniční mikroflóry. Kmeny, které jsou k antibiotikům senzitivní, uvolňují místo kmenům rezistentní (Pazderková, 2012).

3.2.2 Prevence šíření MRSA v nemocnicích

Klíčem omezení výskytu a šíření MRSA je znalost hlavních rizikových faktorů. Dalším krokem je vytvoření systému, který má za úkol zabránit pronikání rezistentních kmenů do nemocničních zařízení a omezené jejich šíření zpět do komunity. Tato opatření jsou postavena na čtyřech základních pilířích:

- Včasné podchycení nových pacientů infikovaných či kolonizovaných MRSA
- Izolace pacientů
- Dodržování hygienických opatření uvnitř nemocnice
- Dekontaminace prostředí a zdravotnického materiálu (Pazderková, 2012).

Včasně odhalení u nových pacientů

Skríning se může zaměřit na několik cílových skupin:

- Pacienti přijímaní na JIP
- Pacienti přicházející z jiného zdravotnického zařízení, kde se vyskytuje MRSA
- Pacienti přicházející po dlouhodobé hospitalizaci na jiném oddělení, či na oddělení s endemickým výskytem MRSA
- Pacienti po větším chirurgickém zákroku za posledních 5 let
- Pacienti se známou předchozí kolonizací či infekcí MRSA (Maďar, 2006).

K odhalení nových pacientů se vyvinula řada metod: od klasických bakteriologických vyšetření po moderní molekulárně genetické metody.

Při identifikaci je nejdůležitější rychlost. Běžné mikrobiologické metody odhalí kmen MRSA až za dva dny. Tato doba je však velmi dlouhá pro zavedení účinných izolačních opatření. Proto se používají metody PCR, jejichž provedení zabere pár hodin. Nejčastěji používaná metoda IDI-MRSA, která je založená na detekci PCR *mecA* a ORFX genů, je ale až pětkrát dražší než klasický postup.

Dokud se nepotvrdí jednoznačná výhodnost rychlé diagnostiky i z hlediska finančního, stále se doporučuje preventivní izolace nově přichozích pacientů, a to zejména v zařízeních intenzivní péče (Pazderková, 2012).

Izolace pacientů

Izolace je při zjištění pozitivního nálezu MRSA velmi důležitá. Pacient je izolován na pokoji, který musí být viditelně označen (Čápová, 2008).

Ovšem jak velký podíl na omezení šíření izolace má, nelze určit, protože není možné v nemocničních zařízeních experimentovat a nelze vytvářet modelové situace (Pazderková, 2012).

Dodržování hygienických opatření uvnitř nemocnice

Z označení MRSA jako původce NN je jasné, že za hlavní příčinu přenosu MRSA infekcí jsou považovány ruce ošetřujícího personálu. Proto je velmi důležitá správná hygiena rukou a používání rukavic. Jelikož jsou kmeny MRSA velmi odolné vůči dezinfekci, je také důležité najít správný dezinfekční roztok (Pazderková, 2012).

Dekontaminace prostředí a zdravotnického materiálu

Přesto, že je známá chemická a fyzikální stafylokoková odolnost, dekontaminaci prostředí není věnováno tolik, jako například hygieně rukou. Kmeny MRSA jsou velmi odolné teplotám: při teplotě 60 – 70°C jsou zničeny až po jedné hodině. Dobře také odolávají běžným dezinfekčním prostředkům: 2% fenol je usmrtí až po 30 minutách. Doba přežívání se však ještě prodlužuje, pokud jsou chráněny biologickými tekutinami (sérum, hnis, ...).

Co se týče materiálů používaných v nemocnicích, přežívají kmeny MRSA velice dlouho. Například na polyesteru přežívají až 56 dnů, na obalech zdravotnického materiálu lze kmeny kultivovat i po 38 týdnech. Bylo také potvrzeno, že kontaminace prostředí navozená infikovaným pacientem je dostatečná k tomu, aby byly kontaminovány rukavice ošetřujícího personálu, aniž by došlo k přímému kontaktu s pacientem (Pazderková, 2012).

3.3 Detekce MRSA

3.3.1 Selektivní půda

Doporučuje se kultivovat na selektivní půdě obsahující antibiotikum, které inhibuje senzitivní kmeny, a zvýšenou koncentrací NaCl, která podporuje růst MRSA. Komerčně používané půdy navíc obsahují oxacilin nebo cefoxitin.

Zároveň je nutno vzorky kultivovat i na neselektivní půdě, protože MRSA s velmi nízkou koncentrací buněk rezistentních k oxacilinu, se může projevit jako citlivý kmen (Bergerová, 2006).

3.3.2 Diskový difúzní test

Tato metoda se v klinické praxi používá nejvíce, protože může stanovit citlivost kmenů na velké množství antibiotik.

Používají se papírové disky nasycené určitým množstvím antibiotika. Ty se pak kladou na půdy předem naočkované vyšetřovaným kmenem. Nejčastěji se používá půda Muellerova-Hintonové (MH) (Votava, 2010).

Po kultivaci se měří inhibiční zóna, jejíž průměr udává citlivost či rezistenci.

3.3.3 Disk s cefoxitinem

Jak již bylo uvedeno, diskový difúzní test s oxacilinem není při nízkých koncentracích rezistentních buněk spolehlivý. Pracovní skupina pro metody vyšetření citlivosti PSMVAC při NRL/ATB SZÚ doporučuje používat více metod současně. Velmi spolehlivá metoda je metoda s cefoxitinem (Urbášková, 2004). V souboru 752 kmenů *S. aureus* bylo z 218 kmenů MRSA se 8 kmenů podle některých metod (agarovou vyhledávací metodou, diluční mikrometodou a diskovou difuzní metodou) jevílo jako falešně senzitivní (Urbášková, 2004). Kmeny MRSA vytvářejí kolem disku s 30 µg cefoxitinu inhibiční zóny < 20 mm. Tato metoda se ukázala stejné výsledky jako metoda PCR pro průkaz *mecA* genu.

Metodu s diskem cefoxitinu doporučuje EARSS manual a od ledna 2004 i National Committee for Clinical Laboratory Standards (Urbášková, 2004).

3.3.4 IDI MRSA

IDI MRSA je nejvíce favorizovaná metoda pro odhalování MRSA kmenů (Pazderková, 2012). Tato metoda je senzitivní a specifický test pro detekci nasálních MRSA kmenů přímo ze stěru bez potřeby další kultivace. Metoda přináší výsledky do stejného dne (Warren et al, 2004). Metoda je svou rychlostí vhodná pro identifikaci infikovaných pacientů nově příchozích do nemocničního zařízení, je však pětikrát dražší než klasické metody (Pazderková, 2012).

4 Nemocnice Havlíčkův Brod

Historie nemocnice v Havlíčkově Brodě sahá až do roku 1897. Dnes má Nemocnice Havlíčkův Brod 561 lůžek na 19 odděleních. Oddělení jako radiodiagnostické oddělení, oddělení společných laboratoří, transfúzní oddělení a oddělení nukleární medicíny jsou vybavena na velmi dobré odborné úrovni (www.onhb.cz).

4.1 Oddělení společných laboratoří

Toto oddělení zahrnuje biochemickou, bakteriologickou a imunologickou laboratoř. Mikrobiologická laboratoř (bakteriologie a imunologie) provádí přímou a nepřímou diagnostiku bakteriálních, virových, mykotických a parazitárních infekcí. Stanovuje citlivost k ATB a také provádí molekulárně-biologickou diagnostiku (Linhart, 2014).

4.2 MRSA v Nemocnici Havlíčkův Brod

Díky dlouholeté praxi v této nemocnici se Mgr. Antonín Melichar může vyjádřit k výskytu infekcí způsobených MRSA: „MRSA se v této nemocnici vyskytuje spíše jako náhodný nález a bývá hodnocen jako kolonizace. Mnohé záchyty byly, i podle antibiogramu, klasifikovány jako komunitní kmeny. Až na dva případy šlo vždy o izolované případy, takže nedošlo k dalšímu šíření po nemocničním zařízení.

V prvním případě šlo o zvýšený záchyt MRSA na novorozeneckém oddělení v roce 2006. Čtyři nedonošené děti byly kolonizovány MRSA. Byla zavedena režimová opatření, bez terapie a případ byl uzavřen jako nákaza od blízké osoby (otcové).

V druhém případě se jednalo o epidemiologický případ na plicním oddělení, kde byl záchyt MRSA u 3 pacientů (terminální stadium – zhoubné nádory). 2x exitus letalis a u jednoho pacienta se podařilo MRSA eliminovat. Bylo nalezeno bezpříznakové nosičství v nosu zdravotní sestry, oddělení tedy případ vyhodnotilo jako nozokomiální nákaza.“

4.3 Péče o pacienty s MRSA

Dle vyhlášky dle vyhlášky č. 55/2011 Sb. se ošetřující personál řídí SOP č. 57 Zásady bariérové ošetrovatelské péče. Cílem této směrnice je omezení šíření infekce.

Zdrojem MRSA může být jak pacient, tak samotný personál. K přenosu dochází nejčastěji přímým kontaktem (ruce personálu), dále pak vyšetřovacími pomůckami (teploměr, ...) a různými přístroji, vyšetřujícími především tělní dutiny (endoskop, ...) (SOP č. 57).

4.3.1 Informování personálu

Při zjištění pozitivního nálezu MRSA je důležité předání informací mezi personálem, aby byl přenos infekce co nejvíce potlačen:

- Nález je zaznamenán ve zdravotnické dokumentaci pacienta
 - Na viditelném místě je červeně zapsáno MRSA
- O MRSA pozitivním pacientovi a o zavedení zvýšeného hygienického režimu je informována nozokomiální sestra
- V případě nutnosti operace, či jiných zákroků a vyšetření musí být o pozitivním pacientovi dané pracoviště předem informováno

- Žádanky jsou výrazně označeny nápisem MRSA a každá zkumavka označena žlutým puntíkem
- Pacient je před propuštěním poučen o kolonizaci MRSA (SOP č.57)

4.3.2 Režimová opatření

1. Izolace pacienta:

- Nejvhodnější je izolace na jednolůžkovém pokoji s vlastním sociálním zařízením
- Označení dveří: Zvýšený hygienický režim
- Poučení pacienta a jeho návštěv o hygieně rukou a používání osobních ochranných pracovních prostředků (OOPP)

2. Bariérová ochrana:

- Používání pouze jednoho vchodu do pokoje s dekontaminační rohoží
- Používání OOPP
- Individualizace ošetrovatelských pomůcky a přístrojů
- Dezinfekce použitých přístrojů, poté odvoz z pokoje
- Před odchodem vyhození OOPP do infekčního odpadu
- Pro mytí rukou používat antibakteriální emulzi s účinností na MRSA
- Dezinfekce rukou alkoholovými dezinfekčními prostředky s účinností na MRSA

3. Osobní hygiena pacienta:

- 3x denně za použití antibakteriální mycí emulze
- Dekolonizace pacienta přípravkem účinným na MRSA
- Ošetření infikovaných ran antiseptickým prostředkem

4. Lůžkoviny a osobní věci pacienta:

- Ložní prádlo apod. měnit každý den a vhadovat do označených pytlů

- Osobní pomůcky udržovat v čistotě = dezinfikovat a důkladně oplachovat vodou
- Používat jednorázové nádoby
- Používat jednorázové pomůcky

5. Dezinfekce pokoje:

- Úklid 3x denně prostředky účinnými na MRSA
- Informovat úklidovou sestru
- Úklid pokoje jako posledního v pořadí
- Vyčlenění úklidových a mycích prostředků
- Používání OOPP

6. Dekontaminace nástrojů a pomůcek:

- nástroje a pomůcky zůstávají po dobu hospitalizace pacienta dle možností na pokoji

7. Transport pacienta:

- Informovat pracoviště o pozitivním pacientovi
- Samostatný převoz
- Omytí pacienta dezinfekčním prostředkem
- Doprovod v OOPP
- V případě kolonizace krku či nosu nasazení ústenky, u kolonizace vlasů operační čepice
- Po převozu dezinfekce transportního vozu

8. Závěrečná dezinfekce:

- Po ukončení izolace pacienta
- Úplná dekontaminace ploch a povrchů, nástrojů a pomůcek
- 24 hodin po dezinfekci uzavřít místnost
- Provedení kontrolních stěrů

- Zbytky mastí, obvazového materiálu a jiných pomůcek vhodit do pytle s infekčním odpadem
- Dezinfekce lůžka (SOP č. 57)

4.3.3 Edukace pacienta při propuštění

V případě zjištění pouhého nosičství není většinou potřeba pacienta léčit. Pokud však MRSA způsobí infekci, pacient je hospitalizován a seznámen s výše uvedenými opatřeními.

Po propuštění musí pacient dodržovat správnou hygienu rukou, a pokud je nadále ošetřován zdravotnickým personálem, musí zdravotnický pracovník nosit ochranný plášť, rukavice a ústenku.

V případě návštěvy lékaře či nemocničního zařízení musí pacient oznámit, že je nosič MRSA, nebo že byl pro infekci MRSA léčen. V jeho zdravotnické dokumentaci je údaj o MRSA také uveden (SOP č. 57).

4.3.4 Školení personálu

V Nemocnici Havlíčkův Brod dochází ke každoročnímu školení personálu v tématice „Hygienická očista rukou“ pro lékaře a pro nelékařské pracovníky, přičemž školení pro lékaře obsahuje i blok „Nozokomiální nákazy“.

Jednou ročně se také v nemocnici děje akce „Čisté ruce“, kdy jsou přibližně 50 náhodně vybraným pracovníkům v chirurgických oborech a 50 odborníkům z interních oborů a laboratoří odebrány otisky konečků prstů z důvodu kontroly správné hygieny

rukou. Jednou ročně také dochází k odebrání otisků většiny fonendoskopů, v případě potřeby se dělají stěry i z vnějšího prostředí.

Každoročně se v květnu v rámci Mezinárodního dne hygieny rukou koná ve vestibulu nemocnice Den hygieny rukou v NHB. Zde si může zejména veřejnost ověřit, zda je její technika hygieny rukou správná (www.onhb.cz)

5 Hypotézy

1. Podíl MRSA na nálezech *S. aureus* v klinických materiálech (nálezy MRSA v Nemocnici Havlíčkův Brod v období 2009 – 2013 nejsou epidemicky závažné)
2. Poměr nosičství a onemocnění MRSA
3. Nosičství *S. aureus* v HCD (očekáváno 20 – 30 %)
4. Podíl MRSA na nosičství v HCD (očekáváno 5 %)
5. Jaký vliv má dodržování všech zásad (školení, bariérový režim...) na tlumení výskytu MRSA zvláště v nemocnici?

6 Materiál a metody

V první fázi jsem vyhodnocovala výskyt MRSA v letech 2009 – 2013. Na základě údajů v Registru MRSA v NHB 2009 – 2013 jsem sestavila tabulky (Tab. 1 – Tab. 5) obsahující základní údaje o výskytu MRSA v nemocnici. Na základě těchto výsledků jsem sestavovala další tabulky potřebné k ověření hypotéz.

6.1 Materiál

Vlastní práci jsem prováděla v mikrobiologických laboratořích OSL Havlíčkův Brod. Pracoviště je akreditováno podle ČSN EN ISO 15189, spádová oblast je bývalý okres Havlíčkův Brod s přesahem do sousedních okresů (140 000 obyvatel). Zpracovává materiály z nemocnice H. Brod, Psychiatrické nemocnice HB a terénu.

Jako materiál byly zvoleny výtěry z horních cest dýchacích, další místa pak v rámci cílených odběrů (4540 vzorků). Odběry byly prováděny v Nemocnici Havlíčkův Brod školeným personálem podle Příručky pro odběr primárních vzorků – OSL.

Po odebrání materiálu byly vzorky přijaty na příjmu OSL a poté předány mikrobiologické laboratoři ke zpracování.

6.2 Metody

Kultivace, izolace, identifikace, stanovení citlivosti k antibiotikům probíhá podle příslušných standardních operačních postupů (SOP):

- SOP_BAK_01 Mikroskopické vyšetření nativních a barvených preparátů

- SOP_BAK_02 Bakteriologické vyšetření horních cest dýchacích
- SOP_BAK_02 Bakteriologické vyšetření dolních cest dýchacích
- SOP_BAK_05 Bakteriologické vyšetření moče semikvantitativní metodou
- SOP_BAK_06 Bakteriologické vyšetření urogenitálního traktu
- SOP_BAK_07 Bakteriologické vyšetření klinického materiálu (absces,...)
- SOP_BAK_08 Bakteriologické vyšetření likvoru
- SOP_BAK_10 Kultivační vyšetření krve a vybraného klinického materiálu pomocí automatizovaného systému Bact Alert
- SOP_BAK_17 Identifikace mikroorganismů
- SOP_BAK_18 Vyšetření citlivosti k antibiotikům diskovou diluční metodou
- SOP_BAK_19 Vyšetření citlivosti k antibiotikům mikrodiluční metodou

1. Mikroskopie

Pomůcky:

- Mikroskop

Postup:

- Barvení dle Grama a metylenovou modří (počítání leukocytů)
- Mikroskopování

Výsledek:

- G+ koky ve shlucích, ale výskyt i jednotlivě, či ve dvojicích (viz Příloha 1)
- Mikroskopicky nelze spolehlivě odhadnout, zda jde o stafylokoky, či jiné gram-pozitivní koky

2. Kultivace

Pomůcky:

- Krevní agar s 5 – 10 % sterilní defibrinované ovčí krve
- Termostat

Postup:

- Rozočkování materiálu na půdu
- Izolace za aerobních v termostatu při 37°C po dobu 24 hodin

Výsledek:

- Suspektní kolonie se izolují na krevní agar a do protokolu je uvedena kvantita (+ až + + +)
- Odečítá příslušný VŠ pracovník

3. Prolex Staph Xtra Latex Kit



Obr. 3 Komerční set k detekci *S. aureus*

Postup:

- Dle návodu (Příloha 2)

Výsledek:

- Aglutinace

4. Stanovení citlivosti – disk s cefoxitinem

Pomůcky:

- agar dle Muellera a Hintonové
- disk s 30 μ g cefoxitinu
- fyziologický roztok
- vatový tampon
- posuvné měřítko
- termostat

Postup:

- ponoření vatového tampony do fyziologického roztoku
- setření kolonie vlhkým tamponem a rovnoměrné rozetření po MH-agaru
- po krátkém zaschnutí kladení disku s 30 μ g cefoxitinu pomocí dávkovače
- Kultivace v termostatu přibližně 20 hodin

Výsledek:

- Měření inhibiční zóny pomocí posuvného měřítka
- Zápis hodnot do PC a vyhodnocení hodnot v souladu s předpisem EUCAST verze 4.0

5. Selektivní půda – SAUM (viz Příloha 3)

Pomůcky:

- Chromogenní agar „chromID MRSA Agar“ firmy BioMerieux

- Termostat

Postup:

- Rozetření kolonie na chromogenní agar
- Kultivace v termostatu

Výsledek:

- Odečítá VŠ pracovník

7 Výsledky

7.1 Výskyt MRSA v Nemocnici Havlíčkův Brod (2009 – 2013)

Tab. 1 Výskyt MRSA v Nemocnici Havlíčkův Brod za rok 2009

Označení	Rok narození	Pohlaví	Materiál	Oddělení	NI	Poznámka	OXA
1/09	1914	F	perim	AROSQ	N	ex.let.	R
2/09	1921	M	punktát	TRNSR	N	ex.let.	R
3/09	1923	F	sputum	AROSQ	N	ex.let.	R
4/09	1924	M	nom	AROSQ	N	ex.let.	R
5/09	1925	F	okol	OCNA	N		R
6/09	1926	F	krk	INFSO	N		R
7/09	1929	M	moč	NEUSI	N		R
8/09	1932	M	stěr z defektu	INTSL	N	ex.let.	R
9/09	1934	M	tkáň	CHRSA	N		R
10/09	1936	M	sputum	AROSQ	4	ex.let.	R
11/09	1937	F	stěr z rány PDK	INTSJ	N	ex.let.	R
12/09	1939	F	stěr	CHRA	N		R
13/09	1942	F	stěr z paty L	CHRSA	N		R
14/09	1945	F	stěr z rány	CHRSA	N		R
15/09	1947	F	trach	INTSV	N		R
16/09	1948	M	stěr LDK	CHRSA	N		R
17/09	1951	F	stěr z rány	CHRSU	N		R
18/09	1952	M	sputum	TRNA	N		R
19/09	1952	M	stěr z rány	CHRCA	N		R
20/09	1955	M	hnis	CHRA	N		R
21/09	1961	F	stěr z rány	INTSV	N		R
22/09	1971	F	stěr z prstu	TRNZ	N		R
23/09	1979	M	tkáň	AROSQ	2		R
24/09	1980	M	sputum	AROSQ	4		R
25/09	1990	M	rána na P prstu	CHRA	N		R
26/09	2003	M	krk	INFSO	N		R
27/09	2009	M	oko	DETSZJ	N		R
28/09	2009	F	axila	DETSMI	N		R
29/09	2009	F	spojp	DETA	N		R

Tab. 2 Výskyt MRSA v Nemocnici Havlíčkův Brod za rok 2010

Označení	Rok narození	Pohlaví	Materiál	Oddělení	NI	Poznámka	OXA
1/10	1927	F	stěr z kůže	CHRSA	N		R
2/10	1928	M	perim	AROSQ	N		R
3/10	1931	F	stěr z rány PDK	INTSJ	N	ex.let.	R
4/10	1934	M	kloubní punktát	CHRSA	N		R
5/10	1934	F	stěr z rány	INTSJ	N		R
6/10	1939	F	stěr z rány DK	CHRA	N		R
7/10	1947	F	stěr z rány	INFSO	N		R
8/10	1951	M	stěr1	ORTSG	N		R
9/10	1955	M	stěr rameno	CHRA	N		R
10/10	1955	F	tkáň	CHRSDI	N		R
11/10	1956	M	nom	INTSV	N		R
12/10	1957	M	sputum	AROSQ	N		R
13/10	1957	M	sputum	AROSQ	4		R
14/10	1959	M	tkáň LDK	CHIRA	N		R
15/10	1962	M	sputum	AROSQ	N	ex.let.	R
16/10	1966	F	ucho	ORLA	N		R
17/10	1977	M	stěr rána L předloktí	CHIRAPR	N		R
18/10	1978	M	stěr z rány	INTSL	N		R
19/10	1982	F	stěr krk	DETSN	N		R
20/10	2002	F	nom	DETA	N		R
21/10	2008	M	mm z L prstu	DETSM	N		R

Tab. 3 Výskyt MRSA v Nemocnici Havlíčkův Brod za rok 2011

Označení	Rok narození	Pohlaví	Materiál	Oddělení	NI	Poznámka	OXA
1/11	1923	M	stěr z DK	INTSK	N		R
2/11	1929	F	stěr bérc.vřed	INFSO	N		R
3/11	1935	F	punktát koleno	TRMOA	N		R
4/11	1940	M	sputum	TRNSR	N		R
5/11	1941	M	stěr stehno PDK	CHIRA	N		R
6/11	1942	F	perim	AROSQ	N		R
7/11	1945	M	sputum	AROSQ	4	ex.let.	R
8/11	1947	F	stěr z rány	ORTSG	2		R
9/11	1951	F	stěr ze stomatu	ORLA	N		R
10/11	1952	M	stěr z rány-hýždě	CHRA	N		R
11/11	1958	M	ucho	ORLA	N		R
12/11	1961	M	stěr palec	ORTA	N		R
13/11	1963	M	perim	AROSQ	N		R
14/11	1967	F	stěr z rány nárt	ORTA	N		R
15/11	1974	F	an3	INFSO	N		R
16/11	2007	F	ucho	ORLA	N		R

Tab. 4 Výskyt MRSA v Nemocnici Havlíčkův Brod za rok 2012

Označení	Rok narození	Pohlaví	Materiál	Oddělení	NI	Poznámka	OXA
1/12	1929	F	stěr z kůže	INTSJ	N		R
2/12	1939	F	sputum	AROSQ	N		R
3/12	1939	F	punkt.z drénu I	TRNSR	N	ex.let.	R
4/12	1941	M	punktát	TRNSR	2		R
5/12	1944	M	sputum	AROSQ	N		R
6/12	1945	M	stěr z defektu	INFSO	N		R
7/12	1950	F	stěr palec DK	CHIRA	N		R
8/12	1950	M	tkáň prsty nohy	CHRSA	2		R
9/12	1956	M	nos	TRNZ	N		R
10/12	1958	M	odp.drén I.	TRNSR	2	ex.let.	R
11/12	1960	M	hnis z ledviny	CHRSA	2		R
12/12	1965	F	tkáň z rány	CHIRA	N		R
13/12	1980	M	tkáň L tříslu	CHRA	2		R
14/12	1992	M	nos	INFSO	N		R
15/12	1993	M	nom	CHRSD	N		R

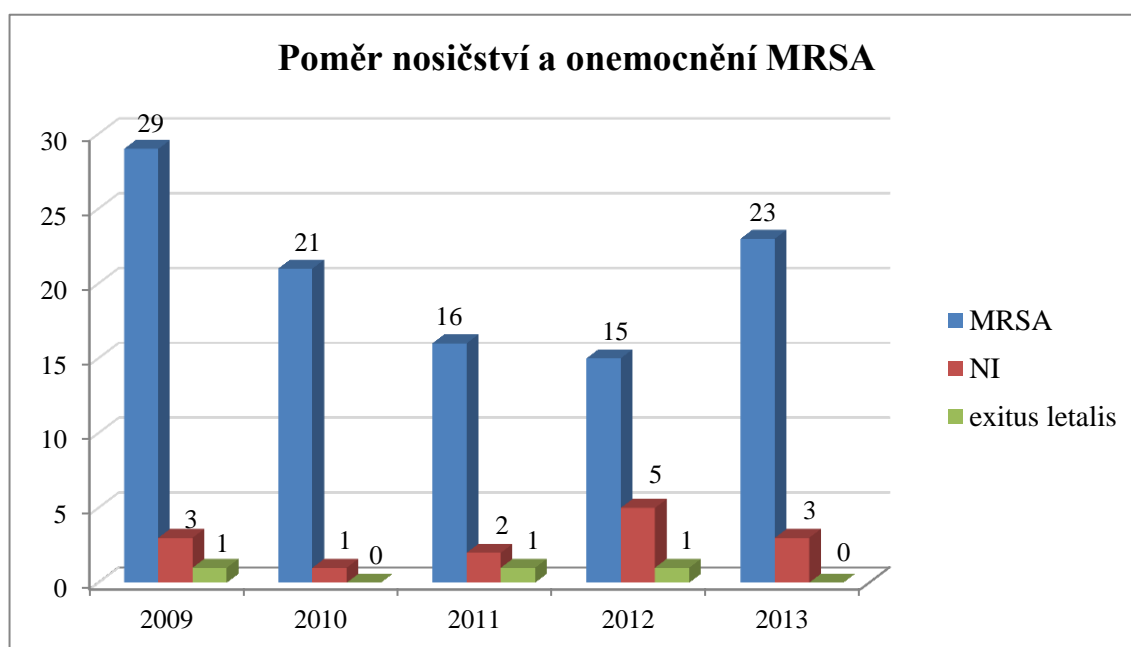
Tab. 5 Výskyt MRSA v Nemocnici Havlíčkův Brod za rok 2013

Označení	Rok narození	Pohlaví	Materiál	Oddělení	NI	Poznámka	OXA
1/13	1943	M	hemokultura	TRNSR	5		R
2/13	1989	M	hnis stěr	CHIRA		CAI	R
3/13	1951	M	rána P stehno	ORTA		IMNO	R
4/13	1988	F	stěr	CHRAPR		CAI	R
5/13	1946	M	stěr pupek	CHRA			R
6/13	1940	F	stěr	CHRSA		IMNO	R
7/13	1980	F	rána P kyčel	AROSQ		IMNO	R
8/13	1940	F	aspirát	TRNSR			R
9/13	1930	F	rána LDK	CHRSE			R
10/13	1956	M	pahýl LDK	CHRSDI	2		R
11/13	1938	M	krk	INFSO			R
12/13	1991	M	tonsily	INTSV			R
13/13	1975	M	stěr z rány anus	CHRSA			R
14/13	1927	M	perim	CHRSE			R
15/13	1929	F	stěr z rány	INTSJ	2		R
16/13	1947	F	nehtový val	KOZA			R
17/13	1992	F	nos	ORLA			R
18/13	1930	F	LV	TRNSR			R
19/13	1933	F	LV	TRNSR			R
20/13	1934	F	bérc.vřed	CHRSU			R
21/13	1996	M	sputum	T			R
22/13	1964	M	stěr z rány	PL 7A			R
23/13	1950	M	nos	PL7			R
24/13	1954	F	nom	T			R
25/13	1996	M	sputum	T			R
26/13	1936	F	vnější kotník LDK	CHIRA			R
27/13	1971	F	ucho	T			R
28/13	1971	M	nos,krk	PL 7			R
29/13	1996	M	sputum	T			R

Tab. 6 Podíl MRSA na nálezech *S. aureus* v klinickém materiálu

rok	SAU	MRSA	%MRSA
2009	301	29	9,6
2010	253	21	8,3
2011	216	16	7,4
2012	150	15	10,0
2013	241	23	9,5
celkem	1161	104	ø 8,9

Graf 1 Poměr nosičství a onemocnění MRSA



7.2 Profil citlivosti

Tab. 7 Profil citlivosti na ATB

profil	antibiogram									výskyt
	ERY	CLI	COT	GEN	CIP	VAN	TEI	RIF	CMP	%
1	R	R	C	R	R	C	C	C	C	31,0
2	R	R	C	C	R	C	C	C	C	30,0
3	C	C	C	C	C	C	C	C	C	10,0
4	R	R	R	R	R	C	C	C	C	6,0
5	C	C	C	R	C	C	C	C	C	5,0
6	C	C	R	R	R	C	C	C	C	4,0
7	R	R	C	C	R	C	C	C	R	4,0
8	R	C	C	R	C	C	C	C	C	3,0
9	R	R	R	R	R	C	C	C	C	3,0
10	R	R	R	C	R	C	C	C	C	2,0
11	R	C	C	C	R	C	C	C	C	1,0
12	R	R	C	C	C	C	C	C	C	1,0

Tab. 8 Profily citlivosti MRSA-infikovaných pacientů

Označ.	F/M	Věk	Odd.	Materiál	NI	Pozn.	Antibiogram								Profil	
							ERY	CLI	COT	GEN	CIP	VAN	TEI	RIF		CMP
10/09	M	73	ARO	sputum	4	ex.let.	R	R	R	R	R	C	C	C	C	4
23/09	M	30	ARO	tkáň	2		R	R	C	R	R	C	C	C	C	1
24/09	M	29	ARO	sputum	4		R	R	C	R	R	C	C	C	C	1
13/10	M	53	ARO	sputum	4		R	R	C	C	R	C	C	C	C	7
7/11	M	66	ARO	sputum	4	ex.let.	R	R	R	C	R	C	C	C	C	10
8/11	F	64	ORT	stěr z rány	2		R	R	C	C	R	C	C	C	C	7
4/12	M	71	TRN	punktát	2		R	R	C	R	R	C	C	C	C	1
8/12	M	62	CHIR	stěr z rány	2		R	R	C	C	R	C	C	C	C	7
10/12	M	54	TRN	odp.drén I.	2	ex.let.	R	R	C	R	R	C	C	C	C	1
11/12	M	52	CHIR	hnis z ledviny	2		R	R	C	C	R	C	C	C	C	7
13/12	M	32	CHIR	tkáň L třísko	2		R	R	C	C	R	C	C	C	C	7
1/13	M	70	TRN	hemokultura	5		R	R	C	C	R	C	C	C	C	7
13/13	F	84	INT	pahýl LDK	2		R	R	C	C	R	C	C	C	C	7
21/13	F	87	INT	stěr z rány	2		R	R	C	R	R	C	C	C	C	1

7.3 Detekce MRSA v rutinní laboratoři

Tab. 9 Detekce MRSA v rutinní laboratoři

Č.	Rok narození	Pohlaví	Materiál	Oddělení	FOX (mm)	SAUM	OXA agar	Poznámka
443	1982	F	nos	terén	27	neg.	neg.	
440	1998	M	tonsily	interna	25	neg.	neg.	
1447	1940	M	nos	chirurgie	0	neg.	neg.	
606	1969	M	krk	PL	26	neg.	neg.	
1071	1940	M	krk	INF N	26	neg.	neg.	
1344	2009	F	krk	T	30	neg.	neg.	
1410-11	2008	M	nos + krk	T	25	neg.	neg.	
1377	1950	F	nasopharynx	T	26	neg.	neg.	
1364	1974	F	tonsily	T	26	neg.	neg.	
1723-4H	1960	M	nom + perim	CHIR N	12	pos.	P	nosič 2012
64	2003	M	krk	T	27	neg.	neg.	
66	2008	F	krk	T	29	neg.	neg.	
75	1969	F	nos	T	29	neg.	neg.	
83	1953	F	nos	ORLA N	28	neg.	neg.	
241	2011	F	nos	T	30	neg.	neg.	
1772H	2006	M	ucho	ORLA N	27	neg.	neg.	
1784H	1997	M	ucho	KOZA N	28	neg.	neg.	
252	1969	F	nos	T	27	neg.	neg.	
336	1991	M	tonsily	INT N	14	pos.	P	
433	1950	M	nos	PL	13	pos.	P	
1843H	2001	F	ucho	T	30	neg.	neg.	
1870H	2003	F	ucho	ORLA N	26	neg.	neg.	
563	1953	M	nos	T	27	neg.	neg.	
610	2007	M	krk	T	28	neg.	neg.	
603	1968	M	krk	T	30	neg.	neg.	
675	2008	M	LV	T	31	neg.	neg.	
689	2009	F	nos	T	32	neg.	neg.	
1922H	1954	F	nom	T	21	pos.	P	
1957H	1976	M	ucho	ORLA N	29	neg.	neg.	
1966H	1995	F	ucho	ORLA N	31	neg.	neg.	
1973H	1975	M	ucho	ORLA N	28	neg.	neg.	

Tab. 10 Detekce MRSA v rutinní laboratoři

Č.	Rok narození	Pohlaví	Materiál	Oddělení	FOX (mm)	SAUM	OXA agar	Poznámka
1026	1976	F	krk	T	27	neg.	neg.	
1150	2010	M	nos	T	28	neg.	neg.	
1205	2010	M	nos	T	29	neg.	neg.	
1225	1960	F	nos	T	27	neg.	neg.	
991	1925	M	LV	INT N	28	neg.	neg.	
993	1976	F	nos	DET N	26	neg.	neg.	
1307	2008	M	nos	T	29	neg.	neg.	
1280	2006	M	nos	T	30	neg.	neg.	
1274	1958	F	nos	PL	25	neg.	neg.	
1517	2000	M	nos	T	28	neg.	neg.	
1533	1968	M	nos	ORLA N	30	neg.	neg.	
1601	1977	M	nos	T (orl)	28	neg.	neg.	
1820	1939	F	krk	INFSO	29	neg.	neg.	
1785	2005	M	nos	T	28	neg.	neg.	
1770	1992	F	nos	T	28	neg.	neg.	
1947	1969	F	nos	ORLA N	29	neg.	neg.	
2095H	1976	F	ucho	ORLA N	29	neg.	neg.	
2044	2009	M	nos	T	27	neg.	neg.	
2104	2011	M	nos	T	29	neg.	neg.	
2033	1984	F	nos	T	28	neg.	neg.	
1985	1990	M	pharynx	T	28	neg.	neg.	
1978	1993	F	nos, LV	T	32	neg.	neg.	
2124	1976	F	nos	T	27	neg.	neg.	
2176	1930	F	tonsily, LV	INT N	29	neg.	neg.	
2250	1966	M	krk	T	30	neg.	neg.	
2315	1958	M	nos	T	27	neg.	neg.	
2330	1976	F	krk	T	28	neg.	neg.	
2163H	1998	M	ucho	ORLA N	28	neg.	neg.	
29	1953	F	nos	T	28	neg.	neg.	
2168	1925	F	tonsily, LV	INT N	26	neg.	neg.	
236	1967	F	krk	T	28	neg.	neg.	
245	2002	M	krk	T	29	neg.	neg.	
309	2005	M	krk	T	29	neg.	neg.	
317	2012	M	krk	T	30	neg.	neg.	
458	2006	M	krk	T	29	neg.	neg.	

Tab. 11 Detekce MRSA v rutinní laboratoři

Č.	Rok narození	Pohlaví	Materiál	Oddělení	FOX (mm)	SAUM	OXA agar	Poznámka
357	2009	F	nos, krk, LV	T	28	neg.	neg.	
360	2010	M	nos	T	28	neg.	neg.	
637	2002	M	nos, krk	T	28	neg.	neg.	
497	1969	M	nasopharynx	T	28	neg.	neg.	
530	2003	F	krk	DET N	26	neg.	neg.	
553	2006	M	LV	T	28	neg.	neg.	
478	2001	M	krk	DET N	29	neg.	neg.	
721	1987	M	LV	T	28	neg.	neg.	
728	2001	F	krk	T	29	neg.	neg.	
771	2008	F	krk	T	29	neg.	neg.	
775	2009	F	krk	T	27	neg.	neg.	
799	1993	F	krk	T	28	neg.	neg.	
813	2006	M	krk	T	27	neg.	neg.	
510	1995	M	nos, krk, LV	T	30	neg.	neg.	
549	2008	M	krk	T	31	neg.	neg.	
689	2011	F	krk	DETA N	28	neg.	neg.	
691	2011	M	krk	DETA N	29	neg.	neg.	
819	1976	F	nos	ORLA N	30	neg.	neg.	
845	2010	M	krk	T	28	neg.	neg.	
2257H	2010	M	ucho	T	30	neg.	neg.	
2289H	1977	M	ucho	ORLA N	31	neg.	neg.	
954	1992	F	nos	ORLA N	15	pos.	P	
1096	1930	F	LV, sputum	TRN N	14,15	pos.	P	
1099	1933	F	LV	TRN N	15	pos.	P	
2302H	1971	F	ucho	T	18	pos.	P	
1184	1997	F	krk	T	28	neg.	neg.	
1041	2013	F	nos	T	30	neg.	neg.	
1135	2003	M	krk	T	27	neg.	neg.	
1939-40	2013	M	nos, krk	T	26	neg.	neg.	
1152	1998	M	krk	T	29	neg.	neg.	
1154	1991	F	krk	T	30	neg.	neg.	
1155	1992	F	krk	T	31	neg.	neg.	
1157	1989	F	nos	T	28	neg.	neg.	
1173	1995	F	krk	T	27	neg.	neg.	
1107	1972	F	krk, LV	PL	30	neg.	neg.	

Tab. 12 Detekce MRSA v rutinní laboratoři

Č.	Rok narození	Pohlaví	Materiál	Oddělení	FOX (mm)	SAUM	OXA agar	Poznámka
1159	2001	M	krk	T	29	neg.	neg.	
1180	2010	F	krk	T	29	neg.	neg.	
1210	2008	M	LV	DET N	28	neg.	neg.	
1092	1979	F	nos	T	29	neg.	neg.	
1127	1990	F	krk	T	31	neg.	neg.	
1133	2008	F	nos	T	32	neg.	neg.	
1208	2013	F	LV	T	30	neg.	neg.	
1255	1946	F	krk	INF N	28	neg.	neg.	
1276	2004	M	krk	T	30	neg.	neg.	
1383	2006	F	krk	T	31	neg.	neg.	sourozenci (akut. tons)
1384	2011	M	krk	T	30	neg.	neg.	
1387	1996	F	LV	T	30	neg.	neg.	
1321	2007	F	nos, krk	T	29	neg.	neg.	
1323	1981	F	nos, krk	T	30	neg.	neg.	
1488	2000	F	krk	T	28	neg.	neg.	
1519	2004	F	krk, LV	T	29	neg.	neg.	
1541	1999	M	tonsily	T	29	neg.	neg.	
1596	2007	F	krk	T	28	neg.	neg.	
1606	2010	F	krk	T	29	neg.	neg.	
1609	2002	F	krk	T	29	neg.	neg.	
1668	2000	F	krk	INF N	30	neg.	neg.	
1684	2010	F	krk	T	27	neg.	neg.	
1713	2003	M	krk	T	28	neg.	neg.	
1714	2009	F	krk	T	30	neg.	neg.	
1811	2006	M	krk	T	29	neg.	neg.	
1623	1996	F	LV	T	31	neg.	neg.	
1739	1948	M	krk, LV	PL	28	neg.	neg.	
1795	2006	M	nos	T	30	neg.	neg.	
2009	1999	F	pharynx	T	29	neg.	neg.	
1911	1976	F	nos	T	29	neg.	neg.	
1906	2003	M	krk	T	31	neg.	neg.	
1899	2013	F	nos	T	27	neg.	neg.	
1780	1995	F	krk	T	28	neg.	neg.	
2420H	1976	M	ucho	ORLA N	29	neg.	neg.	
2118	1932	F	nos	T	30	neg.	neg.	

Tab. 13 Detekce MRSA v rutinní laboratoři

Č.	Rok narození	Pohlaví	Materiál	Oddělení	FOX (mm)	SAUM	OXA agar	Poznámka
2113	2007	F	krk	T	29	neg.	neg.	
2030	2002	M	nos	T	29	neg.	neg.	
2028	1953	F	tonsily	TRNA N	28	neg.	neg.	
2231	2003	M	krk, LV	T	29	neg.	neg.	
2246	1989	F	nos	T	28	neg.	neg.	
2317	2002	M	nos	T	29	neg.	neg.	
2329	1997	F	nos	T	30	neg.	neg.	
2332	2009	F	krk	T	28	neg.	neg.	
2341	1999	M	krk	T	29	neg.	neg.	
2362	1971	F	nos	T	29	neg.	neg.	
2370	2004	M	nasopharynx	T	30	neg.	neg.	
2479H	1992	M	ucho	ORLA N	31	neg.	neg.	
2482H	2013	F	ucho	ORLA N	30	neg.	neg.	
2207	1983	M	nos	AROAN	28	neg.	neg.	
2370	2004	M	nasopharynx	T	29	neg.	neg.	
2028	1953	F	to, LV	TRNA N	29	neg.	neg.	
2500	1995	F	krk	T	30	neg.	neg.	
2508	2002	F	krk	T	27	neg.	neg.	
2371	1988	F	nos	OELA N	28	neg.	neg.	
2241H	1930	F	LV, krk	TRN N	14	pos.	P	
2388	2001	F	nos, krk	T	29	neg.	neg.	
2390	1963	M	LV	TRNA N	28	neg.	neg.	
2470	1991	F	krk	T	28	neg.	neg.	
2479	2001	F	krk	T	29	neg.	neg.	
2632	1989	F	nos	T	29	neg.	neg.	
2630	1960	F	nos	T	28	neg.	neg.	
2559	2007	M	nos	DETA N	29	neg.	neg.	
2476	2002	F	krk	T	29	neg.	neg.	
2559	2007	M	nos	DETA N	28	neg.	neg.	
2612	2013	F	nos	T	32	neg.	neg.	
2696	2002	F	krk	CHIRA N	29	neg.	neg.	
2718	2009	M	nos, krk, LV	T	30	neg.	neg.	
2722	2012	F	krk	T	30	neg.	neg.	
2733	2000	F	krk, LV	T	28	neg.	neg.	
2735	1996	F	krk, LV	T	27	neg.	neg.	

Tab. 14 Detekce MRSA v rutinní laboratoři

Č.	Rok narození	Pohlaví	Materiál	Oddělení	FOX (mm)	SAUM	OXA agar	Poznámka
2761	1982	F	krk	ORLA N	30	neg.	neg.	
2765	2010	M	krk	T	31	neg.	neg.	
2771	1997	M	krk	T	29	neg.	neg.	
2784	1974	F	nos	T	28	neg.	neg.	
2788	1919	M	nos	T	26	neg.	neg.	
2793	1998	F	krk	T	28	neg.	neg.	
2803	2004	M	krk	T	29	neg.	neg.	
2813	1952	F	krk	PL	30	neg.	neg.	
2839	2001	M	krk	DET N	32	neg.	neg.	
2841	1946	F	krk	INF N	31	neg.	neg.	
2833	1927	M	krk	INF N	31	neg.	neg.	
2885	2006	F	nos	T	29	neg.	neg.	
2902	2009	M	nos	T	31	neg.	neg.	
3019	1998	F	krk	T	30	neg.	neg.	
3058	1989	F	nos	T	30	neg.	neg.	
2876	1917	F	LV	INT N	28	neg.	neg.	
3105	2007	F	krk	T	29	neg.	neg.	
3092	2006	M	nos	ORLA N	28	neg.	neg.	
2594H	2009	M	ucho	T	30	neg.	neg.	
3188	1977	F	nos	T	31	neg.	neg.	
3230	1984	F	nos	T	29	neg.	neg.	
3298	1996	M	krk	T	28	neg.	neg.	
351	2008	M	nos	ORLA N	29	neg.	neg.	
347	2002	F	krk	DET N	30	neg.	neg.	
100	2009	F	krk	T	31	neg.	neg.	
191	1996	F	krk	ORLA N	28	neg.	neg.	
201	1995	F	krk	ORLA N	29	neg.	neg.	
223	2007	M	krk	T	30	neg.	neg.	
283	1973	M	nos	T	29	neg.	neg.	
3253	2001	F	krk, LV	T	30	neg.	neg.	
2588H	1959	F	ucho	ORLA N	29	neg.	neg.	
344	1975	F	nos, pharynx	T	30	neg.	neg.	
360	1970	F	nos	CHIRA N	29	neg.	neg.	
420	1927	M	krk	INFSO	29	neg.	neg.	
2659H	2011	M	ucho	ORLA N	30	neg.	neg.	

Tab 15. Detekce MRSA v rutinní laboratoři

Č.	Rok narození	Pohlaví	Materiál	Oddělení	FOX (mm)	SAUM	OXA agar	Poznámka
475	1997	F	nasopharynx	T	29	neg.	neg.	
206	2003	F	nos, krk, LV	T	30	neg.	neg.	
224	1996	F	krk	INF N	29	neg.	neg.	
232	2006	F	krk	T	28	neg.	neg.	
571	1949	F	nos	T	28	neg.	neg.	
572	2011	M	nos	T	30	neg.	neg.	
594	2013	F	nos	T	31	neg.	neg.	
3500	1979	M	nos, krk	PL	15	P	P	

Tab. 16 Nosičství v HCD

HCD	SAU	MRSA
1200	214	10
poměr nosičství	MRSA: SAU	MRSA: HCD
	4,7%	0,8%

8 Diskuze

V uvedeném období bylo zachyceno celkem 104 pacientů s nálezem MRSA. Ve čtrnácti případech se jednalo o nozokomiální nákazu, v ostatních případech šlo o kolonizaci nebo nosičství. Většinou byla nákaza získána mimo nemocnici. Podíl MRSA na celkových nálezech *S. aureus* byl v průměru 8,9 % (v rozmezí 7,4 až 10,0 %). Viz Tab. 6

Z celkového počtu zachycených MRSA bylo 14 případů kvalifikováno jako nozokomiální nákaza, z tohoto počtu byla zaznamenána 3 úmrtí.

Na základě podkladů jsem sestavila profily citlivostí na testovaná antibiotika a zjistila frekvenci výskytů jednotlivých profilů v sestavě MRSA za sledované období. V profilech nejsou uvedeny oxacilin a cefoxitin (ve všech případech rezistentní), penicilin (podle přehledů rezistence je 96 % kmenů *S. aureus* rezistentních). Stoprocentně citlivé jsou glykopeptidy (vankomycin a teikoplanin) a rifampicin. Za nemocniční lze považovat typy 1, 4, 6, 9 (HA-MRSA), ostatní spíše patří do CA-MRSA – toto je spekulace Mgr. Antonína Melichara vycházející z toho, že kmeny z nemocnice jsou obecně s vyšší rezistencí, než kmeny, které cirkulují mimo selekční tlak antibiotik v komunitě. Nejfrekventovanější jsou profily 1 a 2, které se vyskytují u více než 60 % případů. Viz Tab. 7

Z těchto údajů může odborný VŠ pracovník vyvodit i strategii terapie: kdy stoprocentně jsou použitelné glykopeptidy (ale jsou toxické a u pacientů s renální insuficiencí se musí dávky redukovat). Navíc je terapie ekonomicky náročná, takže tato antibiotika jsou používána pouze u velmi těžkých případů. Rifampicin se užívá velmi málo, pokud ano, tak v kombinaci s aminoglykozidy (gentamicin, amikacin), protože rychle na něj vzniká rezistence. U nekomplikovaných případů se úspěšně používá kotrimoxazol. Rezistence na makrolidy (zde zastoupené erytromycinem), klindamycin a ciprofloxacin kolísá. Ze zkušeností je známo, že nosičské kmeny se antibiotiky v podstatě nedají eradikovat, v případě nutnosti (u nosního nosičství) se s dobrým

efektem používá mupirocin. V nemocnici je záložním antibiotikem linezolid (vyčleněný pro vitální indikace), který vykazuje 100% citlivost. Dříve byl testován diskovou difúzní metodou, nyní je pouze v testech stanovení MIC – do této sestavy není zahrnut. V podstatě je nutné všechny nálezy MRSA konzultovat s antibiotickým střediskem (z důvodů terapie i možných epidemiologických opatření).

Detailnější rozbor nozokomiálních nákaz MRSA poskytuje Tab. 8. Ze 14 NI bylo 11 mužů a 3 ženy, věkový průměr byl 59 let (od 29 do 87 let). V 9 případech se jednalo o infekci v operační ráně, 4 případy infekt respiračního traktu a 1x šlo o infekci krevního řečiště. Nejfrekventovanější profily citlivosti byly 7 (7x), 1 (5x). Profil 4 a 10 se vyskytl vždy 1x. Nejčastěji se nozokomiální infekce MRSA vyskytovala na oddělení ARO (5x), na odděleních TRN a CHIR vždy shodně 3x, 2x na interním oddělení a 1x na oddělení ortopedie. Vzhledem k malému počtu případů nelze vyvozovat nějaké obecně platné závěry, celkem se potvrzuje, že nejčastější infekcí MRSA je infekce v ráně.

Vlastní práci jsem vykonávala v období říjen až prosinec 2013 – zaměřila jsem se na materiály z horních cest dýchacích (výtěry z nosu, krku, laryngu, nosohltanu apod.).

Celkem bylo vyšetřeno 4540 vzorků od 1200 pacientů, většinou se jednalo o materiály z terénu. *S. aureus* byl zachycen u 214 pacientů (tj. 17,8 %). Z tohoto počtu bylo 10 izolátů identifikováno jako methicilin-rezistentní *S. aureus* (MRSA), čili podíl MRSA na záchytech *S. aureus* byl 4,7%. Vztaheno k celkovému počtu vyšetřených pacientů se MRSA vyskytl v 0,8 % případů (viz Tab. 16). Ve všech případech šlo o kolonizaci nebo nosičství, bez vlivu na klinický stav vyšetřovaných.

V literatuře je uváděna přítomnost *S. aureus* v HCD (zvl. nosní nosičství) v rozmezí 20 – 40 %, čili hodnota cca 18 % se blíží k tomuto údaji a není s ním v rozporu. Výskyt MRSA byl v této hodnotě rovněž očekáván.

Vzhledem k celkově nízkému výskytu MRSA v NHB nemá laboratoř k dispozici PCR na průkaz genu *mecA*, což by byla v podstatě stoprocentní metoda potvrzení MRSA. Ale test s cefoxitinem (disková difúzní metoda), který je součástí určování všech stafylokoků, je hodnocen jako stejně přesný. Půda s oxacilinem (je dávana jako screening ke každému izolátu *S. aureus*) podle mého soudu není tak spolehlivá – hodně záleží na zkušenostech odečítajícího mikrobiologa. Chromogenní agar pro detekci MRSA považuji za vhodný pro primokultivaci přímo ze vzorků, protože je zároveň poměrně selektivní. Vyrostlé suspektní kolonie je však vždy nutno testovat dalším způsobem (test s cefoxitinem), protože hodnocení barvy kolonií je subjektivní a může dojít k chybě.

9 Závěr

1. V Nemocnici Havlíčkův Brod se MRSA vyskytuje přibližně v 8,9 % klinického materiálu. Nevyskytuje se tedy epidemicky ani endemicky, jedná se většinou o izolované nálezy.
2. Z celkových 104 zachycených kmenů MRSA bylo 14 případů klasifikováno jako nozokomiální nákaza, což je cca 13,5 % (viz Příloha 4).
3. V horních cestách dýchacích bylo nosičství *S. aureus* potvrzeno u 214 pacientů, tj. 17,8 % (viz Příloha 5).
4. Z tohoto počtu bylo 10 izolátů identifikováno jako MRSA. Podíl MRSA na záchytech *S. aureus* byl 4,7%. S ohledem na všechny vyšetřené pacienty je podíl MRSA 0,8 % (viz Příloha 6).
5. Hlášení a dodržování vnitřních předpisů (bariérová ošetrovatelská technika, izolace pacienta, hygienická očista rukou, školení personálu, spolupráce laboratoře s klinickými odděleními apod.) zatím zabránilo epidemickému šíření v lůžkovém zařízení.

10 Použitá literatura

ANDRYSÍK, T., I. MACHOVÁ, P. PETRÁŠ, M. VOTAVA, V. WOZNICOVÁ.
Průkaz hyaluronidázy u kmenů rodu *Staphylococcus*. *Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie*, Praha: Státní zdravotní ústav, 2004, roč. 13, č. 5, s. 210-212.

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

BERGEROVÁ, T., D. HEDLOVÁ, V. JINDRÁK, P. URBÁŠKOVÁ, V. CHMELÍK.
Doporučený postup pro kontrolu výskytu kmenů *Staphylococcus aureus* rezistentních k oxacilinu (MRSA) a s jinou nebezpečnou antibiotickou rezistencí ve zdravotnických zařízeních. *Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie*. Praha: Státní zdravotní ústav, 2006, roč. 15, příloha 1.

BROCK, Thomas D., John M. MARTINKO *Biology of microorganisms*. 7th ed. New Jersey: Prentice Hall, 1994, 909 s. ISBN 01-304-2169-3.

DERESINSKI, Stan. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Evolutionary, Epidemiologic, and Therapeutic Odyssey. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 2005, č. 40, s. 562-573 [cit. 2014-03-29]. Dostupné z:
<http://cid.oxfordjournals.org/content/40/4/562.full.pdf+html>

Dopad nadužívání antibiotik na stav bakteriální rezistence a potřeba vývoje antibiotik nových. *Farmakoterapeutické informace: Měsíčník pro lékaře a farmaceuty* [online]. 2011, č. 5 [cit. 2014-07-29]. Dostupné z: sukl.cz/file/65370_1_1

DOSTÁLOVÁ, Lucie. *Současný stav v molekulární epidemiologii meticilin-rezistentních stafylokoků* [online]. Brno, 2008 [cit. 2014-07-28]. Dostupné z: http://is.muni.cz/th/184601/prif_b/BAKALARSKA_PRACE.pdf. Bakalářská práce. Masarykova univerzita. Vedoucí práce doc. RNDr. Vladislava Růžičková, CSc.

GARRITY, George M., Julia A. BELL a Timothy G. LILBURN. *Taxonomic Outline of the Prokaryotes: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* [online]. 2th Ed., 5.0. New York: Springer, 2004 [cit. 2014-07-28]. DOI: 10.1007/bergeysoutline200405. Dostupné z: http://mibi.uni-muenster.de/imperia/md/content/biologie_immb/_v/download/fgmtaxonomiews10-11/bergey.pdf

HOZA J., JINDRÁK V., MAREŠOVÁ V., NYČ O., SECHSERT., SUCHOPÁR J., ŠVIHOVEC J., URBÁŠKOVÁ P. Konsenzus používání antibiotik I.: Penicilinová antibiotika. *Praktický Lékař* [online]. 2002, roč. 82, s. 247-306 [cit. 2014-07-15]. Dostupné z: <http://ww.infekce.cz/Standardy/ATBkonsens1DP.pdf>

IBELINGS, Maaïke M. S., Hajo A. BRUINING. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Acquisition and Risk of Death in Patients in the Intensive Care Unit. *European Journal of Surgery* [online]. 2003, roč. 164, č. 6, s. 411-418 [cit. 2014-07-29]. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1080/110241598750004210/pdf>

KAFKOVÁ, Marie, V. HENZLOVÁ. *Příloha č. 1 k SOP č. 57 Zásady bariérové ošetrovatelské péče: Péče o pacienty s MRSA*. Nemocnice Havlíčkův Brod, 2011.

LINHART, Petr. *Spektrum péče: Oddělení společných laboratoří*. 2014. Dostupné z: <http://www.onhb.cz/Data/files/Spektra%20p%C3%A9%C4%8De/spektra%20p%C3%A9%C4%8De%202014/Spektrum%20p%C3%A9%C4%8De%20OSL.pdf>

MAĎAR, Rastislav, Renata PODSTATOVÁ a Jarmila ŘEHOŘOVÁ. *Prevence nozokomiálních nákaz v klinické praxi*. Praha: Grada, 2006, 184 s. ISBN 80-247-1673-9.

MACHOVÁ, I., P. PETRÁŠ. První potvrzení přítomnosti genů kódujících Pantonův-Valentinův leukocidin u českých kmenů *Staphylococcus aureus*. *Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie*. Praha: Státní zdravotní ústav, 2004, roč. 13, č. 9, s. 387-388.

NEJEDLÁ, Michaela. *Zdravotní problematika rodu Staphylococcus* [online]. České Budějovice, 2013 [cit. 2014-03-29]. Dostupné z: http://theses.cz/id/6xcahb/Nejedl_BP.pdf. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Vedoucí práce MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.

NEMOCNICE HAVLÍČKŮV BROD. *SOP č. 57 - příloha č. 3: Informace pro pacienty a jejich rodinné příslušníky*. Havlíčkův Brod, 2011.

PANTŮČEK, R., I. SEDLÁČEK, P. ŠVEC, I. MACHOVÁ, J. ČERNOHLÁVKOVÁ, I. MAŠLAŇOVÁ, T. GELBÍČOVÁ, V. RŮŽIČKOVÁ, J. DOŠKAŘ. *Staphylococcus petrasii*, nový druh stafylokoka z České republiky. *Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie* [online]. 2013, roč. 22, č. 8, s. 266-269 [cit. 2014-07-21]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/22_2013/08_srpen/266_S.petrasi.pdf

PAVELKA, Vladimír, E. ČÁPOVÁ. *1. Jihočeská konference nemocniční epidemiologie a hygieny na téma prevence nozokomiálních nákaz: MRSA a Clostridium difficile aktuální původci nozokomiálních infekcí*. Strakonice: Nemocnice Strakonice, 2008, 38 s.

PAZDERKOVÁ, J., J. KREJČÍ a P. DLOUHÝ. Padesát let s MRSA: Pokus o zhodnocení postupů používaných k omezení výskytu infekcí vyvolaných kmeny *Staphylococcus aureus* rezistentními k meticilinu (MRSA). *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. 2012, roč. 18, č. 5, s. 132-141.

PETRÁŠ, P. Aktuality v taxonomii rodu *Staphylococcus*. *Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie*. Praha: Státní zdravotní ústav, 2004, roč. 13, č. 7, s. 297-300.

PETRÁŠ, P. Nový „český“ stafylokok, *Staphylococcus microti*. *Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie*. [online]. 2010, roč. 19 č. 1-2, s. 37-39 [cit. 2014-03-29]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/19_2010/01_leden/37_microti.pdf?highlightWords=nov%C3%BD+%C4%8Desk%C3%BD+stafylokok

PETRÁŠ, Petr. *Zjištění produkce hyaluronidázy. Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie*. [online]. 2011 [cit. 2014-07-28]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/stafylokoky/postupy/Methodika_HYL.pdf?highlightWords=andrys%C3%ADk+2004+hyaluronid%C3%A1za

PETRÁŠ, P., F. PRUSÍK, O. NYLČ, I. MACHOVÁ. Nemocniční kmeny MRSA s negativním clumping-faktorem. *Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie*. Praha: Státní zdravotní ústav, 2005, roč. 14, č. 3, s. 122-124.

ŠENKÝŘOVÁ, Vladislava. Meticilin rezistentní *Staphylococcus aureus*. *Urologie pro praxi* [online]. 2006, č. 6, s. 250-252 [cit. 2014-03-29]. Dostupné z: <http://urologiepropraxi.cz/pdfs/uro/2006/05/10.pdf>

URBÁŠKOVÁ, P., B. MACKOVÁ, O. MELTER. Disk s cefoxitinem – spolehlivá metoda pro vyhledávání kmenů stafylokoků rezistentních k oxacilinu. *Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie*. Praha: Státní zdravotní ústav, 2004, roč. 13, č. 7, s. 296-297.

URBÁŠKOVÁ P., O. MELTER, B. MACKOVÁ, V. JAKUBŮ, M. WÜNSCHOVÁ. Odlišení MRSA v souboru 572 kmenů *S. aureus* pomocí disku s cefoxitinem. *Epidemiologie mikrobiologie imunologie*. Praha: Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, 2004, roč. 53, č. 2, s. 62-65.

URL: *Nemocnice Havlíčkův Brod* [online]. 2012 [cit. 2014-07-02]. Dostupné z: <http://www.onhb.cz/>

URL: Anonym 1: *Mikroflóra lidského organismu*. [online]. [cit. 2014-07-28]. Dostupné z: http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/mikrobiologie_lidskeho_organismu.pdf

VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. přepr. vyd. Brno: Neptun, 2005, 351 s. ISBN 80-868-5000-5.

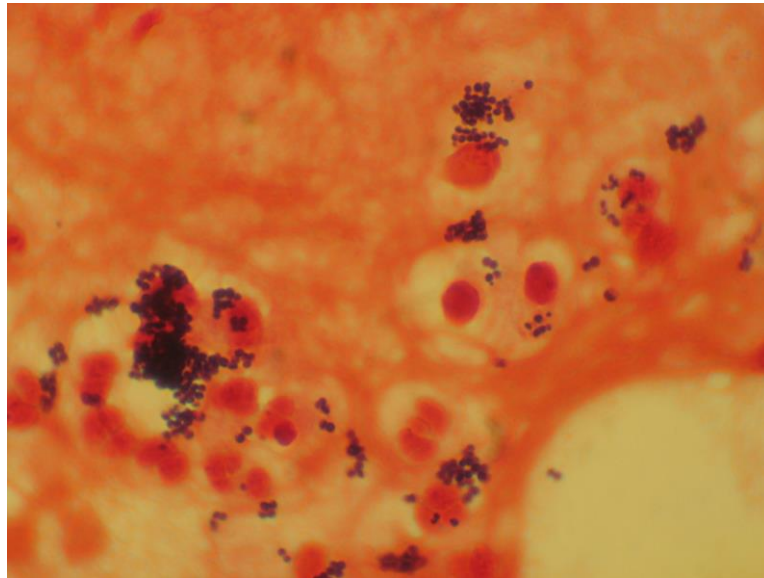
VOTAVA, Miroslav et al. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003, 495 s. ISBN 80-902-8966-5.

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

WARREN, David K., Robert S. LIAO, Liana R. MERZ, Michael EVELAND a W. Michael DUNE, JR. Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Directly from Nasal Swab Specimens by a Real-Time PCR Assay. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. 2004, roč. 42, č. 12, s. 5578-81 [cit. 2014-06-22]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15583284>

11 Příloha

1. Stafylokoky v klinickém materiálu *(vlastní zdroj)*





PROLEX™ STAPH XTRA LATEX KIT
For Identification of *Staphylococcus aureus*
(for *in vitro* diagnostic use)

PRODUCT CODE PL-1080 100
PL-1081 300



INTENDED USE

The Prolex™ Staph Xtra Latex Kit provides a rapid platform to distinguish *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) from other species of staphylococci.

SUMMARY AND EXPLANATION

Although most *Staphylococcus* species are common inhabitants of the skin and mucous membranes, certain species have been found frequently as etiological agents of a variety of human and animal infections. Superficial suppurative infections caused by *S. aureus* are the most common human staphylococcal infections¹. Food poisoning, septicemia, toxic shock syndrome and many other conditions have also been attributed to infection with *S. aureus*².

Rapid slide agglutination tests have been shown to be a reliable method for the identification of *S. aureus* in the routine bacteriological laboratory³. These types of tests perform well but may yield false negative results with certain MRSA, a phenomenon believed to be due to expression of capsular type 5 and 8 antigens^{4,5}. The performance of the latex reagents containing fibrinogen and IgG is improved by addition of IgG that is specific for capsular types 5 and 8 of *S. aureus*.

PRINCIPLE OF THE TEST

The Prolex™ Staph Xtra Latex Kit utilizes blue polystyrene latex particles which have been sensitized with fibrinogen and IgG that is specific for capsular types 5 and 8 of *S. aureus*. When Staphylococcal colonies which possess at least one of clumping factor, protein A and / or capsular 5 or 8 antigens are mixed with the latex reagent, the latex particles will agglutinate strongly within 20 seconds.

MATERIALS PROVIDED

- Two dropper bottles each containing 2.5 ml (PL 1080) or 7.5 ml (PL 1081) of latex particles coated with rabbit IgG recognizing *S. aureus* expressing capsular antigen 5 and 8 and human fibrinogen. The latex particles are suspended in a buffer containing 0.098% sodium azide as a preservative.

Negative Control Latex Reagent (PL 1085 / PL 1086)

- One dropper bottle containing 5.0 ml (PL 1080) or two dropper bottles containing 7.5 ml each (PL 1081) of unsensitized latex particles suspended in a buffer containing 0.098% sodium azide as a preservative.
- Test cards
- Mixing sticks
- Instructions for use

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Inoculating loop or needle
- Timer

STABILITY AND STORAGE

All kit components should be stored at 2-8°C. Reagents stored under these conditions will be stable until the expiration date shown on the product labels. **Do not freeze.**

PRECAUTIONS

1. Do not use the reagents after the expiration date shown on the product label.
2. The reagents contain a very small amount of sodium azide. Sodium azide can react explosively with copper or lead plumbing if allowed to accumulate. Although the amount of sodium azide in the reagents is minimal, large quantities of water should be used if the reagents are flushed down

a sink.

3. Universal precautions should be taken in handling, processing and discarding all of the materials used to perform the test.
4. The kit is intended for *in vitro* diagnostic use only.
5. The procedures, storage conditions, precautions and limitations specified in these directions must be adhered to in order to obtain valid test results.
6. These reagents contain materials of human or animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

PREPARATION OF CULTURES

A fresh isolate (18-24 hours incubation) grown on blood agar or a commercially available chromogenic agar should be used for testing.

TEST PROTOCOL

1. All components should be brought to room temperature prior to use.
1. Re-suspend the test latexes by gently inverting the dropper bottle several times. Examine the dropper bottles to ensure that the latex particles are properly suspended before use. Do not use if the latex falls to re-suspend.
2. Dispense 1 drop of the Prolex™ Staph Xtra Latex Reagent into a circle on the test card.
3. Using a sterile loop or needle transfer two suspect colonies into the circle. Mix this into the test latex reagent and spread to cover the complete area of the circle.
4. Gently rock the card allowing the mixture to flow slowly over the entire test ring area.
5. Observe for agglutination for up to 20 seconds.
6. Negative Control Latex Reagent is included in the kit to be used in accordance with the customer's requirements. If a positive result is obtained, it is recommended that steps 1 to 5 be repeated using the Negative Control Latex Reagent.

QUALITY CONTROL PROCEDURES

The following procedures are recommended to check the performance of the reagents:

1. Test a known positive strain, such as *S. aureus* ATCC # 25923 or equivalent according to the test protocol. The organism must agglutinate with the Prolex™ Staph Xtra Latex Reagent within 20 seconds. There must be no agglutination with the Prolex™ Negative Control Latex Reagent.
2. Test a known negative strain, such as *S. epidermidis* ATCC # 12228 or equivalent according to the test protocol. There must be no agglutination of the Prolex™ Staph Xtra Latex Reagent and Prolex™ Negative Control Latex Reagent within 20 seconds.
3. Do not use the kit if the reactions with the control organisms are incorrect.

INTERPRETATION OF RESULTS

Positive result: Strong agglutination within 20 seconds with the Prolex™ Latex test Reagent. If you have performed a negative control there should be no agglutination with the Prolex™ Negative Control Latex. Reactions occurring after 20 seconds should be ignored.

Negative result: No visible agglutination of the Prolex™ Latex Test Reagent particles. If traces of granulation are seen this should also be regarded as negative.

Inconclusive result: If weak clumping or a non-specific reaction (stringiness) is present in the test circle after 20 seconds, the test should be repeated using a fresh subculture. If the same result is seen after retesting, biochemical testing should be used to identify the isolate. **Uninterpretable result:** If the test isolate agglutinates with both the Prolex™ Staph Latex and the Prolex™ Negative Control Latex, the test is uninterpretable.

LIMITATION OF THE PROCEDURE

1. Ensure that all isolates tested are staphylococci as non-specific false positive results may occur with other bacteria which include certain strains of streptococci, *Escherichia coli* and other species of *Enterobacteriaceae*⁷.
2. False negative reactions may occur if an insufficient amount of the test isolate is used.
3. Positive or non-specific reactions may occur with other less frequently isolated Staphylococcal species that possess clumping factor and/or coagulase. These organisms will include some isolates of *S. lugdunensis*, *S. schleiferi*, *S. hyicus*, *S. delphini* and *S. intermedium*⁶. If necessary these organisms can be identified by biochemical tests.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. The Prolex™ Staph Xtra Latex Kit (PL 1080) was evaluated using 50 *S. aureus* reference strains, including 5 each of capsular types 5 and 8 that are not recognized by Staph latex reagents that identify organisms expressing only clumping factor and / or Protein A, and 9 coagulase negative *Staphylococcus* reference strains. The Prolex™ Staph Xtra Latex Kit correctly identified all strains in the study indicating the kit had a sensitivity of 100% and specificity of 100%.
2. In a separate study, the Prolex™ Staph Xtra Latex Kit was evaluated using 50 MRSA and 50 methicillin-sensitive *S. aureus*. The Prolex™ Staph Xtra Latex Kit correctly identified all strains in the study indicating that it had a sensitivity of 100% and specificity of 100%.
3. The Prolex™ Staph Xtra Latex Kit and a number of commercially available kits were evaluated to determine if testing isolates picked directly from four of the most commonly used Selective Chromogenic Culture Media would affect their performance. The results show that with the 70 strains of MRSA in the study the Prolex™ Staph Xtra Latex Kit was able to correctly identify 100% of the isolates from three of the four media. All kits were unable to agglutinate two isolates on the fourth medium. The authors noted that in general the Prolex™ Staph Xtra Latex Kit gave quicker and stronger reactions with the test isolates.
4. A study performed at a major teaching hospital in Canada compared the Prolex™ Staph Xtra Latex Kit with two other commercially available kits. A total of 392 clinical isolates composed of 136 Methicillin-Susceptible *S. aureus*, 114 Methicillin-Resistant *S. aureus* and 142 coagulase-negative staphylococci. The results of the study showed that the Prolex™ Staph Xtra Latex Kit demonstrated 100% sensitivity in detecting all of the *S. aureus* and isolates as did the two other kits. Full data is on file at Pro-Lab Diagnostics and is available on request.

REFERENCES

1. Schleifer, K.H., and Kloos, W.E. (1975). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 25: 50-61.
2. Schliever, P.H., Shands, K.N., Dan, B.B., Schmid, G.P. and Nishimura, R.D. (1981). *J. Infect. Dis.* 143: 509-516.
3. Essers, L. and Radebold, K. (1980). *J. Clin. Microbiol.* 12: 641-643.
4. Fournier J.M., Boutonnier A., and Bouvet A. (1989). *J. Clin. Microbiol.* 27: 1372-1374.
5. Fournier, J.M., Bouvet, A. et al. (1987). *J. Clin. Microbiol.* 25: 1932-1933.
6. Phillips, W. and Kloos, W. (1981). *J. Clin. Microbiol.* 14: 671-673.
7. Myhre, E.B. and Kusela, P. (1983). *Inf. Imm.* 40: 29-34.

Revision: 2012.02



Canada 800 268 2341 Fax 905 731 0206
20 Mural Street, Unit #4, Richmond Hill, ON, L4B 1K3

U.S.A. 800 522 7140 Fax 800 332 0450
21 Cypress Blvd., Suite 1070, Round Rock, Texas, 78665-1034

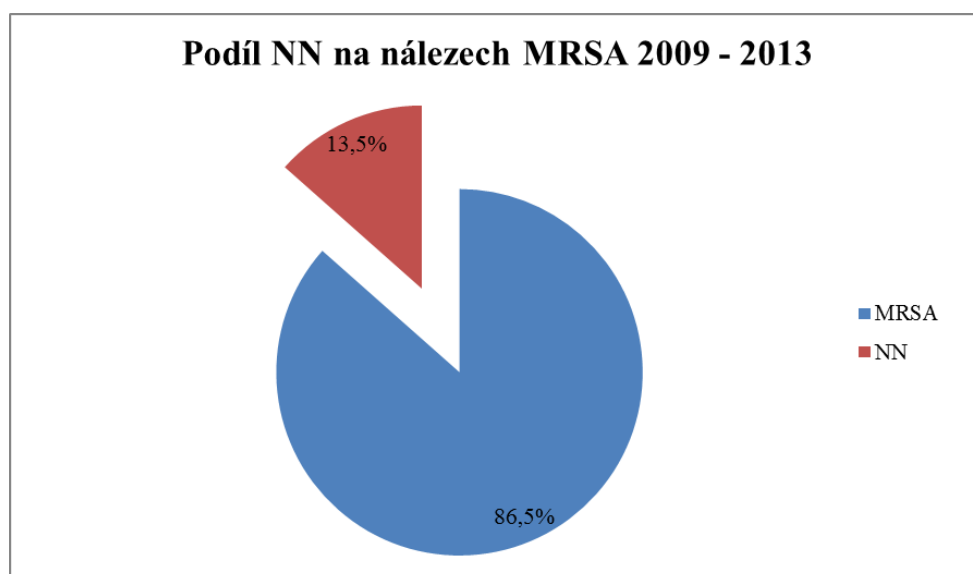


U.K. 0151 353 1613 Fax 0151 353 1614
3 Bassendale Road, Bromborough, Wirral, Merseyside, CH62 3QL

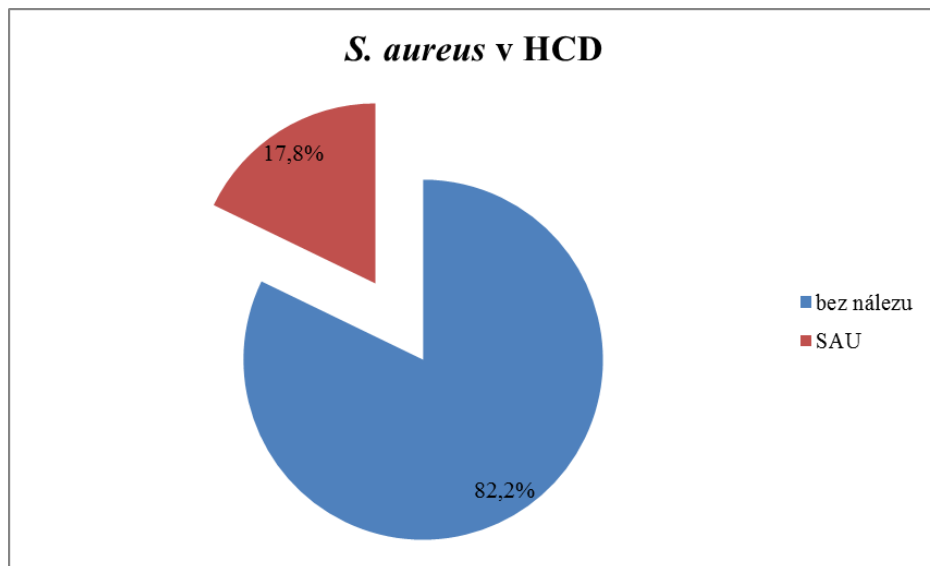
3. Kultura stafylokoka na chromogenním agaru *(vlastní zdroj)*



4. Graf 2 Podíl nozokomiálních nákaz na nálezech MRSA v letech



5. Graf 3 Výskyt *S. aureus* v horních cestách dýchacích



6. Graf 4 Podíl osídlení horních cest dýchacích

