

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
LÉKAŘSKÁ FAKULTA
Ústav mikrobiologie



**PROBLEMATIKA VYBRANÝCH BAKTERIÁLNÍCH INFEKČÍ
A ANTIBIOTICKÉ LÉČBY**

Doktorská disertační práce

Olomouc 2021

Mgr. Pavla Kučová

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala svému školiteli Prof. MUDr. Milanu Kolářovi Ph.D. za pomoc v průběhu celého doktorského studia, za cenné rady, náměty a odborné vedení.

Poděkování také patří MDDr. Lucii Svobodové Ph.D., MUDr. Miroslavě Htoutou Sedlákové Ph.D. a MUDr. Kateřině Fišerové za cenné rady a připomínky k disertační práci a stejně tak mým kolegům Mgr. Kristýně Hricové, Mgr. Magdaleně Röderové Ph.D., Mgr. Vendule Husičkové Ph.D. a dalším, kteří se jakýmkoli způsobem podíleli na realizaci méj disertační práce.

Velké poděkování také patří méj rodině a přátelům za jejich neustálou morální podporu, zázemí a toleranci.

Čestné prohlášení

Čestně prohlašuji, že disertační práci s názvem „Problematika vybraných bakteriálních infekcí a antibiotické léčby“ jsem vypracovala samostatně. Použitou literaturu a všechny podkladové materiály uvádím v přiloženém seznamu literatury.

V Olomouci dne.....

.....

Podpis

OBSAH

1	Úvod	6
1.1.	Problematika bakteriálních infekcí a rezistence k antibiotikům.....	6
1.1.1.	Enterokokové infekce.....	10
1.1.2.	Bakteriální infekce u novorozenců.....	12
1.1.3.	Bakteriální komplikace u pacientů s karcinomem jícnu.....	13
1.1.4.	Problematika bakteriální rezistence ve vztahu ke Covid-19.....	14
2	Cíle disertační práce	16
3	Materiál a metody	17
3.1.	Charakterizace enterokokových infekcí.....	17
3.2.	Bakteriální infekce u novorozenců.....	19
3.3.	Bakteriální komplikace u pacientů s karcinomem jícnu.....	20
3.4.	Bakteriální rezistence ve vztahu ke Covid-19.....	21
4	Výsledky	24
4.1.	Charakterizace enterokokových infekcí.....	24
4.2.	Bakteriální infekce u novorozenců.....	34
4.3.	Bakteriální komplikace u pacientů s karcinomem jícnu.....	43
4.4.	Bakteriální rezistence ve vztahu ke Covid-19.....	45
5	Diskuze	52
5.1.	Charakterizace enterokokových infekcí.....	53
5.2.	Bakteriální infekce u novorozenců.....	56
5.3.	Bakteriální komplikace u pacientů s karcinomem jícnu.....	59
5.4.	Bakteriální rezistence ve vztahu ke Covid-19.....	61
6	Souhrn	65
7	Summary	67
8	Seznam použité literatury	69
9	Seznam publikací souvisejících s tématem disertační práce	77
9.1.	Publikace v časopisech s impakt faktorem.....	77
9.2.	Publikace v recenzovaných časopisech bez impakt faktoru.....	77
9.3.	Přednášky s abstraktem (pouze 1. autor).....	78
10	Seznam grantových projektů řešených v souvislosti s disertační prací	79
11	Seznam tabulek, obrázků a grafů	80

11.1. Seznam tabulek	80
11.2. Seznam obrázků	80
11.3. Seznam grafů.....	81
12 Seznam zkratk.....	82

1 Úvod

Současná medicína je charakteristická exponenciálním nárůstem poznatků ve všech lékařských oborech, který ve svém důsledku přináší významné zkvalitnění diagnostické i léčebné činnosti. Je však nutné poukázat na jednu oblast, která přes veškeré dosažené úspěchy neustále představuje závažný terapeutický problém. Tou oblastí jsou bakteriální infekce, jejichž význam se v posledních letech neustále zvyšuje (1). Hlavní důvody této skutečnosti lze definovat následujícími body:

- bakteriální infekce jsou velmi často endogenního charakteru, resp. původce pochází z mikroflóry primárně nebo sekundárně osídlených systémů lidského těla,
- zvyšuje se rezistence bakterií k účinku antibakteriálních léčiv a s tím související riziko selhání antibiotické léčby,
- stoupá počet imunokompromitovaných pacientů a osob s umělými materiály,
- stále více se používají invazivní diagnostické i léčebné postupy ovlivňující lidský mikrobiom.

1.1. Problematika bakteriálních infekcí a rezistence k antibiotikům

V současné medicíně představují bakteriální infekce závažný problém, jehož význam se bude především u hospitalizovaných pacientů s největší pravděpodobností zvyšovat. Hlavním důvodem je skutečnost, že velká část těchto infekcí má endogenní charakter a etiologické agens tak pochází z vlastního mikrobiomu. Ten je sice pro lidský život nezbytný, ale na druhou stranu může být zdrojem potenciálních bakteriálních patogenů, které se uplatňují v rozvoji řady infekcí. V lidském mikrobiomu je mnoho mikroorganismů, které lze označit jako fakultativně patogenní. To znamená, že bakterie, které jsou součástí přirozeného lidského mikrobiomu, mohou za určitých okolností, především průnikem do sterilní tkáně nebo orgánu či při významném zvýšení jejich kvantity, vyvolat onemocnění. Příkladem je studie Pudové a kol., která provedla genetickou analýzu bakteriálních kmenů a prokázala identitu enterokoků izolovaných ze žaludečního sekretu, sekretu z dolních cest dýchacích a bronchoskopického odběru z postižené plicní tkáně u pacientů s nozokomiální pneumonií. Ke vzniku nozokomiální pneumonie došlo regurgitací žaludečního obsahu do horních cest dýchacích a následnou mikroaspirací do plic (2). Rovněž recentní studie Papajka a kol. dokladuje roli mikrobiomu jako

zdroje patogenních bakterií. Tato práce sleduje pacienty s nozokomiálními pneumoniemi (HAP) a potvrzuje, že etiologické bakteriální agens bylo nejprve součástí mikroflóry horních cest dýchacích a následnou mikroaspirací a průnikem bakterie do plic došlo k rozvoji závažné infekce dolních cest dýchacích. Důkazem byla genetická analýza bakteriálního mikrobiomu horních cest dýchacích a bakteriálních původců HAP. Bylo tedy dokázáno vertikální šíření bakteriálních patogenů (3). Se stoupajícím počtem pacientů s umělou plicní ventilací se rovněž zvyšuje riziko vzniku závažné ventilátorové pneumonie s etiologickou rolí multirezistentních bakteriálních patogenů (MDR), které pochází z vlastní bakteriální mikroflóry horních cest dýchacích (3).

Lidský mikrobiom je možné z mikrobiologického pohledu definovat jako primární a sekundární. Primární bakteriální mikroflóru lze charakterizovat výskytem bakterií s nižší úrovní rezistence k antibiotikům, především u osob v komunitním prostředí. Sekundární mikroflóra je naopak asociována s pobytem ve zdravotnickém zařízení a vyšší frekvencí MDR bakterií. S uvedenou definicí úzce souvisí klasifikace infekcí na komunitní, kdy onemocnění vzniká mimo zdravotnické zařízení a pacient nebyl hospitalizován a infekce spojené s pobytem, nebo s výkonem ve zdravotnickém zařízení (tzv. nozokomiální infekce) (4). Toto dělení napovídá, že u těžce probíhajících komunitních infekcí vyžadujících hospitalizaci ve zdravotnickém zařízení a časných nozokomiálních infekcí se uplatňují jako bakteriální původci kmeny z primárního mikrobiomu a tedy kmeny citlivější k účinku antibiotik. Naopak u pozdních nozokomiálních infekcí se na etiologii podílejí bakterie ze sekundární mikroflóry ovlivněné specifickým nemocničním prostředím. Tyto už ale vykazují značnou odolnost k antibakteriálním přípravkům. Tuto skutečnost potvrzuje práce Papajka a kol., která dokumentuje, že v případě pozdních nozokomiálních pneumonií je výrazně vyšší výskyt MDR bakteriálních patogenů v porovnání s časnými formami této závažné infekce (5).

Součástí terapie bakteriálních infekcí je aplikace antibiotik, která cíleně zasahují etiologická agens. Antibakteriální přípravky se v současné medicíně používají již 80 let, největší rozvoj ve vývoji nových antibiotik nastal v 60. a 70. letech dvacátého století, kdy byla uvedena většina nových skupin antimikrobiálních přípravků. Přesto antibiotická terapie představuje stále velký problém, neboť bakterie si v průběhu let dokázaly vyvinout účinné mechanismy rezistence, k jejímuž rozvoji přispělo nadužívání antibiotik nebo jejich nesprávné dávkování. Lze konstatovat, že nárůst rezistence bakteriálních kmenů ke většině známých antimikrobiálních přípravků a ztráta účinku antibiotik je celosvětovým trendem, který se stává

reálnou hrozbou pro zdravotní stav populace, neboť souvisí s omezenou schopností léčit bakteriální infekce.

Jako bakteriální antimikrobiální rezistenci (AMR) lze označit schopnost bakteriální populace přežít účinek definované koncentrace příslušného antibiotika, přičemž je nutné rozlišit primární a sekundární typ rezistence. Primární typ je definován jako rezistence, která je charakteristická pro celou populaci daného bakteriálního druhu. Je dána přirozenou nepřítomností případně nižší citlivostí cílové struktury pro dané antibiotikum, nedostatečným průnikem léku do bakteriální buňky, přítomností tzv. efluxních pump, nebo jiným chromozomálním mechanismem rezistence (6). Naopak sekundární (získaná) rezistence vzniká v průběhu antimikrobiální terapie, případně následkem předchozího podávání antibiotika, kdy se z původně citlivé bakterie stává odolná. Získaná rezistence tak představuje z terapeutického hlediska zásadní problém, neboť se může velmi snadno šířit v rámci citlivé bakteriální populace. Podstatou získané rezistence je změna genomu bakterie, která je způsobena buď mutací stávajících genů, nebo získem nové genetické výbavy prostřednictvím mobilních genetických elementů (7).

Chromozomální mutace jsou nejdůležitější příčinou bakteriální rezistence, kdy tyto změny bakteriálního genomu vedou k selekci rezistentních buněk (tzv. chromozomální rezistence), na níž se může negativně projevit selekční tlak antibiotika (1).

Druhým základním způsobem, jakým bakterie získávají odolnost, je proces převzetí genetického materiálu od rezistentních bakteriálních buněk pomocí mobilních genetických elementů. Těmi nejdůležitějšími jsou plasmidy, transpozony nebo integrony, které umožňují přenos genů nejen mezi různými DNA systémy v rámci jedné buňky, ale také z jedné bakterie do druhé (7). Novou genetickou výbavu tak mohou bakterie získat třemi mechanismy: konjugací, transformací a transdukcí (extrachromozomální rezistence) (1). Typickými příjemci genů rezistence jsou bakterie rodu *Klebsiella*, v menší míře i další enterobakterie (*Escherichia coli*, salmonely aj.), dále *Neisseria gonorrhoeae* a nefermentující tyčky rodů *Pseudomonas* a *Acinetobacter* (8).

Přestože je počet a rozmanitost genů, jež se podílí na odolnosti bakterií vůči antimikrobiálním látkám, velmi vysoký, z biochemického hlediska lze jejich působení rozdělit na čtyři základní mechanismy (7, 1):

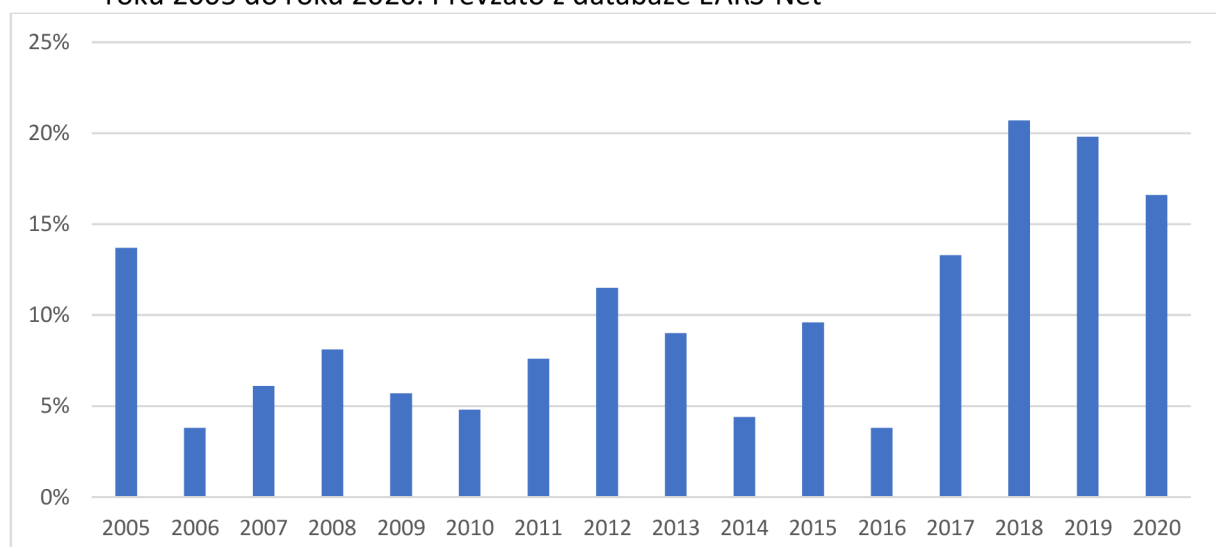
- produkce bakteriálních enzymů, které rozrušují nebo modifikují strukturu antibiotik,

- změna permeability buněčné stěny a cytoplasmatické membrány,
- modifikace cílového místa antibiotika,
- zvýšené vylučování antibiotika z bakteriálních buněk (bakteriální eflux).

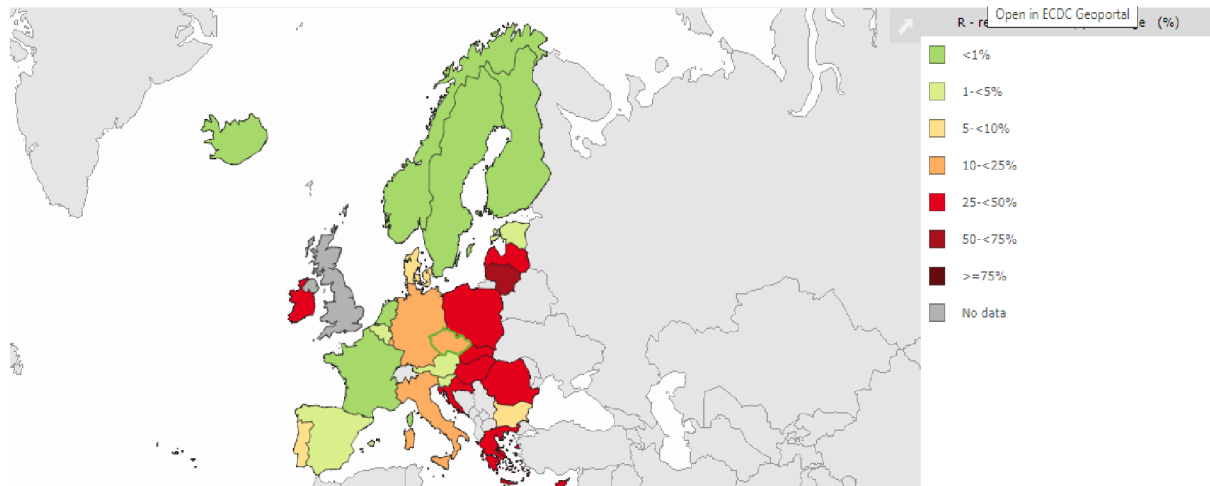
Nejčastěji se šíří ty mechanismy rezistence, k jejichž existenci stačí přenést jediný gen. Typickým příkladem je tvorba enzymů inaktivující antibiotika (např. beta-laktamázy) nebo syntéza molekul, které dokážou ochránit cílové místo (např. Qnr proteiny chránící bakteriální topozomerázy před účinkem fluorochinolonů). Naopak geny rezistence spočívající ve změnách celé metabolické dráhy se budou přenášet obtížněji (8). Z výše uvedeného vyplývá, že šíření rezistence bakterií k účinku antibiotik je vyvoláno celou řadou příčin, které se navzájem kombinují (1).

Vývoj bakteriální rezistence dlouhodobě sleduje evropská databáze EARS-Net (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network) (9). Tato databáze zdůrazňuje na příkladu invazivních bakteriálních patogenů izolovaných z krve nebezpečnost fenoménu bakteriální rezistence. Typickým příkladem jsou kmeny *Enterococcus faecium* rezistentní k vankomycinu (VRE). V Evropě se četnost vankomycin-rezistentních enterokoků plynule zvyšuje, v roce 2018 přesáhla jeho hodnota v České republice hodnotu 20 %, nyní mírně klesla na 16 % (Graf 1). Přesto jsou státy, kde je výskyt VRE stále velmi nízký pod 1 % (např. Švédsko, Norsko, Francie) a naopak státy, kde prevalence VRE přesáhla v posledním sledovaném roce 2020 hranici 40 % (Litva, Kypr, Řecko) (Obr. 1).

Graf 1. Rezistence izolátů *Enterococcus faecium* z krve k vankomycinu v České republice od roku 2005 do roku 2020. Převzato z databáze EARS-Net



Obrázek 1: Rezistence izolátů VRE v Evropě v roce 2020 (v procentech, dle EARS-Net)



Odolnost bakterií k účinku antibiotické terapie tak stále patří mezi palčivé problémy moderní medicíny. Základním předpokladem řešení této problematiky je mezioborová spolupráce a realizace surveillance bakteriální rezistence, kdy základem je selekce multirezistentních bakterií, stanovení cest a mechanismů jejich šíření.

1.1.1. Enterokokové infekce

V současné medicíně patří enterokoky mezi důležité bakteriální patogeny. Jsou to podmíněně patogenní, fakultativně anaerobní grampozitivní koky, které se běžně vyskytují v gastrointestinálním traktu lidí. Uplatňují se jako etiologická agens komunitních infekcí, zvláště pak infekcí močového traktu, infekcí břicha a pánve, vzácně subakutních endokarditid. Zároveň mají enterokoky významnou roli jako původci nozokomiálních infekcí močového a respiračního traktu, chirurgických ran a infekcí krevního řečiště, zejména u pacientů dlouhodobě hospitalizovaných a po předchozí terapii širokospektrými antibiotiky (10). Enterokoky neprodukují superantigeny ani cytolytické enzymy a vyznačují se nižší virulencí (11). Významná je jejich schopnost přežít v extrémních podmínkách prostředí, například růst v prostředí s 6,5 % NaCl, 40 % žluči nebo v širokém rozmezí pH (4,5-9,6). Jsou přirozeně rezistentní k mnoha antibakteriálním a dezinfekčním přípravkům (12). Většinu klinicky relevantních kmenů (80-90 %) tvoří zástupci druhu *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* (13, 14). Další druhy, jako například *Enterococcus avium*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus canintestini*, *Enterococcus cecorum*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus hirae*,

Enterococcus gallinarum, *Enterococcus mundtii*, *Enterococcus pseudoavium* a *Enterococcus raffinosus*, jsou jako původci infekcí člověka izolovány vzácně (15, 16, 17).

Při léčbě infekcí s etiologickou rolí enterokoků je nutno zohlednit jejich primární i sekundární rezistenci k mnoha antibakteriálním přípravkům (10). U infekcí způsobených kmeny *Enterococcus faecalis* jsou k terapii vhodné aminopeniciliny, které lze považovat za lék volby, naopak při izolaci *Enterococcus faecium*, který je k těmto antibiotikům rezistentní, je často nutné použít v terapii glykopeptidy. Druhy *Enterococcus casseliflavus* a *Enterococcus gallinarum* se vyznačují přirozenou rezistencí k vankomycinu (10). Z uvedeného vyplývá důležitost včasné a správné identifikace jednotlivých druhů enterokoků, neboť rezistence k antibiotikům se u každého species velmi liší a už samotná informace, jaký druh způsobil infekci, může usnadnit rozhodování o iniciální antibiotické léčbě (18).

Problémem znesnadňujícím úspěch antibioterapie a zároveň reálnou ohrožením pro pacienty jsou vankomycin-rezistentní enterokoky. V současné době je známo 9 fenotypů rezistence enterokoků k vankomycinu, přičemž v České republice dominuje fenotyp VanA, který je charakterizován vysokou inducibilní rezistencí k vankomycinu a teikoplaninu. Tento typ rezistence je podmíněn změnou terminální struktury D-alanyl-D-alanyl v peptidoglykanu na D-alanyl-D-laktát nebo D-alanyl-D-serin a je kódovaný genem *vanA*, který je velmi často lokalizován na transpozonu TN1546 (19, 20, 21, 22). Dalším klinicky významným fenotypem je VanB kódovaný chromozomálním genem *vanB*. Enterokoky tohoto fenotypu jsou rezistentní k vankomycinu, ale mají zachovanou citlivost k teikoplaninu (21, 23).

Podobně jako jiné oportunní patogeny a MDR bakterie se VRE běžně vyskytují gastrointestinálním traktu (GIT) pacientů bez jakýchkoli příznaků, jakou součástí bakteriální mikroflóry. Zvýšené riziko kolonizace VRE se objevuje při imunosupresi, hematologických malignitách, transplantaci orgánů a při dlouhodobých pobytech na jednotkách intenzivní péče (24, 25, 26). Dalším faktorem podporujícím přítomnost VRE v GIT je selekční tlak antibiotik. Kolář a kol. dokumentují pozitivní selekční tlak cefalosporinů III. generace na výskyt VRE (27). Paterson a kol. prokázali, že u pacientů primárně negativních na přítomnost VRE byla po aplikaci piperacilin-tazobaktamu nebo cefepimu prokázána kolonizace VRE ve 26 %, resp. 31 % (28). Aktuální výskyt VRE v podmínkách České republiky je možné dokumentovat na údajích z EARS-Net (ECDC) (9). V případě *Enterococcus faecium* se procento vankomycin-rezistentních

kmenů izolátů v posledním desetiletí pohybuje v rozmezí 4-16 % (ECDC), viz Graf 1. Tato velmi významná evropská databáze se však týká pouze izolátů z krve a neposkytuje tedy přesnější informace o komplexní prevalenci VRE v komunitní i nemocniční lidské populaci, včetně nosičství v GIT. Tyto informace lze dohledat v rámci České republiky v pracích Koláře a kol., které byly publikovány do roku 2006. Ve studii charakterizující výskyt VRE u hemat-onkologických pacientů Fakultní nemocnice v Olomouci (FNOL) tvořily tyto kmeny 5 % všech izolovaných enterokoků. Nejčastěji se jednalo o kmeny *Enterococcus faecium* s fenotypem VanA (78 %) a *Enterococcus faecalis* s fenotypem VanB (10 %). VRE byly s nejvyšší frekvencí izolovány z rektálního výtěru (55 %), což dokumentuje význam jejich nosičství v GIT (27, 29).

1.1.2. Bakteriální infekce u novorozenců

Novorozenecké infekce lze definovat jako infekční onemocnění novorozenců vzniklá v průběhu 4 týdnů po porodu. Lze je rozdělit na časně (vznikající v prvních 7 dnech života) a pozdní (rozvíjející se od 8. dne). V současné době se však v neonatologii objevuje další kritérium pro klasifikaci časných a pozdní infekcí, a to 72 hodin (30-33).

Časně novorozenecké infekce jsou způsobeny mikroorganismy získanými intrauterinně nebo v průběhu průchodu dítěte porodními cestami a 85 % vzniká do 24 hodin po porodu (31, 32). Jako etiologická agens se nejčastěji uplatňují *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* (GBS) a *Listeria monocytogenes*. Méně často je prokazována etiologická role chlamydií a mykoplasem. V iniciační antibiotické léčbě se doporučuje kombinace ampicilinu, event. amoxicilinu s kys. klavulanovou a gentamicinu (32). V odborné literatuře jsou však k dispozici informace o stoupající rezistenci *Escherichia coli* k antibiotikům, včetně kombinovaných aminopenicilinů, a možném selhání antibiotické léčby (34, 35, 36). Rizikové faktory vzniku těchto infekcí představují pozitivní vaginální kolonizace GBS, předčasný odtok plodové vody, nedonošenost novorozence, opakované potraty, nedostatečná výživa matky a vrozené abnormality (31, 32).

Pozdní novorozenecké infekce jsou vyvolány bakteriemi souvisejícími s nemocničním prostředím a v tomto případě se uplatňují nozokomiální a často MDR bakterie. Důležitým zdrojem jsou aplikované umělé materiály, především kanyly či katetry (37). K nejčastějším bakteriálním patogenům patří *Staphylococcus aureus*, koaguláza-negativní stafylokoky,

Klebsiella pneumoniae, *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, anaerobní bakterie a kvasinky. K rizikovým faktorům patří nedonošenost novorozence, aplikace centrálního venózního katétru (nad 10 dní), CPAP (Continuous Positive Airway Pressure) a vrozené abnormality (31, 32). Antibiotická léčba v řadě případů vyžaduje aplikaci antibiotik s účinkem na MDR bakterie, například karbapenemy, glykopeptidy a aminoglykosidy v příslušných kombinacích.

Velmi důležitou součástí celkového terapeutického přístupu k novorozeneckým infekcím jsou mikrobiologická vyšetření adekvátních klinických materiálů, především hemokultur. Získané výsledky umožní cílenou antibiotickou léčbu na základě identifikace bakteriálních patogenů a stanovení jejich citlivosti/rezistence k antibiotikům. Klinický význam mohou mít za definovaných podmínek i stěry z dýchacích cest, moč, stolice a další vzorky, které však vyžadují velmi pečlivou interpretaci.

1.1.3. Bakteriální komplikace u pacientů s karcinomem jícnu

Karcinom jícnu se celosvětově řadí mezi nejsmrtelnějších nádorová onemocnění, zejména díky své extrémně agresivní povaze a vysoké mortalitě. Je to osmé nejčastější nádorové onemocnění a šestá nejčastější příčina úmrtí na nádorová onemocnění na světě (38). Dle posledních dat je v České republice karcinom jícnu dvanáctým nejčastějším zhoubným nádorem u mužů a dvacátým třetím u žen (39). V diagnostice onemocnění má rozhodující význam endoskopické vyšetření s biopsií tumoru. Karcinom jícnu v 99 % tvoří dva základní typy nádorů, v orální a střední třetině jícnu se jedná o spinocelulární karcinom, v aborálním jícnu potom adenokarcinom, většinou na podkladě prekancerózy Barrettova jícnu (40). K základní terapii karcinomu jícnu patří ezofagektomie, která představuje resekci jícnu s regionálními lymfatickými uzlinami. U časného stádia onemocnění může být rovněž postačujícím léčebným výkonem endoskopická resekce sliznice s tumorem (40). Dle operačního přístupu lze ezofagektomii provést klasickým nebo kompletním miniinvazivním způsobem (41). Kombinaci obou přístupů, kdy resekční fáze je provedena miniinvazivní cestou a rekonstrukční fáze klasickým způsobem, lze označit jako hybridní ezofagektomii (43). U tumorů lokalizovaných v distálních partiích jícnu a gastroezofageální junkci lze operaci provést transhiatálně (cestou přes bránici ezofageálním hiátem) s lokalizací anastomózy v hlubokém krčním prostoru bez otevření hrudní dutiny. Pokud je tumor lokalizovaný

v intratorakálním průběhu jícnu, je provedena operace z transtorakálního přístupu. Součástí výkonu je vždy lymfadenektomie, při které by měly být odstraněny svodné lymfatické uzliny. U nemocných s pokročilejším stádiem onemocnění je součástí léčebného protokolu neoadjuvantní radiochemoterapie (44).

Ezofagektomie je z chirurgického pohledu jeden z nejrozsáhlejších operačních výkonů všeobecné chirurgie s možným rozvojem závažných pooperačních komplikací, především respiračních s následným selháním plic (43). Významný podíl na těchto komplikacích mají bakteriální infekce, včetně pneumonií.

1.1.4. Problematika bakteriální rezistence ve vztahu ke Covid-19

Onemocnění Covid-19 je virové onemocnění způsobené novým typem koronaviru s odborným označením SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), který byl poprvé identifikován v Číně v prosinci roku 2019, následně se rozšířil do celého světa a způsobil aktuální a stále probíhající pandemii. Kvůli této pandemii došlo celosvětově ke změnám v organizaci lékařské péče, hygienických a epidemiologických režimů, mobility, lidského chování i životního stylu. Prioritou se tak stalo zvládnutí pandemie Covid-19, zamezení, popřípadě omezení šíření infekce a snížení mortality na toto onemocnění. Kvůli této pandemii byl ale upozaděn jiný druh pandemie, který je plíživější a stejně nebezpečný a zároveň velmi aktuální, a tím jsou infekční onemocnění způsobená MDR bakteriemi. Podle známého O'Neillova odhadu nárůstu bakteriální rezistence hrozí, že v roce 2050 infekční onemocnění způsobená bakteriemi by mohla způsobit až 10 milionů úmrtí ročně (45). Zároveň je velmi pravděpodobné, že kvůli současné pandemii Covid-19 dojde ke změně trendu vývoje antibiotické rezistence. Přispívá k tomu několik faktorů, které povedou buď směrem k nárůstu nebo naopak směrem k poklesu rezistence. Mezi tyto faktory lze řadit např. zvýšení počtu pacientů v závažném klinickém stavu, přeplnění zdravotnických zařízení, přetížení zdravotnického personálu, na který jsou kladeny vysoké nároky, zavedení speciálního hygienicko-epidemiologického režimu, nárůst spotřeby dezinfekčních prostředků, zvýšení spotřeby antibiotik pro bakteriální ko-infekce nebo nasedající superinfekce, odložení neakutní péče a plánovaných operací, možné omezení tzv. antimicrobial stewardship z důvodu zaměření se na onemocnění Covid-19, apod. Některé z těchto faktorů jsou neovlivnitelné, neboť jsou politicky a organizačně rozhodnuty na úrovni státu, jiné, například aplikace

antibiotik, provádění antimicrobial stewardship, dodržování hygienických režimů a bakteriální surveillance lze ovlivnit v daném konkrétním nemocničním zařízení, popř. oddělení.

V souvislosti s pandemií Covid-19 je velmi aktuální také otázka pneumonií. SARS-CoV-2 může způsobit široké spektrum onemocnění, od velmi mírných příznaků infekce horních cest dýchacích až po život ohrožující pneumonii. Je zřejmé, že pandemie Covid-19 vedla k dramatickému nárůstu hospitalizovaných pacientů splňujících kritéria pro komunitní pneumonii (CAP). Během hospitalizace pak může být velmi obtížné rozlišit mezi závažným onemocněním Covid-19 a rozvojem sekundární bakteriální pneumonie. Retrospektivní studie provedená ve Wuhanu u 191 hospitalizovaných pacientů dokumentuje rozvoj sekundárních bakteriálních infekcí u 15 % případů, přičemž výskyt bakteriálních komplikací byl u přeživších pacientů významně nižší (<1 %) ve srovnání s pacienty, kteří nepřežili (50 %) (46). Zhou a kol. dále uvádějí, že rozvoj ventilátorové pneumonie byl zaznamenán u 31 % pacientů na umělé plicní ventilaci (UPV) (46). Současně se jako velmi problematické ukázalo hodnocení přítomnosti bakteriální respirační superinfekce u pacientů s těžkým, popř. kritickým průběhem Covid-19. Klasická kritéria (klinické příznaky, radiologický nález, celkové a laboratorní známky infekce/zánětu) jsou u pacientů s hypoxemickým selháním a/nebo ARDS obtížně aplikovatelná. V terénu obrazu tzv. „kovidové plíce“ je radiologický nález obtížně hodnotitelný a klinická kritéria (poslechový nález a produkce sputa) jsou obecně v intenzivní péči u pacientů na UPV málo senzitivní či specifická. Význam zánětlivých markerů je nejasný a na základě mikrobiologických vyšetření, především tracheálních endosekretů, je obtížné zhodnotit, zda se jedná o bakteriálního původce infekce či pouhou kolonizaci. Je tedy zřejmé, že lze v této otázce očekávat další specifikace na základě dalších studií.

Použití antibiotik u pacientů s pneumonií způsobenou SARS-CoV-19 ale má spoustu úskalí a stále zůstává mnoho otázek nezodpovězeno:

- Je potřeba nasadit iniciálně antibiotika?
- Jaká antibiotika nasadit v průběhu léčby kovidové pneumonie pro nasedající bakteriální nozokomiální pneumonii?
- Jaké jsou nejčastější bakteriální původci ko-infekcí a superinfekcí a jaká antibiotika jsou účinná?
- Změnila nějak koronavirová pandemie celkovou spotřebu antibiotik v daném zdravotnickém zařízení/na daném oddělení?
- Změnila se prevalence rezistentních bakterií?

2 Cíle disertační práce

Cíle předložené disertační práce lze charakterizovat následujícími body:

1. Charakterizace enterokokových infekcí: charakteristika infekcí vyvolaných enterokoky u pacientů hospitalizovaných ve Fakultní nemocnici Olomouc, rezistence enterokoků k antibakteriálním přípravkům a možnosti antibiotické léčby infekcí vyvolaných těmito bakteriemi.
2. Bakteriální infekce u novorozenců: stanovení nejčastějších bakteriálních původců novorozeneckých infekcí, včetně jejich rezistence k antibakteriálním léčivům a doporučení adekvátní antibioterapie. Dalším záměrem je posouzení časového kritéria pro stanovení časných a pozdních infekcí.
3. Bakteriální komplikace u pacientů s karcinomem jícnu: klinická a mikrobiologická charakteristika souboru pacientů po extirpaci jícnu pro karcinom.
4. Bakteriální rezistence ve vztahu ke Covid-19: analýza zastoupení bakteriálních patogenů, jejich antibiotické rezistence a zjištění případného klonálního šíření mezi pacienty s kritickým průběhem onemocnění Covid-19 vyžadujícím oxigenační terapii HFNOT/UPV nebo ECMO.

3 Materiál a metody

Použitý materiál a metodiky jsou uvedeny v následujících kapitolách, které odpovídají jednotlivým cílům této disertační práce.

3.1. Charakterizace enterokokových infekcí

Data o souboru enterokoků a jejich rezistenci k antibakteriálním přípravkům byla získána z laboratorního informačního systému ENVIS LIMS (DS Soft, Česká republika, Olomouc), používaného na Ústavu mikrobiologie FNOL, za období 1. 1. 2015 – 31. 12. 2019. Od jednoho pacienta byl zařazen vždy jen jeden izolát, který byl vykultivován z daného biologického materiálu jako první v časovém intervalu 90 dní.

Za klinicky významné byly považovány takové izoláty enterokoků, které byly zachyceny od pacientů s infekční diagnózou a z vhodného klinického materiálu (moč, krev, hnis, kanyla, punktát, materiál z dolních cest dýchacích). Neméně důležitá byla i kvantita izolovaného enterokoka. Do studie byly zařazeny i VRE, které byly považovány za klinicky významné i v případě izolace z gastrointestinálního traktu.

K identifikaci byla do poloviny roku 2016 použita kritéria Facklama a Collinse (47) a zároveň stanovení biochemických vlastností za použití En-coccus testu (Lachema, Brno, Česká republika). V následujících letech byly všechny enterokoky určeny za pomoci systému MALDI-TOF MS (Biotyper Microflex, Bruker Daltonics, Billerica, USA). Citlivost k antibiotikům byla stanovena standardní diluční mikrometodou podle kritérií EUCAST (48). K protokolované kontrole kvality byl použit referenční kmen *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. U VRE byla dále testována citlivost k linezolidu pomocí E-testu podle metodiky EUCAST (48).

Enterokoky, včetně VRE, byly charakterizovány podle klinického materiálu, z kterého byly izolovány, základní diagnózy, místa hospitalizace, resp. kliniky a věku pacientů. Pro účely analýzy enterokokových infekcí podle věku pacientů byly stanoveny věkové kategorie 0, 1-10, 11-20, 21-30, atd.

Z důvodu vysoké frekvence výskytu kmenů VRE izolovaných od pacientů Hemato-onkologické kliniky FNOL (HOK) byla u těchto izolátů provedena genetická analýza DNA pomocí kitu Qiagen (DNeasy Blood and Tissue Kit). PCR metodou byly detekovány geny rezistence ke glykopeptidům (*vanA*, *vanB*, *vacC-1*, *vanC2-C3*) za použití příslušných primerů, viz Tabulka 1 (49). Amplifikační podmínky byly následující: počáteční denaturace při 95°C po

dobu 7min, následovaná 35 cykly denaturace při 95°C/30s, annealing při 62°C/30s a extenze při 72°C/1min, ukončeno finální extenzí při 72°C po dobu 7 min.

Pro identifikaci vybraných faktorů virulence byla použita metoda multiplex PCR (50). Zjišťována byla přítomnost genů kódujících vybrané faktory virulence - želatináza (*gelE*), agregační substance (*asa1*), hyaluronidáza (*hyl*), cytolyzin (*cylA*) a enterokokový povrchový protein (*esp*), za použití primerů uvedených v Tabulce 1. Reakce probíhala za následujících podmínek. Počáteční denaturace při 95°C po dobu 15min, následovaná 30 cykly denaturace při 95°C/60s, annealing při 62°C/60s a extenze při 72°C/1min, ukončeno finální extenzí při 72°C po dobu 10 min. Vzniklé produkty byly separovány v 1,5% agarózovém gelu po dobu 60min při 110V za použití SybrSafe gel stain (Life technologies, USA). Vizualizace probíhala pod UV světlem v UV-transluminátoru (Transluminator Discovery™ (UltraLum, USA)).

Tabulka 1: PCR primery a produkty pro detekci *van* genů a faktorů virulence.

Gen	Sekvence (5' → 3')	Velikost (bp)	Reference	
Van geny				
<i>vanA</i>	GGGAAAACGACAATTGC	732	49	
	GTACAATGCGGCCGTTA			
<i>vanB</i>	ATGGGAAGCCGATAGTC	635		
	GATTCGTTCTCGACC			
<i>vanC-1</i>	GGTATCAAGGAAACCTC	822		
	CTCCGCCATCATAGCT			
<i>vanC2-C3</i>	CTCCTACGATTCTTTG	439		
	CGAGCAAGACCTTTAAG			
Faktory virulence				
<i>asa1</i>	GCACGCTATTACGAACTATGA	375		
	TAAGAAAGAACATCACCACGA			
<i>gelE</i>	TATGACAATGCTTTTTGGGAT	213		
	AGATGCACCCGAAATAATATA			
<i>cylA</i>	ACTCGGGGATTGATAGGC	688		
	GCTGCTAAAGCTGCGCTT			
<i>esp</i>	AGATTCATCTTTGATTCTTGG	510		
	AATTGATTCTTTAGCATCTGG			
<i>hyl</i>	ACAGAAGAGCTGCAGGAAATG	276		
	GACTGACGTCCAAGTTTCAA			

Molekulární typizace všech izolovaných VRE byla provedena pulzní gelovou elektroforézou (PFGE). Příprava intaktní DNA byla provedena podle protokolu Pantůčka a kol. (51). Restrikční

štěpení bločků s DNA bylo provedeno v roztoku restriční endonukleázy *Sma*I (Takara, Biotechnology, Japonsko) - 5 μ l restričního pufru *Sma*I, 5 μ l 0,1 % BSA, 50 μ l neionizované vody a 10U *Sma*I. Bločky byly inkubovány při 30 °C přes noc. Restriční fragmenty byly separovány v 1,2% (w/v) agarozovém gelu v přístroji CHEF-DRII systém (Bio-Rad, USA). Pro analýzu byly zvoleny parametry 24hod, napětí 6V.cm⁻¹ a pulsní časy 2-35 s. K vyhodnocení restričních fragmentů byl použit počítačový software GelCompare, verze 2.0 (Applied Maths, Kortrijk, Belgie). Koeficient podobnosti byl vypočítán pomocí Diceho algoritmu (na základě Diceho koeficientu podobnosti makrorestričních profilů stanoveném na 2 %). Analýza jednotlivých klastrů byla vyhodnocena za použití UPGMA algoritmu a výsledky byla interpretovány dle kritérií popsaných v práci Tenover a kol., 1995 (52).

3.2. Bakteriální infekce u novorozenců

Z biologického materiálu novorozenců (moč, stolice, hemokultura, cévní kanyla, likvor, bronchoalveolární laváž, stěry z axily, krku, nosu, ucha, spojivky a ran) hospitalizovaných na Novorozeneckém oddělení FNOL v období 2015 - 2017 s klinicky prokázanou infekcí byly izolovány standardním postupem jednotlivé bakteriální kmeny.

Identifikace bakteriálních izolátů byla provedena pomocí MALDI-TOF MS (Biotyper Microflex, Bruker Daltonics, Billerica, USA). Identifikovaný kmen byl do výsledků zařazen jen 1x, aby bylo vyloučeno jeho opakování v databázi.

Citlivost k antibiotikům byla stanovena diluční mikrometodou dle doporučení EUCAST (48). Produkce širokospektrých beta-laktamáz typu ESBL a AmpC byla detekována příslušnými fenotypovými testy a potvrzena PCR detekující geny specifické pro daný typ beta-laktamázy (53).

U 3 kmenů *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15 pozitivních a 2 kmenů *Escherichia coli* CTX-M-15 pozitivních byla hodnocena genetická podobnost kmenů pomocí PFGE. Bakteriální DNA byla izolována technikou dle Husičkové a kol. (54), restriční štěpení bločků bylo provedeno restriční endonukleázou XbaI (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA) po dobu 24 hodin při 37 °C. Získané fragmenty DNA byly odděleny pomocí PFGE na 1,2% (w/v) agarozového gelu po dobu 24 hodin při 6 V/cm a pulzních časech 2–35 s v přístroji CEF-DRII systém (Bio-Rad, USA). Následně byl gel obarven ethidium-bromidem. Výsledné restriční profily byly analyzovány pomocí softwaru GelCompar II (Applied Maths, Kortrijk, Belgie) pomocí Diceova koeficientu

(1,2%) pro srovnání podobnosti a nevážené párové skupinové metody s aritmetickými průměry pro klastrovou analýzu. Výsledky byly vyhodnoceny podle kritérií popsaných společností Tenover a kol. (52).

Ke statistické analýze dat byl použit software IBM SPSS Statistics verze 22. Frekvence výskytu bakterií hodnocená podle obou časových kritérií byla porovnána pomocí McNemarova jednostranného testu. Testy byly provedeny na hladině signifikance 0,05.

3.3. Bakteriální komplikace u pacientů s karcinomem jícnu

Karcinom jícnu byl diagnostikován endoskopickým vyšetřením s biopsií tumoru, endosonografickým a PET/CT vyšetřením. Při lokalizaci tumoru v orální partii jícnu do vzdálenosti 30 cm od řezáků bylo indikováno tracheobronchoskopické vyšetření k vyloučení infiltrace dýchacích cest nádorem. Před operačním výkonem bylo u všech nemocných provedeno interní, spirometrické a nutriční vyšetření. U nemocných s kardiologickou anamnézou bylo doplněno kardiologické a echokardiografické vyšetření. Nemocní byli na základě provedených vyšetření vyhodnoceni dle ASA klasifikace. Dle předoperačního „stagingu“ karcinomu jícnu byli pacienti v primárních stádiích onemocnění, na základě TNM klasifikace (cT1-2N0M0), indikováni k primárnímu chirurgickému výkonu, nemocní v pokročilejších stádiích (cT3-4, N0-2, M0) bez průkazu generalizace byli indikováni k neoadjuvantní onkologické terapii. Po neoadjuvanci byl proveden „restaging“ onemocnění (PET/CT, endoskopie) ke zhodnocení efektu neoadjuvantní terapie a pacienti byli v odstupu 8-12 týdnů indikováni k ezofagektomii. U každého pacienta bylo v časovém intervalu 3-7 dní před operačním výkonem provedeno kulturační vyšetření výtěru z nosohltanu.

Ezofagektomie byla provedena hybridním (kombinace miniinvazivního a klasického přístupu) nebo klasickým způsobem (cestou laparotomie a pravostranné torakotomie). K rekonstrukci zažívacího traktu byl využit tubulizovaný žaludek vyživovaný pravou gastroepiploickou tepnou. Anastomóza byla konstruována v hlubokém krčním prostoru nebo hrudníku.

Nemocní byli do 24 hodin po operačním výkonu extubováni, před extubací byl odebrán materiál z dolních cest dýchacích k mikrobiologickému vyšetření. V případě rozvoje bakteriální komplikace byly vyšetřeny příslušné klinické materiály (endotracheální sekret a sekret z pšštěle

či abscesu). Izolované bakterie či kvasinky byly identifikovány systémem MALDI-TOF MS (Biotyper Microflex, Bruker Daltonics). Citlivost k antibiotikům byla stanovena standardní diluční mikrometodou podle kritérií EUCAST (48). Referenční kmeny *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 byly použity k protokolované kontrole kvality. Produkce širokospektrých beta-laktamáz typu AmpC byla detekována příslušnými fenotypovými testy (53). Pozitivní fenotypové výsledky byly ověřeny pomocí PCR detekující geny specifické pro tento typ beta-laktamáz.

3.4. Bakteriální rezistence ve vztahu ke Covid-19

Pro realizaci tohoto cíle byli použiti pacienti hospitalizovaní ve dvou 6-měsíčních obdobích, od 1. 11. 2018 do 30. 4. 2019 (období před pandemií Covid-19) a od 1. 11. 2020 do 30. 4. 2021 (období pandemie Covid-19) na KARIM (Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny) FNOL. Souhlas Etické komise nebyl vyžadován, protože všem pacientům byl poskytován standardní diagnostický i léčebný režim. Součástí léčby v uvedeném pandemickém období bylo nasazení antibiotické léčby všem pacientům s kritickým stupněm Covid-19, a to kombinace cefotaximu (event. amoxicilin/kys. klavulanová) s klaritromycinem. Po vyloučení bakteriální ko-infekce, resp. při poklesu zánětlivých biochemických parametrů (CRP, PCT, leukocytů) a negativních výsledcích mikrobiologického vyšetření endosekretu byla antibiotická léčba ukončena po 3 až 5 dnech. Naopak při vzestupu zánětlivých parametrů a/nebo pozitivních výsledcích vyšetření endosekretu, resp. rozvoji nozokomiální bakteriální VAP, byla iniciální antibiotická léčba změněna na cílenou antibioterapii na základě izolace bakteriálních patogenů a stanovení jejich citlivosti/rezistence k antibakteriálním přípravkům.

Diagnostika Covid-19 u pacientů hospitalizovaných od 1.11.2020 do 30.4.2021 byla založena na přímém průkazu viru pomocí RT-PCR s detekcí tří specifických genových oblastí virové RNA ve výtěru z nosohltanu a/nebo orofaryngu (55).

U všech pacientů v obou obdobích byly pravidelně (při přijetí a následně 2x týdně) odebírány klinické vzorky z horních i dolních cest dýchacích (stěr z nosohltanu, sputum, endosekret), moč a v případě podezření na sepsi i hemokultury. K identifikaci bakteriálních patogenů byly použity standardní mikrobiologické postupy za pomoci systému MALDI-TOF MS

(Biotyper Microflex, Bruker Daltonics). Výběr bakteriálních kmenů byl realizován tak, že od jednoho pacienta byl zařazen vždy jen jeden kmen daného druhu, který byl izolován z příslušného klinického materiálu jako první. Citlivost k antibiotikům byla stanovena standardní diluční mikrometodou podle kritérií EUCAST (48). Referenční bakteriální kmeny, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, byly použity k protokolované kontrole kvality. Produkce širokospektrých beta-laktamáz typu ESBL, AmpC a karbapenemáz byla detekována příslušnými fenotypovými testy (53, 54) a následně potvrzena PCR průkazem příslušných genů. U všech kmenů *Staphylococcus aureus* byla testována rezistence k methicilinu pomocí selektivně diagnostické chromogenní půdy (Colorex/TM/MRSA, TRIOS, Česká republika) a dále imunochromatografického testu na průkaz PBP2a (PBP2a SA Culture Colony Test, Alere™). Případný pozitivní výsledek byl potvrzen průkazem *mecA* genu (56).

V případě vankomycin-rezistentních enterokoků byla rezistence potvrzena průkazem příslušných genů *vanA* a *vanB* (49 – 52).

U kmenů *Klebsiella pneumoniae*, které byly izolovány v předkovidovém období, byla stanovena klonalita pomocí PFGE. V pandemickém období bylo stanovení klonality provedeno u 41 izolovaných kmenů *Klebsiella pneumoniae*, 7 kmenů *Serratia marcescens* a 25 kmenů *Burkholderia multivorans*. Izoláty *Klebsiella pneumoniae* a *Serratia marcescens* byly typizovány pomocí modifikovaného PFGE protokolu (57). Porovnání izolátů *Burkholderia multivorans* bylo provedeno pomocí RAPD (58).

Bakteriální DNA byla izolována z buněk rostoucích 18 hodin na krevním agaru (TRIOS, Česká republika). Agarózové bločky byly získány smícháním 100 µl bakteriální supenze, 5 µl proteinázy K a 100 µl 2% agarózy. Hotové bločky s buňkami byly lyzovány pomocí modifikovaného SDS pufru obsahující 3 % SDS a 3 % sarkozinu (57), následně třikrát promyty přehřátou (50°C) destilovanou vodou a čtyřikrát TE pufrem (10 mM Tris, 1 mM EDTA pH 8.0) a skladovány v TE pufru při 4 °C. DNA byla naštěpena enzymem XbaI (Takara, Biotechnology, Japonsko) podle instrukcí výrobce a následně rozdělena pomocí PFGE v 1,2% agarózovém gelu při těchto podmínkách (24 h, 6V.cm⁻¹, pulsní časy 2-35s). Výsledné restriční profily byly porovnány pomocí softwaru GelCompar II (Applied Maths, Kortrijk, Belgie). Dendrogramy byly konstruovány metodou nevážených párových skupin s aritmetickým průměrem v kombinaci s metodou hierarchického shlukování s Diceovým koeficientem. Optimalizace a tolerance shody

pásem byla stanovena na 1,5%. Restrikční profily dosahující 95% podobnosti byly považovány za shodné.

Aplikace antibiotik byla v obou sledovaných obdobích vyhodnocena podle ATC/DDD indexu platného v roce 2020 a vyjádřena počtem definovaných denních dávek (DDD_{ATB}) pro jednotlivé antibiotické skupiny (59).

4 Výsledky

Výsledky disertační práce jsou rozděleny do čtyř kapitol, které odpovídají stanoveným cílům (viz kapitola Cíle disertační práce).

4.1. Charakterizace enterokokových infekcí

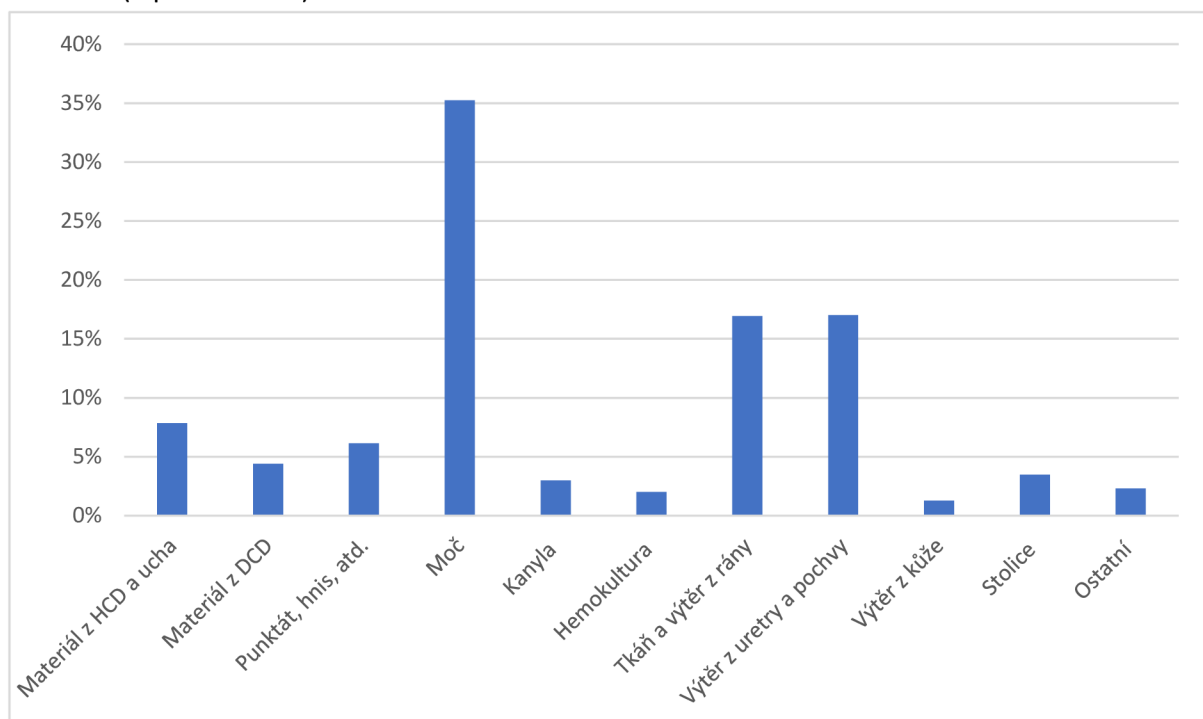
V období 1. 1. 2015 – 31. 12. 2019 bylo zachyceno celkem 11 392 izolátů *Enterococcus* sp. Z tohoto počtu bylo jako klinicky významných stanoveno 8 239 (72 %) kmenů. Nejčastěji izolovanými druhy byly *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*, které v letech 2017-2019 reprezentovaly přes 90 % všech izolovaných enterokoků. V letech 2015 a 2016 bylo 39 % enterokoků identifikováno jako *Enterococcus* sp. Zastoupení jednotlivých druhů ve sledovaném období je uvedeno v Tabulce 2.

Tabulka 2: Zastoupení druhů klinicky významných enterokoků izolovaných v letech 2015-2019 ve FNOL

	2015	2016	2017	2018	2019
	Abs počet (procento)	Abs počet (procento)	Abs počet (procento)	Abs počet (procento)	Abs počet (procento)
<i>Enterococcus avium</i>	5 (0)	13 (1)	14 (1)	14 (1)	18 (1)
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	5 (0)	6 (0)	10 (1)	5 (0)	4 (0)
<i>Enterococcus durans</i>	0 (0)	1 (0)	1 (0)	2 (0)	1 (0)
<i>Enterococcus faecalis</i>	199 (13)	638 (41)	1038 (61)	1136 (67)	1241 (72)
<i>Enterococcus faecium</i>	120 (8)	332 (22)	565 (33)	512 (30)	434 (25)
<i>Enterococcus gallinarum</i>	4 (0)	4 (0)	4 (0)	6 (0)	9 (1)
<i>Enterococcus hirae</i>	1 (0)	1 (0)	0 (0)	2 (0)	3 (0)
<i>Enterococcus raffinosus</i>	2 (0)	5 (0)	16 (1)	15 (1)	10 (1)
<i>Enterococcus</i> sp.	1232 (78)	538 (35)	53 (3)	11 (1)	2 (0)
<i>Enterococcus malodoratus</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	1 (0)

V Grafu 2 je znázorněn výčet klinických materiálů s pozitivní izolací enterokoků. Z výsledků vyplývá, že nejčastěji byly izolovány z moče (35 %), dále ze stěrů z uretry/pochvy (17 %) a tkání/ran (17 %). Naopak s nejmenší frekvencí byly izolovány z hemokultur (2 %) a stěrů kůže (1 %).

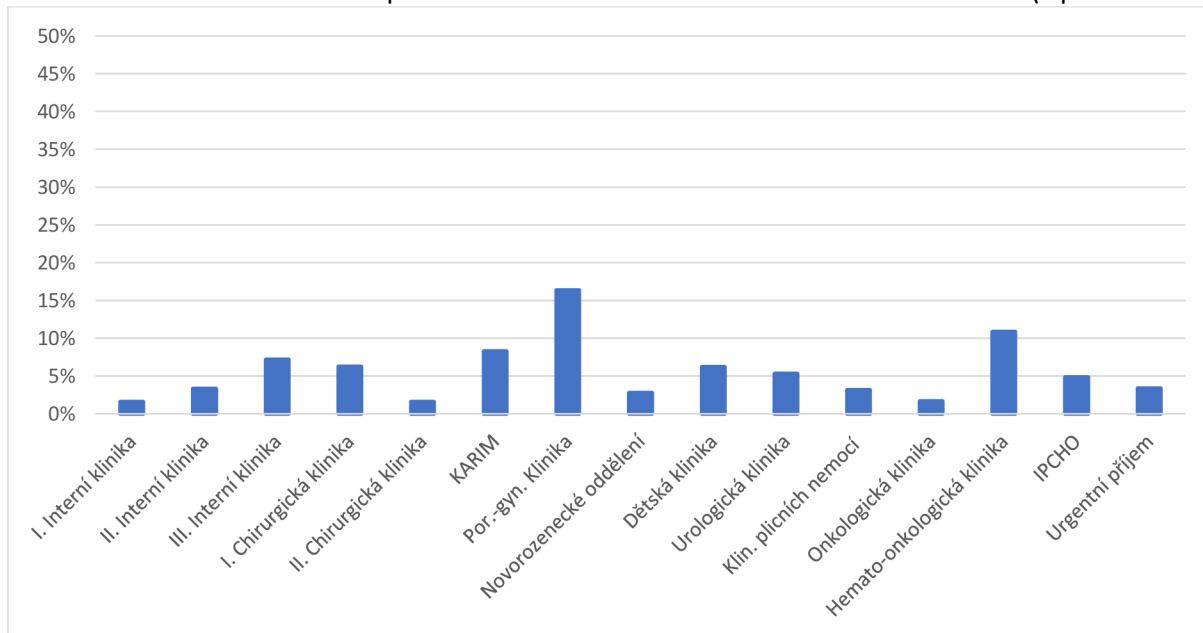
Graf 2: Rozložení enterokoků v klinických materiálech u pacientů FNOL v letech 2015-2019 (v procentech)



Legenda: HCD – horní cesty dýchací, DCD – dolní cesty dýchací

Z porovnání jednotlivých klinik FNOL je zřejmý nejvyšší záchyt klinicky významných enterokoků na Porodnicko-gynekologické (16 %) a Hemato-onkologické (11 %) klinice. Na ostatních klinikách byl výskyt těchto kmenů pod 10 % (Graf 3).

Graf 3: Rozložení enterokoků podle klinik a oddělení FNOL za období 2015-2019 (v procentech)



Legenda: KARIM – klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, IPCHO – intenzivní péče chirurgických oborů

Dalším sledovaným kritériem byly základní diagnózy pacientů, u kterých byly enterokoky zachyceny. Nejvíce klinicky významných kmenů (22 %) bylo izolováno u pacientů s onkologickou diagnózou. Téměř 15 % kmenů bylo izolováno od pacientů s urogenitálními infekcemi, 9 % enterokoků pocházelo od pacientů s nemocemi dýchací soustavy a přes 8 % kmenů od pacientů s nemocemi trávicí nebo oběhové soustavy. Dále bylo detekováno 8 % enterokokových infekcí spojených s těhotenstvím, porodem a šestinedělím.

Analýza podle věku pacientů ukázala, že u pacientů do 50 let věku byly klinicky významné enterokoky zachyceny v každé věkové kategorii pouze do 10 %. Ve věkové kategorii 51-60 let již podíl stoupá na 12 % a ve věku 61 až 70 let bylo izolováno až 21 % klinicky významných enterokoků. U pacientů mezi 71 až 80 lety bylo detekováno 19 % enterokoků. Od 81 let již podíl zachycených enterokoků klesá na 10 %. U kojenců bylo za sledované pětileté období izolováno celkem 338 enterokoků, což je necelých 5 % z celkového počtu zachycených kmenů.

Tabulka 3 uvádí rezistenci *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* k vybraným antibiotikům v jednotlivých letech. U *Enterococcus faecalis* je zřejmá velmi nízká rezistence ke všem testovaným antibakteriálním přípravkům. K ampicilinu a tigecyklinu je rezistence maximálně 3 %. U kmenů izolovaných z urogenitálního traktu rezistence k nitrofurantoinu činila 2 %. U tohoto species nebyl zaznamenán žádný vankomycin-rezistentní kmen. U druhu *Enterococcus faecium* byl prokázán 24% podíl VRE. Rezistence k linezolidu v případě VRE nepřesáhla 1 %.

Tabulka 3: Rezistence *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* k vybraným antibiotikům ve FNOL (v procentech)

Enterococcus faecalis

	2015 (195 kmenů)	2016 (634 kmenů)	2017 (1036 kmenů)	2018 (1136 kmenů)	2019 (1240 kmenů)
AMP	3	1	1	0	0
TEI	0	0	0	0	0
TIG	3	1	1	0	0
VAN	0	0	0	0	0

Enterococcus faecium

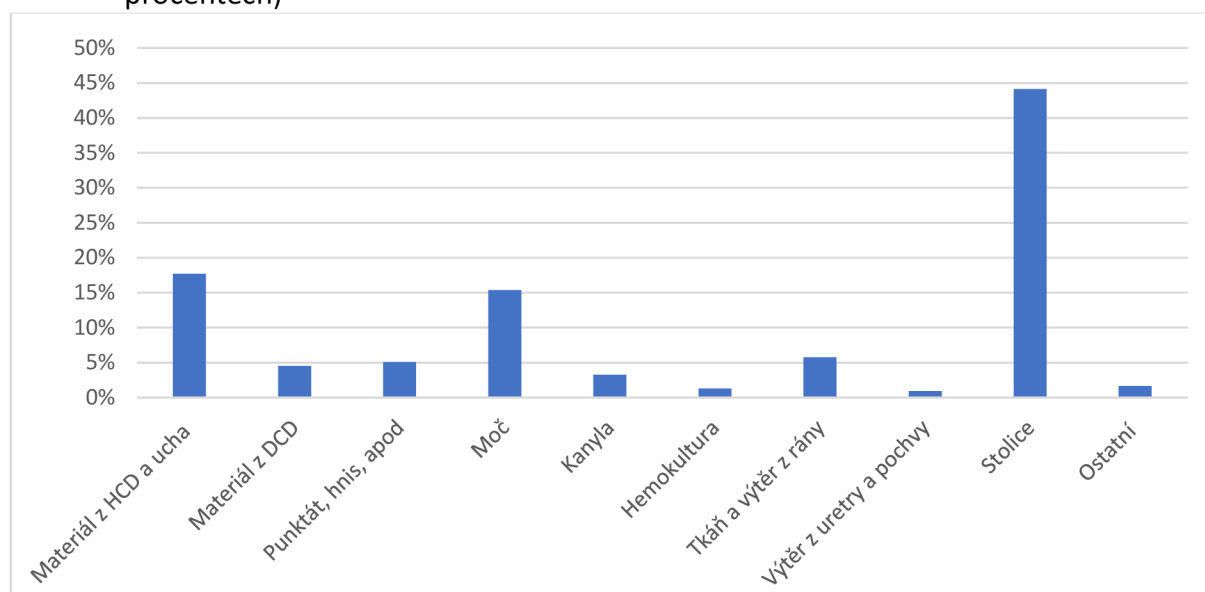
	2015 (119 kmenů)	2016 (330 kmenů)	2017 (557 kmenů)	2018 (511 kmenů)	2019 (433 kmenů)
TEI	15	25	29	26	21
TIG	3	2	5	2	2
VAN	15	27	30	26	22

Legenda: AMP – ampicilin, TEI – teikoplanin, TIG – tigecyklin, VAN – vankomycin

Ve sledovaném období 5 let bylo identifikováno celkem 553 VRE, což činí téměř 7 % ze všech izolovaných enterokoků. Všechny VRE byly identifikovány jako *Enterococcus faecium*. Nejčastěji byly tyto kmeny izolovány ze stolice (44 %) a dýchacích cest (23 %). Celkové rozdělení VRE podle biologického materiálu, ze kterého byly tyto kmeny izolovány, ukazuje Graf 4.

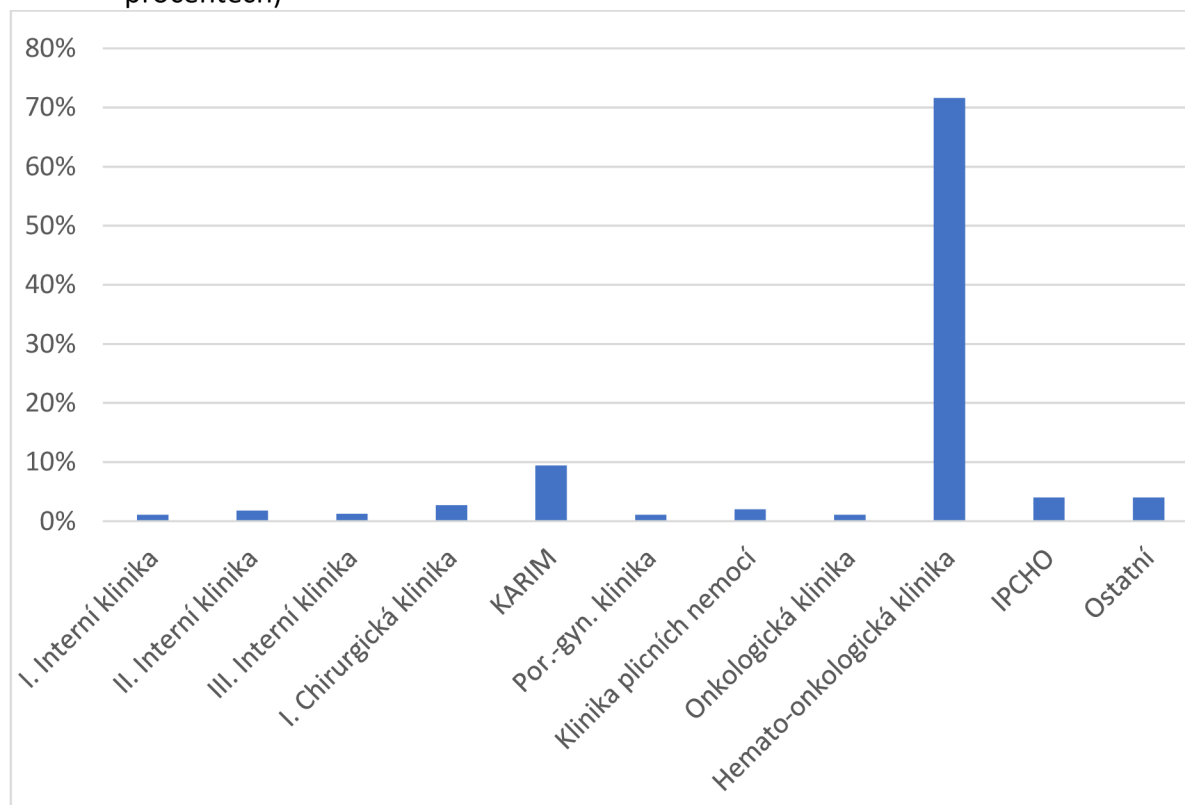
Zajímavá je distribuce VRE na jednotlivých klinikách FNOL (Graf 5). Nejvíce VRE (72 %) bylo izolováno na Hemato-onkologické klinice, na Klinice anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny (9 %) a na Oddělení intenzivní péče chirurgických oborů (4 %).

Graf 4: Rozložení VRE podle klinických materiálů u pacientů FNOL za období 2015-2019 (v procentech)



Legenda: HCD – horní cesty dýchací, DCD – dolní cesty dýchací

Graf 5: Rozložení VRE podle jednotlivých klinik a oddělení FNOL za období 2015-2019 (v procentech)



Legenda: KARIM – Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, IPCHO – Oddělení intenzivní péče chirurgických oborů

Při srovnání výskytu podle diagnóz bylo 78 % VRE zachyceno u onkologických pacientů, 8 % u pacientů s onemocněním dýchací soustavy a 4 % u pacientů s nemocemi oběhové soustavy. U dalších základních diagnóz se procento zachytu kmenů VRE pohybovalo pod 2 %. U těhotných žen a u žen po porodu nebyl zachycen žádný VRE.

Z analýzy distribuce VRE podle věku pacientů je zřejmý výskyt pod 5 % ve věkových kategoriích do 30 let, u pacientů 31-40 let byl 7% výskyt a v kategorii 41-50 let bylo zachyceno 14 % VRE. U pacientů ve věkové kategorii 51-60 bylo izolováno 29 % VRE. Od 61 let je patrné snížení počtu VRE na 26 %, resp. 13 % u pacientů nad 70 let a 6 % nad 80 let.

Prevalence VRE dle biologického materiálu a místa hospitalizace pacienta, resp. kliniky, uvádí Tabulka 4. Podíl VRE izolovaných ze stolice a perianálního stěru činil v jednotlivých letech 64 % - 100 %. Vysokou prevalenci VRE vykazoval rovněž materiál z HCD (až 34 %). V ostatních klinických materiálech nebyl tento údaj vyšší než 15 %. Při porovnání prevalence VRE na jednotlivých klinikách byla nejvyšší hodnota (16-54 %) zaznamenána na Hemato-onkologické klinice. Na ostatních klinikách byla prevalence VRE maximálně 14 %.

Tabulka 4: Prevalence VRE v jednotlivých klinických materiálech, na vybraných klinikách a odděleních FNOL (celkový počet enterokoků v absolutní hodnotě, v závorce procento)

Klinický materiál	2015	2016	2017	2018	2019
Materiál z HCD a ucha	151 (3)	109 (20)	114 (34)	120 (18)	121 (9)
Materiál z DCD	66 (5)	59 (2)	88 (9)	75 (5)	73 (12)
Punktát, hnis, exsudát	96 (1)	97 (3)	89 (3)	113 (11)	102 (9)
Moč	520 (1)	514 (4)	602 (3)	567 (4)	679 (3)
Kanyly	61 (2)	82 (4)	60 (5)	66 (9)	42 (12)
Hemokultura	24 (4)	30 (3)	20 (15)	22 (5)	20 (5)
Tkáň a výtěr z rány	278 (1)	270 (2)	255 (4)	287 (3)	298 (2)
Výtěr z uretry a pochvy	297 (0)	236 (0)	266 (0)	319 (0)	278 (1)
Výtěr z kůže	19(1)	17 (0)	22 (0)	29 (0)	41 (2)
Stolice a perianální stěr	67 (3)	67 (64)	102 (91)	71 (93)	40 (100)
Ostatní	40 (0)	43 (5)	43 (9)	31 (6)	4 (26)

Kliniky a oddělení FNOL	2015	2016	2017	2018	2019
I. Interní klinika	21 (4)	28 (0)	26 (4)	22 (0)	29 (14)
II. Interní klinika	47 (0)	60 (3)	48 (2)	45 (11)	68 (3)
III. Interní klinika	136 (1)	108 (0)	101 (1)	105 (0)	137 (3)
I. Chirurgická klinika	95 (0)	113 (1)	96 (5)	111 (4)	95 (5)
II. Chirurgická klinika	22 (0)	22 (0)	27 (4)	25 (0)	31 (3)
KARIM	127 (5)	137 (7)	132 (5)	139 (14)	143 (6)
Porodnicko-gynekolog. klinika	298 (0)	226 (0)	246 (0)	306 (1)	266 (2)
Novorozenecké oddělení	75 (0)	39 (0)	40 (0)	37 (0)	35 (3)
Dětská klinika	107 (0)	96 (0)	95 (0)	106 (0)	102 (0)
Urologická klinika	67 (0)	64 (0)	99 (1)	89 (0)	114 (0)
Klinika plicních nemocí a TBC	51 (0)	25 (0)	49 (2)	58 (5)	75 (9)
Onkologická klinika	21 (0)	32 (3)	22 (5)	21 (0)	41 (10)
Hemato-onkologická klinika	70 (16)	204 (39)	284 (54)	188 (52)	144 (38)
IPCHO	80 (1)	77 (3)	72 (8)	100 (7)	64 (9)
Urgentní příjem	38 (0)	40 (0)	61 (0)	52 (0)	84 (0)

Legenda: HCD – horní cesty dýchací, DCD – dolní cesty dýchací, KARIM – Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, IPCHO – Oddělení intenzivní péče chirurgických oborů

Při pohledu na základní diagnózy byla nejvyšší prevalence VRE zaznamenána u novotvarů a nemocí krve a imunity (až 35 %), u ostatních skupin diagnóz dosahovala maximálně 10 %.

Rovněž byla porovnána prevalence VRE ve věkových kategoriích a nejvyšší hodnoty

byly zaznamenány u pacientů ve věku 51-60 let (až 26 %) a 41-50 let (až 22 %). U dětí a mladistvých do 20 let byla prevalence VRE maximálně 2 %.

Z důvodu vysoké frekvence výskytu VRE na Hematoonkologické klinice FNOL byla provedena podrobnější analýza kmenů VRE. V období od 1.1.2016 – 31.12.2018 byly vyšetřeny vzorky stolice a perianální stěry od 1 405 pacientů HOK a celkem bylo izolováno 103 kmenů VRE. Z toho vyplývá, že u téměř 7 % pacientů Hemato-onkologické kliniky bylo potvrzeno nosičství VRE v gastrointestinálním traktu. Ve všech případech se jednalo o druh *Enterococcus faecium*. Výsledky stanovení citlivosti vankomycin-rezistentních enterokoků jsou uvedeny v Tabulce 5. Ze získaných hodnot je zřejmá velmi vysoká citlivost k linezolidu (100 %) a tigecyklinu (96 %), ale naopak 100% rezistence k ampicilinu a teikoplaninu.

Tabulka 5: Citlivost VRE k vybraným antibiotikům (v procentech)

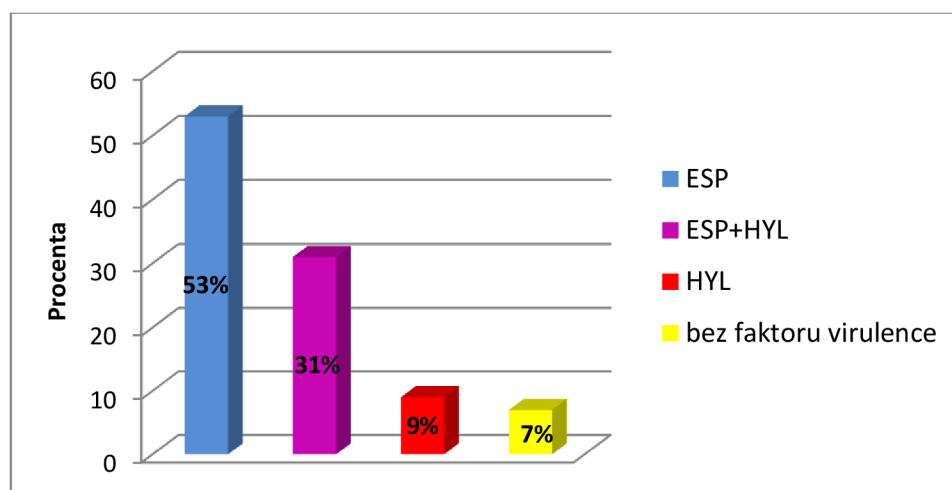
Rok/ATB	AMP	TIG	TET	TEI	FUR	LNZ
2016	0	100	71	0	100	100
2017	0	88	43	0	84	100
2018	0	100	35	0	48	100
2016-2018	0	96	48	0	76	100

Legenda: AMP – ampicilin, TIG – tigecyklin, TET – tetracyklin, TEI – teikoplanin, FUR – nitrofurantoin, LNZ – linezolid

U všech izolovaných VRE byla detekována přítomnost *vanA* genu. Kmeny s fenotypy VanB, VanC-1, VanC2-C3 nebyly zachyceny.

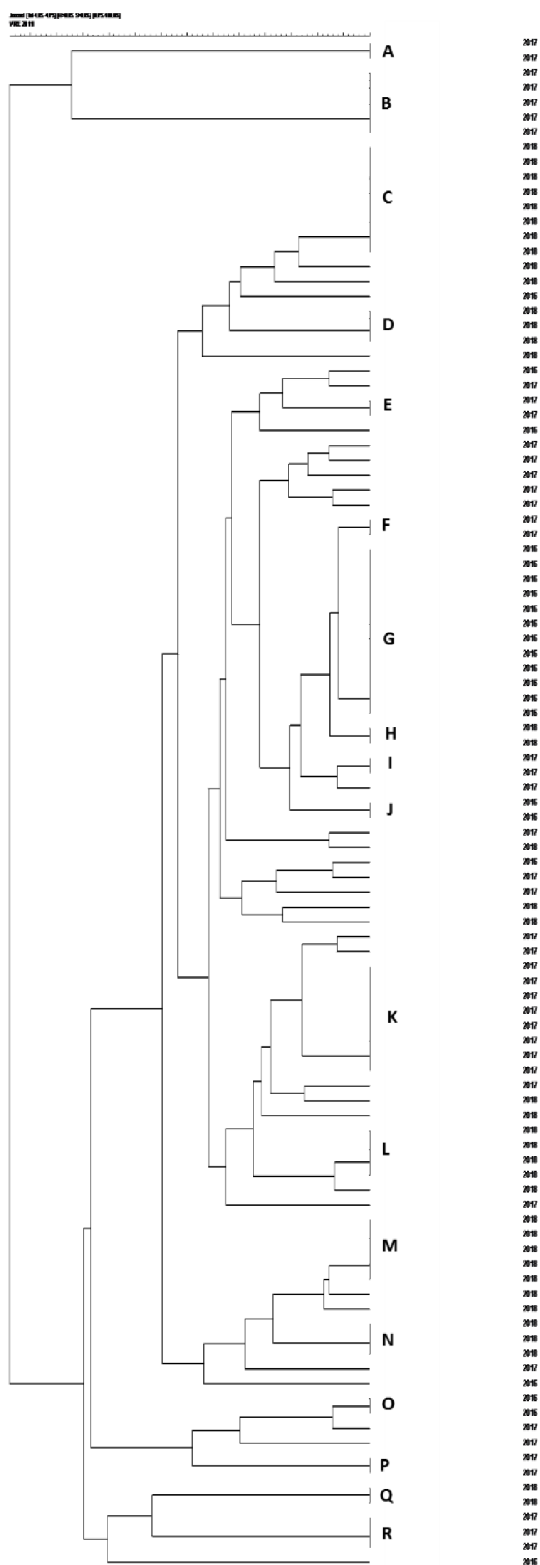
Při analýze vybraných faktorů virulence byla nejčastěji prokázána přítomnost enterokokového povrchového proteinu (*esp*). Samostatně byl tento gen detekován u 53 % izolátů, v kombinaci s hyaluronidázou (*esp + hyl*) byl pak nalezen u 31 % izolátů. Hyaluronidáza (*hyl*) samostatně se vyskytovala pouze u 9 % izolátů. Bez jakéhokoliv faktoru virulence bylo 7 % izolátů (Graf 6)

Graf 6: Výskyt faktorů virulence u kmenů VRE na HOK

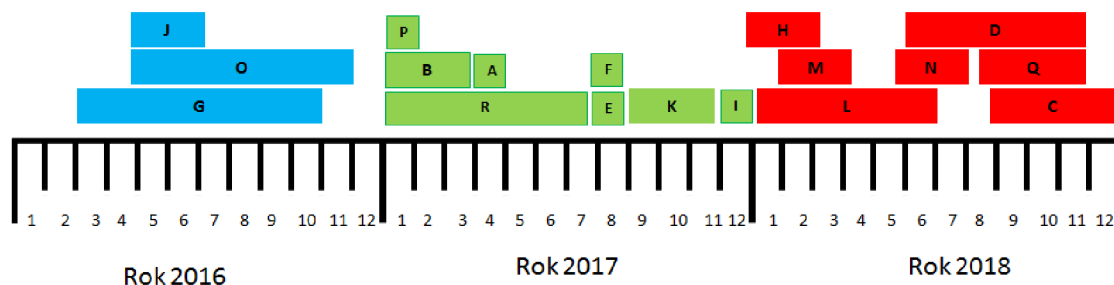


Dendrogram výsledků PFGE je uveden na Obrázku 2. U 103 VRE bylo identifikováno 69 klonů VRE a tyto byly na základě míry podobnosti rozděleny do 18 skupin (tolerance 1,5; cut-off, 95 %). Vzniklé skupiny byly označeny písmeny A-R. Celková klonalita činila tedy 67 %. Zbýlých 34 kmenů (33 %) vykazovalo jedinečný restriční profil. Izoláty v jednotlivých klonálních skupinách vykazovaly 98% míru podobnosti. Klon G byl vyhodnocen jako největší klastr s celkem dvanácti kmeny. Genotypy označené A, E, F, H, I, J, O, P, Q jsou poměrně malé a vyznačují se shodně dvěma kmeny. Klony D, N, R jsou tvořeny každý třemi kmeny. V rámci oddělení se tak jedná o menší klonální šíření. Celkem pět kmenů v klonu M bylo izolováno od pacientů z jednoho nemocničního oddělení (HOK 5A) po dobu jednoho měsíce. Při analýze prostorově-časových vazeb těchto pacientů je tímto prokázán přenos jednoho klonu VRE ovšem bez možnosti definovat indexového pacienta či jiný zdroj jako ohnisko vzplanutí. U všech kmenů byly rovněž potvrzeny naprosto shodné faktory virulence. Klon označený G se sestává z dvanácti kmenů izolovaných od pacientů za období 8 měsíců. Klon K je tvořen osmi kmeny. Všechny byly izolovány za období tří měsíců a to konkrétně září-prosinec roku 2017. Klon C se vyznačuje rovněž osmi kmeny izolovanými po dobu čtyř měsíců, září – prosinec roku 2018. Klon B se sestává z pěti kmenů izolovaných tří měsíců roku, leden až květen 2017 a klon L ze čtyř kmenů získaných za dobu šesti měsíců roku 2018. Výskyt klonů VRE v průběhu sledovaného období dle časové osy znázorňuje Obrázek 3.

Obrázek 2: Dendrogram PFGE 103 izolátů vankomycin-rezistentních *E. faecium* za období 2016-2018.



Obrázek 3: Časová osa výskytu klonů VRE v letech 2016-2018



4.2. Bakteriální infekce u novorozenců

Ve sledovaném období tří let (2015-2017) bylo na Novorozeneckém oddělení FNOL hospitalizováno 7 221 novorozenců. Novorozenecká infekce byla prokázána u 364 (5 %) dětí, u kterých bylo izolováno celkem 263 bakteriálních patogenů a 59 mykotických agens (Tab. 6).

U novorozenců byla nejčastější infekcí klinická seps (72 %), následovaly infekce krevního řečiště (13 %) a pneumonie (9 %). Naopak nejméně časté byly meningitida (1 %) a nekrotizující enterokolitida (1 %). U 4 % novorozenců léčených pro infekci nejasného původu, nebyly izolovány žádné bakteriální patogeny. 41 % novorozeneckých dětí mělo při porodu normální váhu, s nízkou porodní hmotností bylo narozeno 26 % dětí ve studovaném souboru, velmi nízkou porodní hmotností a extrémně nízkou porodní hmotností mělo 14 %, resp. 19 % dětí.

Tabulka 6: Bakteriální původci novorozeneckých infekcí

Bakteriální druh	Počet izolátů	Procento
<i>Escherichia coli</i>	57	22
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	31	12
Koaguláza-negativní stafylokoky	31	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	10
<i>Enterobacter cloacae</i>	16	6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	16	6
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	15	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	5
<i>Enterococcus faecalis</i>	11	4
<i>Streptococcus agalactiae</i>	9	3
<i>Burkholderia cepacia</i> komplex	8	3
<i>Citrobacter freundii</i>	4	2
<i>Ralstonia pickettii/insidiosa</i>	4	2
<i>Pseudomonas putida</i>	2	1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	1
<i>Klebsiella aerogenes</i>	2	1
<i>Enterobacter kobei</i>	2	1
<i>Serratia marcescens</i>	2	1
<i>Haemophilus influenzae</i> typ b	2	1
<i>Enterobacter asburiae</i>	2	1
Ostatní	8	3

Legenda: Ostatní: bakteriální kmeny izolovány pouze v 1 případě (*Salmonella* Enteritidis, *Providencia rettgerii*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus intermedius* a *Enterococcus faecium*)

Z Tabulky 6 vyplývá, že nejčastějšími bakteriálními původci novorozeneckých infekcí byly *Escherichia coli* (22 %), *Klebsiella pneumoniae* (12 %), koaguláza-negativní stafylokoky (12 %) a *Staphylococcus aureus* (10 %). Na základě výsledků lze konstatovat, že enterobakterie tvoří zhruba polovinu (56 %) všech původců. *Streptococcus agalactiae* způsobil infekci jen u 9 novorozenců a *Listeria monocytogenes* byla zachycena pouze u jediného dítěte. Kromě bakteriálních agens byly izolovány kmeny *Candida* spp, zodpovědné za 59 infekcí, ze kterých většina byla léčena lokálně. *Candida albicans* se uplatnila jako infekční agens u 47 (<1 %) novorozenců. *Candida parapsilosis* a *Candida tropicalis* byly potvrzeny pouze u 7, respektive 5 novorozeneckých infekcí.

Novorozenecké infekce postihly 6 % novorozenců v roce 2015, v roce 2016 a 2017 mělo infekci shodně 5 % nově narozených dětí. Časně infekce (rozvoj v prvních 72 hodinách života) převažovaly, byly identifikovány u 4 % novorozených dětí, pozdní infekce (získané po 72 hodin života) byly prokázány u 1 % dětí. Novorozenecké infekce lze rozdělit i podle dalších

časových kritérií a to na časně, vzniklé do 7. dne života a pozdní od 8. dne života. Tabulka 7 uvádí bakteriální původce z hlediska rozdělení na časně a pozdní infekce při použití obou časových kritérií (3 a 7 dní) na základě analýzy klinických a mikrobiologických ukazatelů u novorozenců narozených v roce 2017.

Tabulka 7: Rozložení bakteriálních/mykotických patogenů u novorozenců léčených antibiotiky při použití obou časových kritérií (rok 2017).

Bakteriální agens	Časně (abs. počet)		Pozdní (abs. počet)		P
	≤ 72 h	≤ 7 dní	> 72 h	> 7 dní	
<i>Escherichia coli</i>	15	26	42	31	<0,001
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10	19	21	12	0,002
Koaguláza-negativní stafylokoky	4	15	27	16	<0,001
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	12	22	13	0,002
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	9	11	7	0,063
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	7	14	9	0,031
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	7	14	8	0,016
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	8	13	6	0,008
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	7	8	4	0,063
<i>Streptococcus agalactiae</i>	8	9	1	0	0,5
<i>Burkholderia cepacia</i> komplex	0	3	8	5	0,125
<i>Citrobacter freundii</i>	1	3	3	1	
<i>Ralstonia pickettii/insidiososa</i>	0	3	4	1	
<i>Pseudomonas putida</i>	0	0	2	2	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	1	2	1	
<i>Klebsiella aerogenes</i>	0	1	2	1	
<i>Enterobacter kobei</i>	0	0	2	2	
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	2	2	
<i>Haemophilus influenzae</i> typ b	1	2	1	0	
<i>Enterobacter asburiae</i>	0	1	2	1	
Ostatní	3	6	5	2	
Mykotická agens	≤ 72 h	≤ 7 dní	> 72 h	> 7 dní	
<i>Candida albicans</i>	3	24	44	23	<0,001
<i>Candida parapsilosis</i>	0	3	7	4	0,125
<i>Candida tropicalis</i>	0	2	5	3	

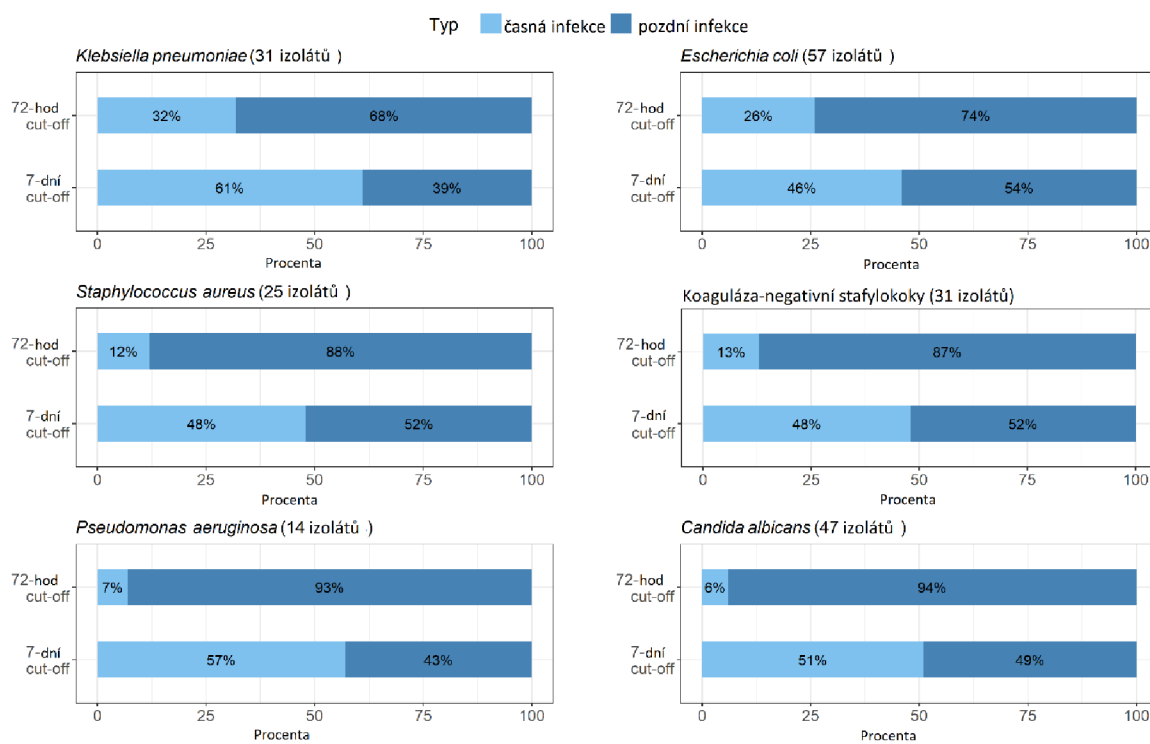
Při použití časového kritéria vzniku příznaků časně infekce do 72 hodin, bylo izolováno celkem 57 patogenů, přičemž nejvíce byly zastoupeny enterobakterie (58 %). Nejčastěji izolovanými druhy byly *Escherichia coli* (26 %) a *Klebsiella pneumoniae* (18 %). V druhém

sledovaném časovém kritériu, tedy časně infekce do prvních 7 dní života, bylo izolováno celkem 139 patogenních bakterií. Převažovaly enterobakterie (47 %) s největším zastoupením *Escherichia coli* (19 %) a *Klebsiella pneumoniae* (14 %), dále pak grampozitivní bakterie (31 %), z nich nejčastěji koaguláza-negativní stafylokoky (11 %) a *Staphylococcus aureus* (9 %).

U pozdních infekcí, klasifikovaných jako infekce vzniklé 3. den po narození (po více než 72 hodinách života), bylo izolováno celkem 206 bakterií. Nejvíce byly zastoupeny enterobakterie (48 %), z nich druhy *Escherichia coli* (20 %) a *Klebsiella pneumoniae* (10 %), následoval *Enterobacter cloacae* (5 %). V tomto časovém období bylo identifikováno 28 % grampozitivních bakterií (koaguláza-negativní stafylokoky v 13 % a *Staphylococcus aureus* v 11 %). Při definici pozdní novorozenecké infekce s nástupem příznaků od 8. dne narození bylo identifikováno 124 bakteriálních patogenů, přičemž nejvyšší četnost byla prokázána v případě *Escherichia coli* (25 %) a *Klebsiella pneumoniae* (10 %).

Při hodnocení časových kritérií vzniku infekcí do 3. dne života (tj. ≤ 72 hodin) a do prvních 7 dní života (≤ 7 dní) se frekvence některých species mění. Je to zřejmé především v případě koaguláza negativních stafylokoků, při použití kritéria ≤ 72 hodin lze pouze 4 infekce z 31 charakterizovat jako časně, ve srovnání s intervalem ≤ 7 dnů kdy je 15 infekcí z 31 časných. Obdobné rozdíly jsou znát i u *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* nebo *Klebsiella pneumoniae* (Obrázek 4). Odlišnost obou časových kritérií lze dokumentovat i u nefermentujících gramnegativních bakterií. Při použití časové hranice 3 dnů (≤ 72 hodin) jsou ze 14 pseudomonádových novorozeneckých infekcí pouze 1 časného typu, ale při aplikaci 7 dnů je 8 interpretováno jako časně. U *Stenotrophomonas maltophilia* lze pozorovat podobnou frekvenci, v případě 3 dnů je ze 7 infekcí s etiologickou rolí této bakterie jen 1 časná, ale u 7 dní je časných 7. V případě kvasinkových infekcí způsobených *Candida albicans* jsou při použití časového kritéria ≤ 72 hodin hodnoceny 3 z 47 infekcí jako časně, zatímco při použití hranice ≤ 7 dní je až 24 infekcí časných.

Obrázek 4: Poměrné zastoupení časných a pozdních infekcí s ohledem na obě časová kritéria (72 hodin a 7 dní) pro *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, koaguláza-negativní stafylokoky, *Pseudomonas aeruginosa* a *Candida albicans*



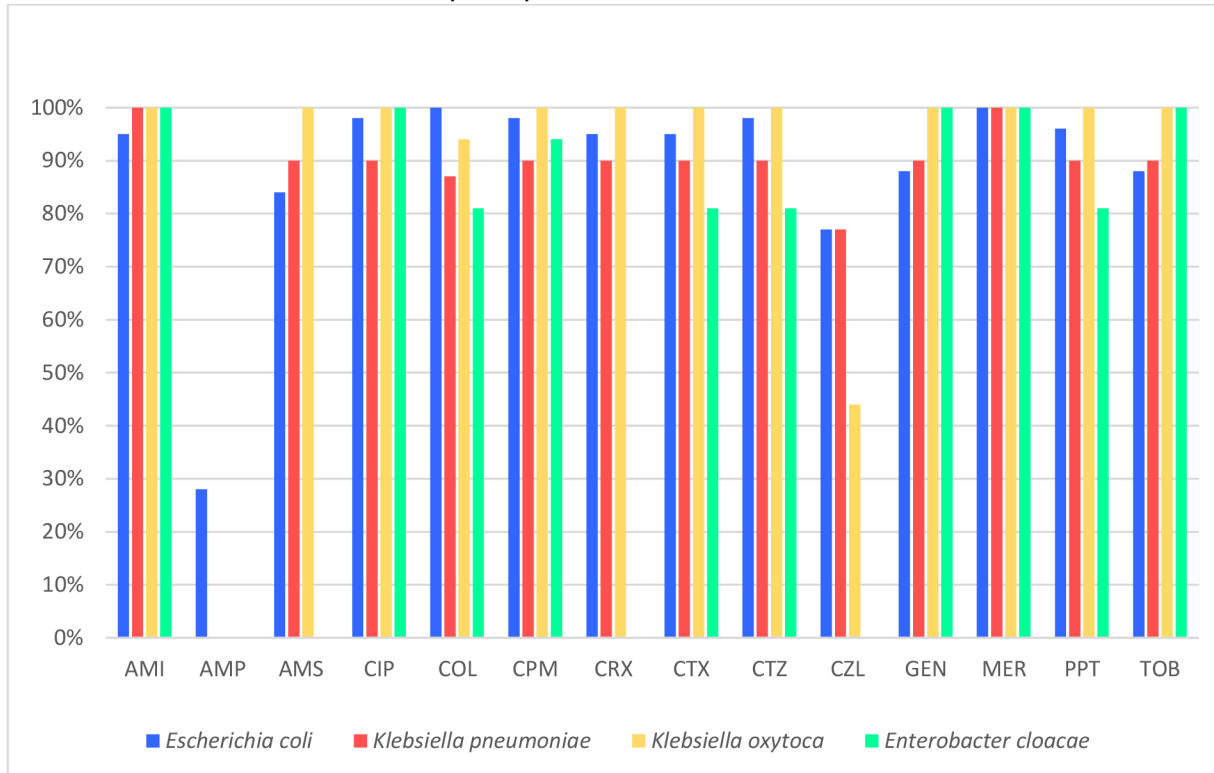
Tabulka 8 charakterizuje monomikrobiální a polymikrobiální charakter infekcí a současně uvádí počet novorozenců, u nichž nebyl bakteriální patogen prokázán. Z výsledků vyplývá, že u 76 % novorozeneckých dětí bylo příčinou infekce pouze jedno bakteriální species, polymikrobiální etiologie byla prokázána v 9 % a u 15 % nebylo prokázáno etiologické agens u dětí s klinickou sepsí.

Tabulka 8: Stanovení etiologie potvrzených nebo podezřelých původců novorozeneckých infekcí

Etiologie potvrzených nebo podezřelých infekcí/rok	2015	2016	2017
Bez prokázaného patogenu	19	23	14
Monomikrobiální etiologie	101	81	94
Polymikrobiální etiologie	12	9	11
Celkem	132	113	119

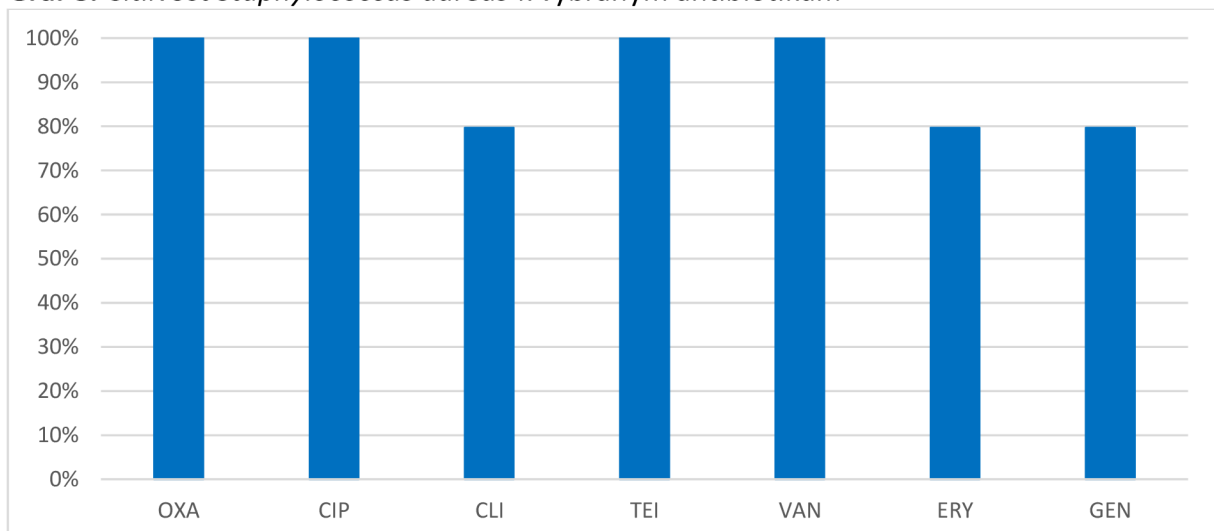
Výsledky citlivostí nejčastěji izolovaných bakteriálních patogenů k antibiotikům jsou uvedeny v Grafech 7-9.

Graf 7: Citlivost enterobakterií k vybraným antibiotikům v letech 2015-2017



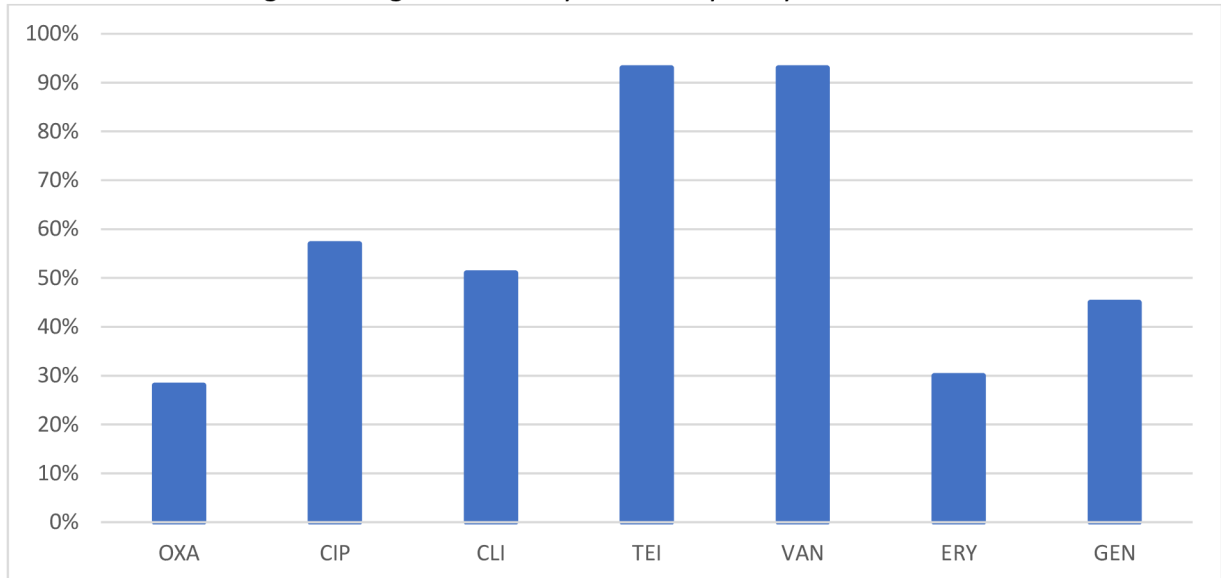
Legenda: AMI – amikacin, AMP – ampicilin, AMS – ampicilin/sulbaktam, CIP – ciprofloxacin, COL – kolistin, CPM – cefepim, CRX – cefuroxim, CTX – cefotaxim, CTZ – ceftazidim, CZL – cefazolin, GEN – gentamicin, MER – meropenem, PPT – piperacilin/tazobactam, TOB – tobramycin

Graf 8: Citlivost *Staphylococcus aureus* k vybraným antibiotikům



Legenda: OXA – oxacilin, CIP – ciprofloxacin, CLI – klindamycin, TEI – teikoplanin, VAN – vankomycin, ERY – erytromycin, GEN – gentamicin

Graf 9: Citlivost koaguláza-negativních stafylokoků k vybraným antibiotikům



Legenda: OXA – oxacilin, CIP – ciprofloxacin, CLI – klindamycin, TEI – teikoplanin, VAN – vankomycin, ERY – erytromycin, GEN – gentamicin

Z gram pozitivních bakterií byl nejčastěji izolován *Staphylococcus aureus*, který byl ve 100 % citlivý k oxacilinu, tudíž methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) nebyl prokázán. Velmi dobrá citlivost byla prokázána v případě ciprofloxacinu, erytromycinu, klindamycinu a glykopeptidů (vankomycinu a teikoplaninu). Vyšší míra rezistence byla dokumentována u koaguláza-negativních stafylokoků, ale s velmi dobrou účinností vankomycinu a teikoplaninu. Izolované kmeny *Enterococcus faecalis* a *Streptococcus agalactiae* byly ve 100 % citlivé k ampicilinu a glykopeptidům. Citlivost k nejčastěji izolovaným bakteriálním kmenům je shrnuta v Tabulkách 9 a 10.

Tabulka 9: Citlivost enterobakterií na vybraná antibiotika (v procentech)

Antibiotikum/patogen	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
AMI	95	100	100	100
AMP	28	0	0	0
AMS	84	90	100	0
CIP	98	90	100	100
COL	100	87	94	81
CPM	98	90	100	94
CRX	95	90	100	0
CTX	95	90	100	81
CTZ	98	90	100	81
CZL	77	77	44	0
GEN	88	90	100	100
MER	100	100	100	100
PPT	96	90	100	81
TOB	88	90	100	100

Legenda: AMI – amikacin, AMP – ampicillin, AMS – ampicillin/sulbaktam, CIP – ciprofloxacin, COL – kolistin, CPM – cefepim, CRX – cefuroxim, CTX – cefotaxim, CTZ – ceftazidim, CZL – cefazolin, GEN – gentamicin, MER – meropenem, PPT – piperacillin/tazobaktam, TOB – tobramycin

Tabulka 10: Citlivost *Staphylococcus aureus* a koaguláza negativních stafylokoků na vybraná antibiotika (v procentech)

Antibiotikum/patogen	<i>Staphylococcus aureus</i>	koaguláza negativní stafylokoky
OXA	100	28
CIP	100	57
CLI	80	51
TEI	100	93
VAN	100	93
ERY	80	30
GEN	80	45

Legenda: OXA – oxacillin, CLI – klindamycin, TEI – teikoplanin, VAN – vankomycin, ERY – erythromycin

Z výsledků vyplývá relativně dobrá citlivost nejčastěji izolovaných enterobakterií (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* a *Klebsiella oxytoca*) k antibakteriálním přípravkům, s výjimkou ampicilinu a cefazolinu. Produkce širokospektrých betalaktamáz (ESBL a AmpC) byla prokázána u osmi kmenů, tedy u 6 % z izolovaných

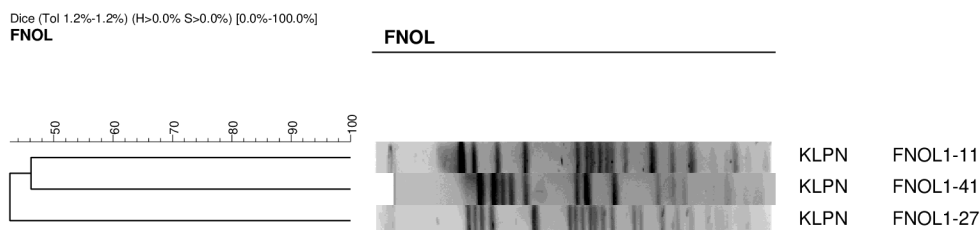
enterobakterií (Tabulka 11). Všech těchto 8 kmenů bylo izolováno od dětí, u kterých došlo k rozvoji infekce 4. den života. Rezistence k meropenemu zaznamenána nebyla.

Tabulka 11: Enterobakterie produkující širokospektré betalaktamázy

Agens	Počet izolátů	Typ širokospektré betalaktamázy
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	ESBL - CTX-M-15
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	ESBL - CTX-M-9
<i>Escherichia coli</i>	2	ESBL - CTX-M-15
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	AmpC - EBC
<i>Citrobacter freundii</i>	1	AmpC - CIT

Na základě provedení pulzní gelové elektroforézy u 3 izolátů *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15 a 2 izolátů *Escherichia coli* CTX-M-15 bylo prokázáno, že všechny kmeny mají unikátní restriční genetický profil a nejedná se tak o klonální šíření (Obrázek 5 a 6).

Obrázek 5: PFGE u 3 kmenů *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15



Obrázek 6: PFGE u 2 kmenů *Escherichia coli* CTX-M-15



4.3. Bakteriální komplikace u pacientů s karcinomem jícnu

Do souboru bylo zařazeno celkem 14 nemocných operovaných v roce 2020, z toho 12 mužů (86 %) a 2 ženy (14 %). Průměrný věk pacientů byl 61 roků. V osobní anamnéze nemocných celkem 7 kouřilo (50 %), abúzus alkoholu přiznali 2 (14 %). BMI pacientů se pohyboval v rozmezí 16-30 s průměrem 24. Z interních komorbidit v anamnéze dominovala hypertenzní nemoc u 6 pacientů, DM byl přítomen u 2, CHOPN u 1 nemocného. Adenokarcinom byl prokázán u 13 (93 %) nemocných, spinocelulární karcinom u 1 (7 %) nemocné. Dle lokalizace byl tumor ve 4 (29 %) případech lokalizovaný ve středním jícnu, v 10 (71 %) v oblasti distálního jícnu a gastroezofageální junkce. Neoadjuvantní radiochemoterapii podstoupilo 12 (86 %) nemocných.

V sledovaném souboru 14 pacientů došlo u 5 (36 %) k rozvoji bakteriální pneumonie, přičemž u 3 (21 %) byl klinický stav komplikován respiračním selháním s ARDS a současně rozvojem píštěle v místě operačního výkonu nebo abscesu v hlubokém krčním prostoru (tabulka 12). U dalších tří pacientů byl zaznamenán vznik fluidotoraxu. Doba hospitalizace byla od 13 do 92 dnů. Jeden nemocný v souboru exitoval. Jako bakteriální patogeny byly prokázány kmeny *Acinetobacter johnsonii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* a *Enterococcus faecium*. U jednoho pacienta byl stav komplikován i mykotickou infekcí vyvolanou kmenem *Candida krusei*. V případě pneumonií se u dvou pacientů jednalo o polymikrobiální infekci, u dalších dvou o monomikrobiální a u jednoho pacienta nebylo etiologické agens identifikováno. V antibiotické léčbě bakteriálních komplikací převažovala beta-laktamová antibiotika (amoxicilin/kys. klavulanová, piperacilin/tazobaktam, meropenem, ceftazidim). Lze konstatovat, že u tří pacientů nasazená iniciální antibiotická léčba byla současně finální a délka antibioterapie nepřesáhla 8 dní. U dvou pacientů však bylo nutné modifikovat iniciální léčbu v souladu s výsledky mikrobiologických vyšetření, přičemž u jednoho z nich došlo k rozvoji sepse, ARDS a finálně k úmrtí. U dvou pacientů vycházela iniciální antibiotická léčba komplikující pneumonie z výsledků bakteriální surveillace, resp. z detekce možných etiologických agens ve stěrech z horních cest dýchacích provedených před operačním výkonem. U jednoho z nich byl prokázán výskyt bakteriálního kmene *Acinetobacter johnsonii* ve stěru z nosohltanu před operačním výkonem a rozvojem pneumonie, následně bylo toto species izolováno z endotracheálního sekretu (Tabulka 12).

Tabulka 12: Výsledky mikrobiologických vyšetření a antibiotická léčba

Pacient	HCD před operačním výkonem	DCD po operačním výkonu				Bakteriální komplikace	Antibiotická léčba	Úspěšnost léčby
		1. týden	2. týden	3. týden	4. týden			
PS	<i>A. johnsonii</i>	Negativní	<i>A. johnsonii</i>	negativní	negativní	pneumonie absces	piperacilin/tazobaktam + metronidazol 4 dny piperacilin/tazobaktam další 4 dny	ano
MB	FF	Negativní	negativní	negativní	negativní	pneumonie	amoxicilin/kys. klavulanová 6 dní	ano
EM	FF	<i>E. cloacae</i>	<i>E. cloacae</i>	negativní	negativní	pneumonie	piperacilin/tazobaktam 7 dní	ano
ZF	<i>E. coli</i>	<i>E. cloacae</i> AmpC+	negativní	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i> <i>B. multivorans</i>	pneumonie píštěl	amoxicilin/kys. klavulanová 1 den meropenem + kolistin 8 dní tigecyklin 9 dní linezolid + ceftazidim 7 dní	ano
MO	FF	<i>S. marcescens</i> <i>P. aeruginosa</i>	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i> <i>C. krusei</i>	<i>S. maltophilia</i> <i>C. krusei</i>	pneumonie píštěl	meropenem 9 dní kotrimoxazol + tigecyklin + mikafungin 14 dní	ne/exitus
MM	FF	Negativní	negativní	negativní	negativní	fluidotorax	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
MH	FF	Negativní	negativní	negativní	negativní	Negativní	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
PB	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	Negativní	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
VS	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	Negativní	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
JP	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	Negativní	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
MK	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	Negativní	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
JŘ	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	fluidotorax	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
TN	<i>K. pneumoniae</i>	negativní	negativní	negativní	negativní	Negativní	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
MŠ	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	fluidotorax	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano

V případě jednoho patogenního kmene *Enterobacter cloacae* byla prokázána produkce AmpC beta-laktamáz DHA typu a tento kmen lze charakterizovat jako multirezistentní. Ostatní izolované bakteriální patogeny vykazovaly standardní antibiotickou citlivost/rezistenci odpovídající příslušnému species a nenaplnovaly definici multirezistentních kmenů.

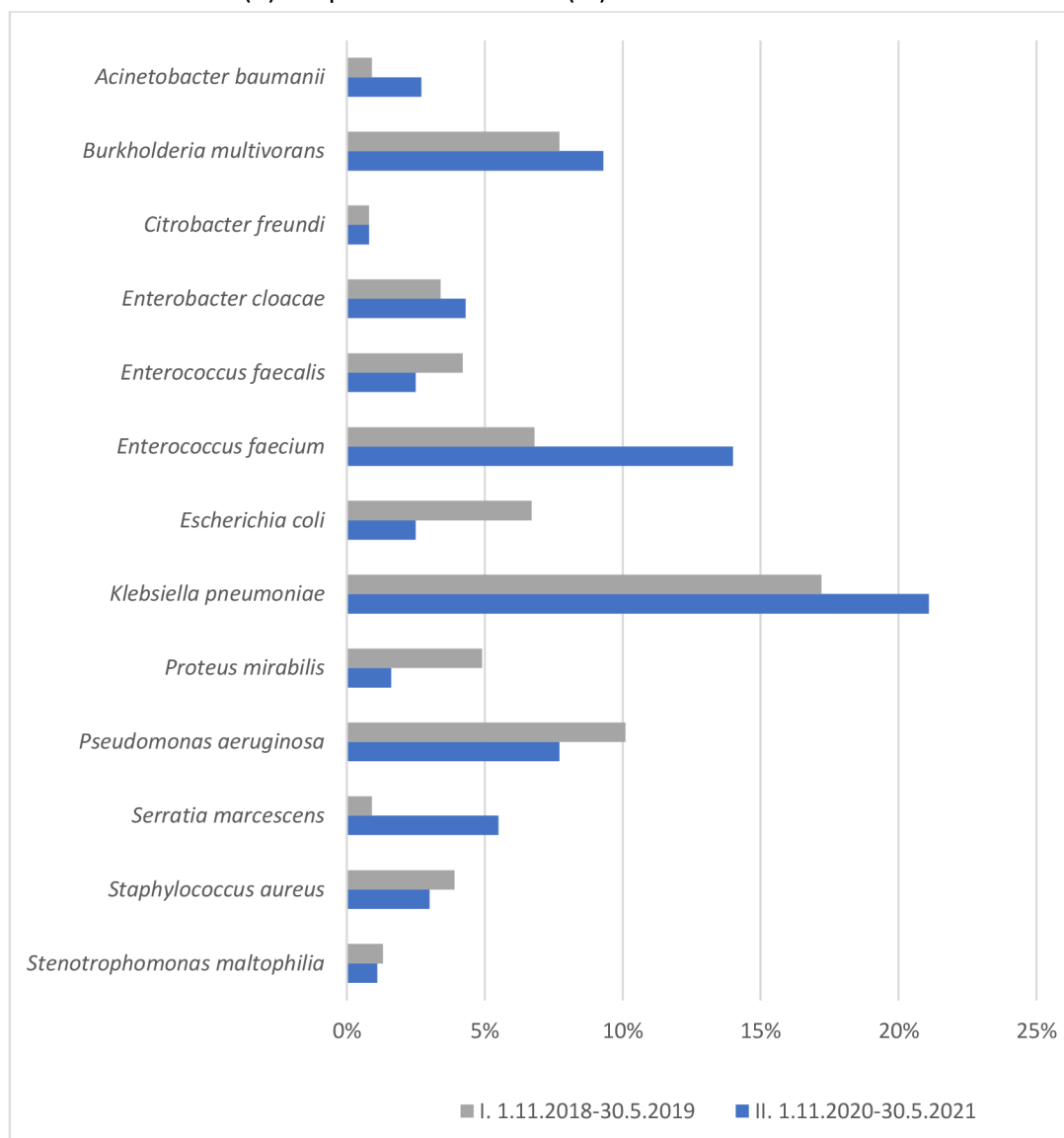
4.4. Bakteriální rezistence ve vztahu ke Covid-19

V průběhu šesti měsíců od 1.11.2018 do 30.4.2019 bylo ve FNOL hospitalizováno 189 pacientů s kritickým stupněm Covid-19 na Klinice anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny (KARIM). Průměrný věk v souboru byl 63 let (medián 65; min 18, max 97). Mužů bylo 136 (72 %), žen 53 (28 %). Na UPV bylo 97% pacientů, na HFNOT (High Flow Nasal Oxygen Therapy) 5 %. Dva pacienti (1 %) měli neinvazivní ventilaci (NIV). 43 % pacientů bylo přijato na KARIM do 48 hod po příjezdu do nemocnice, 57 % pacientů bylo na KARIM přeloženo z jiných oddělení nebo jiného zdravotnického zařízení po více než 48 hodinách hospitalizace. Mortalita souboru pacientů během pobytu činila 39 %. Vykultivováno bylo 789 bakteriálních izolátů. Nejčastějšími etiologickými agens způsobujícími nozokomiální infekce, především nozokomiální pneumonie, infekce močového ústrojí a sepse byly kmeny *Klebsiella pneumoniae* (17 %), *Pseudomonas aeruginosa* (10 %), *Burkholderia multivorans* (8 %), *Escherichia coli* (7 %) a *Enterococcus faecium* (7 %).

Ve srovnatelném období v době koronavirové pandemie, tedy od 1.11.2020 do 30.4.2021, bylo na KARIM FNOL hospitalizováno 372 pacientů. V tomto období zde byli hospitalizováni pouze pacienti pozitivní na SARS-CoV-2. Průměrný věk v souboru byl 64 let (median 67; min 22, max 90). Mužů bylo 241 (65 %), žen 131 (35 %). Na UPV bylo 67 % pacientů, HFNOT 76 %, téměř polovina pacientů tj. 46 % měla současně HFNOT i UPV. NIV mělo 15 pacientů, ale pouze po dobu několika hodin. Mortalita do propuštění činila 43 %. Celkem bylo izolováno 1 500 bakteriálních kmenů a je zřejmé, že došlo k částečné změně pořadí nejčastějších etiologických agens na KARIM, a to v následujícím sledu: *Klebsiella pneumoniae* (21 %), *Enterococcus faecium* (14 %), *Burkholderia multivorans* (9 %), *Pseudomonas aeruginosa* (8 %) a *Serratia marcescens* (6 %). Změny procentuálního zastoupení bakteriálních kmenů v době Covid-19 oproti srovnatelnému období před koronavirovou pandemií ukazuje Graf 10. Markantní nárůst lze vidět především u druhu *Enterococcus*

faecium (ze 7 % na 14 %) a *Serratia marcescens* (z 1 % na 6 %), u druhu *Escherichia coli* je naopak patrný pokles (ze 7 % na 3 %).

Graf 10: Procentuální zastoupení nejčastěji izolovaných bakteriálních agens na KARIM před Covid-19 (I.) a v průběhu Covid-19 (II.)



Tabulky 13, 14 a Graf 11 dokumentují rezistenci bakteriálních patogenů k antibiotikům v době před a během koronavirové pandemie. Výsledky ukazují, že u některých species došlo k významnému nárůstu rezistence v kovidové době. V případě *Serratia marcescens* se zvýšila rezistence k cefalosporinům III. generace (cefotaxim, ceftazidim) ze 14 % na 70 %, u ciprofloxacinu z 0 % na 67 %, gentamicinu z 0 % na 69 % a kotrimoxazolu z 0 % na 71 %. Vzestup rezistence k cefalosporinům III. generace (33 % vs. 68 %) byl rovněž zaznamenán u *Enterobacter cloacae*. V době pandemie Covid-19 se zvýšila frekvence methicillin-

rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* (0 % vs. 7 %) a současně rezistence k ciprofloxacinu (0 % vs. 9 %). V případě *Stenotrophomonas maltophilia* byl prokázán vzestup rezistence ke kolistinu (50 % vs. 88 %). Naopak u jiných bakteriálních agens rezistence klesla, např. rezistence *Pseudomonas aeruginosa* k meropenemu poklesla z 51 % na 22 %, pokles byl zaznamenán i v případě *Burkholderia multivorans* (29 % vs. 2 %) a *Acinetobacter baumannii* (71 % vs. 0 %). U kmenů *Escherichia coli* klesla rezistence k ciprofloxacinu (51 % vs. 39 %), gentamicinu (19 % vs. 0 %), kotrimoxazolu (51 % vs. 29 %) a tigecyklinu (9 % vs. 0 %). V případě *Staphylococcus aureus* došlo k poklesu rezistence k erytromycinu a klindamycinu (42 % vs. 24 %, resp. 27 %).

Z výsledků lze rovněž vyplývá, že přes výrazný nárůst počtu izolovaných kmenů některých species (*Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*), poměr rezistentních kmenů zůstal v obou obdobích stejný. Izoláty *Enterococcus faecalis* zůstaly 100% citlivé k ampicilinu, vankomycinu, teikoplaninu a tigecyklinu v obou sledovaných obdobích.

Tabulka 13. Rezistence gramnegativních bakterií před Covid-19 (I.) a v průběhu Covid-19 (II.) v procentech

	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.
Bakteriální druh (počet izolátů v I. a II. časovém období)	AMS		CRX		CTX		CTZ		CPM		PPT		MER	
<i>E. coli</i> (53; 38)	50	50	45	39	42	39	42	39	42	39	40	32	0	0
<i>K. pneumoniae</i> (135; 316)	84	87	80	81	79	79	79	78	79	78	80	81	2	0
<i>E. cloacae</i> (27; 65)	100	100	44	100	33	69	33	68	22	42	33	68	0	0
<i>C. freundii</i> (6; 12)	100	100	50	100	50	25	50	25	0	0	50	25	0	0
<i>S. marcescens</i> (7; 82)	100	100	100	100	14	70	14	70	0	70	14	68	0	0
<i>P. aeruginosa</i> (80; 115)	100	100	100	100	100	100	16	21	19	25	28	31	51	22
<i>B. mutivorans</i> (59; 139)	100	100	100	100	100	100	5	1	5	3	100	100	29	2
<i>S. maltophilia</i> (10; 16)	100	100	100	100	100	100	40	56	100	100	100	100	100	100
<i>A. baumannii</i> (7; 40)	71	0	100	100	100	100	71	0	71	0	71	0	71	0
Bakteriální druh (počet izolátů v I. a II. časovém období)	TIG		COT		GEN		AMI		CIP		COL			
<i>E. coli</i> (53; 38)	9	0	51	29	19	0	2	8	51	39	0	0		
<i>K. pneumoniae</i> (135; 316)	7	7	83	87	75	74	1	1	82	76	4	4		
<i>E. cloacae</i> (27; 65)	7	2	33	34	15	29	0	0	30	40	0	3		
<i>C. freundii</i> (6; 12)	0	0	0	0	0	17	0	0	17	0	0	0		
<i>S. marcescens</i> (7; 82)	14	100	0	71	0	69	0	9	0	67	100	100		
<i>P. aeruginosa</i> (80; 115)	100	100	100	100	23	23	9	0	30	26	3	2		
<i>B. mutivorans</i> (59; 139)	7	4	0	0	100	100	100	100	100	100	100	100		
<i>S. maltophilia</i> (10; 16)	0	0	22	0	100	100	100	100	70	100	50	88		
<i>A. baumannii</i> (7; 40)	0	0	71	0	71	0	71	0	71	8	0	0		

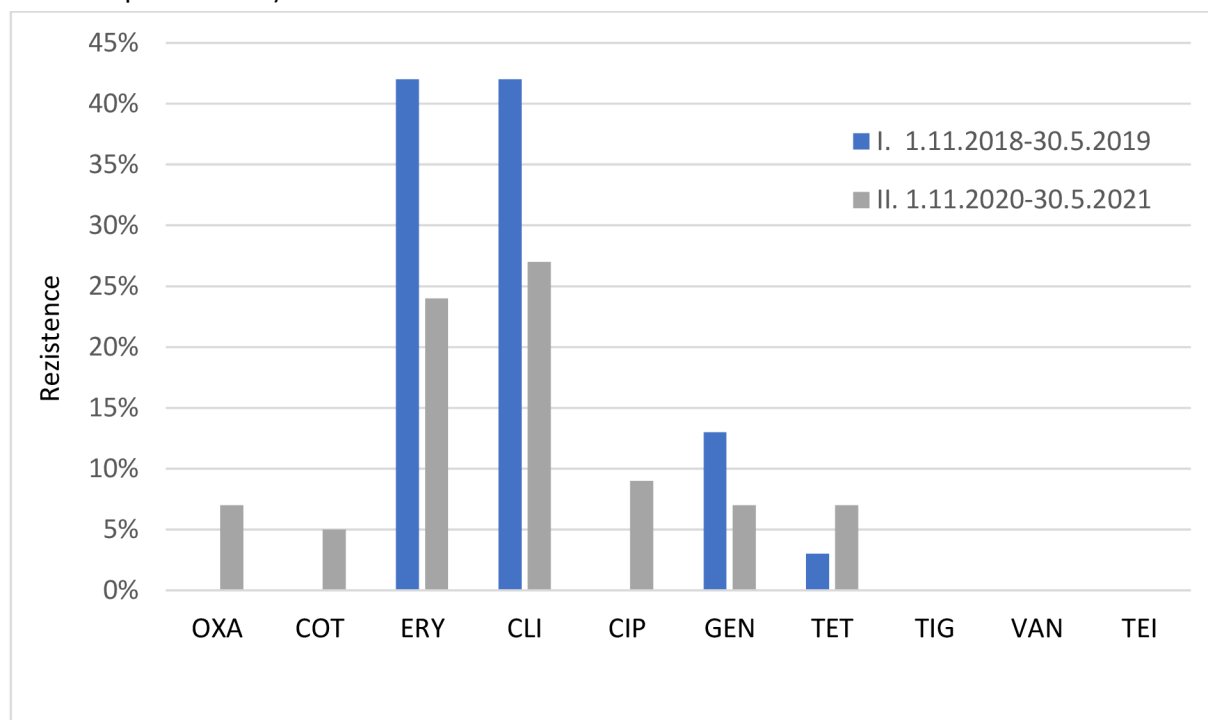
Legenda: I. časové období 1.11.2018-30.4.2019, II. časové období 1.11.2020-30.4.2021, AMS—ampicilin/sulbaktam, CRX – cefuroxim, CTX—cefotaxim, CTZ – ceftazidim, CPM – cefepim, PPT—piperacillin/tazobaktam, MER—meropenem, TIG—tigecyklin, COT – kotrimoxazol, GEN—gentamicin, AMI—amikacin, CIP—ciprofloxacin, COL—kolistin

Tabulka 14: Rezistence enterokoků před Covid-19 (I.) a v průběhu Covid-19 (II.) v procentech

Bakteriální druh (počet izolátů v I. a II. časovém období)	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.
	AMP		TIG		TEI		VAN	
<i>E. faecalis</i> (33; 38)	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>E. faecium</i> (54; 210)	100	100	13	0	19	17	17	18

Legenda: I. časové období 1.11.2018-30.4.2019, II. časové období 1.11.2020-30.4.2021, AMP – ampicillin, TIG—tigecyklin, TEI – teikoplanin, VAN—vancomycin

Graf 11: Rezistence *Staphylococcus aureus* před Covid-19 (I.) a v průběhu Covid-19 (II.) (v procentech)



Legenda: OXA—oxacillin, COT – kotrimoxazol, ERY – erytromycin, CLI – klindamycin, CIP—ciprofloxacin, GEN—gentamicin, TET – tetracyclin, TIG—tigecyklin, TEI – teikoplanin, VAN—vancomycin

Spotřeba antibakteriálních přípravků v obou obdobích je uvedena v Tabulce 15. V době pandemie Covid-19 došlo k výraznému poklesu aplikace gentamicinu a kombinovaných aminopenicilinů (amoxicilin/kys. klavulanová, ampicilin/sulbaktam) a cefuroximu. Naopak výrazné navýšení aplikace je zřejmé u cefotaximu, linezolidu a kolistinu.

Tabulka 15: Spotřeba antibakteriálních přípravků v době předkovidové (I.) a kovidové (II.)

Antibiotikum	I. Abs. počet	I. procento	II. Abs. počet	II. procento
meropenem	703	19,6	1427	19,3
piperacilin/tazobaktam	301	8,4	570	7,7
amoxicilin/kys. klavulanová	299	8,3	262	3,5
klarithromycin	294	8,2	641	8,7
tigecyklin	270	7,5	565	7,6
gentamicin	250	7,0	33	0,4
metronidazol	237	6,6	402	5,4
sulfamethoxazol/trimethoprim (kotrimoxazol)	217	6,0	370	5,0
ampicilin/sulbaktam	130	3,6	53	0,7
ciprofloxacín	124	3,5	150	2,0
amikacin	115	3,2	376	5,1
vankomycin	103	2,9	169	2,3
ceftazidim	101	2,8	206	2,8
linezolid	28	0,8	179	2,4
kolistin	62	1,7	229	3,1
cefotaxim	60	1,7	1487	20,1
cefuroxim	60	1,7	10	0,1
ostatní	234	6,5	267	3,8

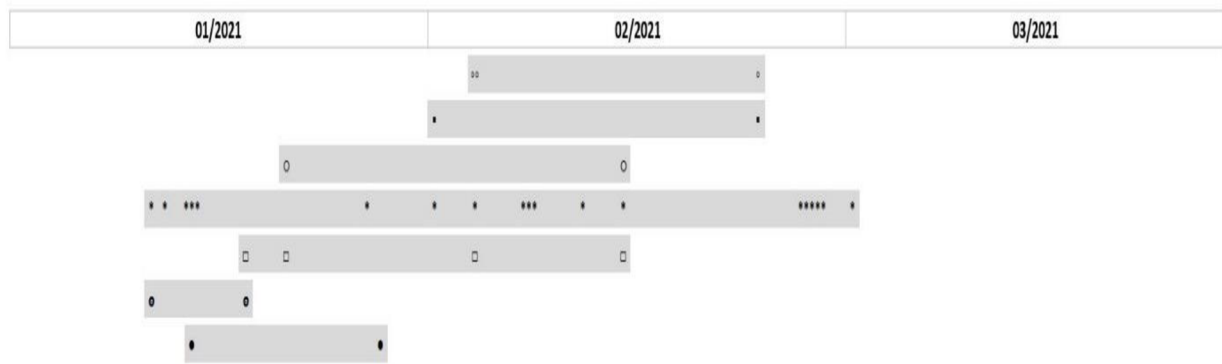
Legenda: I. časové období 1.11.2018-30.4.2019, II. časové období 1.11.2020-30.4.2021

Analýza PFGE odhalila rozdíly mezi soubory kmenů z předkovidového a kovidového období. Všechny analyzované kmeny *Klebsiella pneumoniae* z předkovidového období měly jedinečný restriční profil. Z kovidového období bylo porovnáno celkem 41 kmenů *Klebsiella pneumoniae* a mezi nimi odhaleno 14 pulstypů. Pouze 7 (17 %) kmenů mělo jedinečný restriční profil, zbývajících 34 bylo na základě porovnání rozděleno do 7 skupin. Nejpočetnější klastr

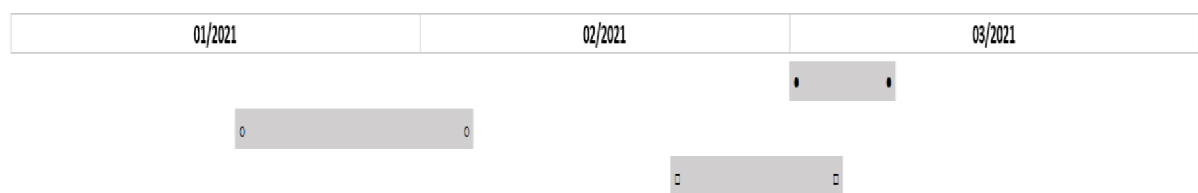
zahrnoval 19 izolátů s koeficientem podobnosti (CS) větším než 95 %, které tak lze považovat za identické. Dále byla odhalena skupina 4 shodných izolátů, skupina 3 shodných izolátů a čtyři dvojice identických izolátů (CS >95-100 %). Mezi 7 analyzovanými izoláty *Serratia marcescens* byly tři dvojice identických izolátů (CS >95-100 %) a jeden jedinečný kmen. Z 25 izolátů *Burkholderia multivorans* patřilo 20 (80 %) k RAPD typu I.

Z výsledků je zřejmé, že v době pandemie Covid-19 docházelo ke klonálnímu šíření, jak prokazují časové osy u některých patogenů (Obrázek 7 a 8).

Obrázek 7: Časová osa prevalence izolátů *Klebsiella pneumoniae* ve sledovaném období. Šedé obdélníky představují 7 klonálních skupin *Klebsiella pneumoniae* na základě jejich podobnosti (jednotlivé izoláty jsou zastoupeny znaky ◦*◦*◻◻◻)



Obrázek 8: Časová osa prevalence izolátů *Serratia marcescens* ve sledovaném období. Šedé obdélníky představují 7 klonálních skupin *Serratia marcescens* na základě jejich podobnosti (jednotlivé izoláty jsou zastoupeny znaky ◻◻◻).



5 Diskuze

Díky stoupajícímu trendu v četnosti multirezistentních bakteriálních kmenů, který úzce souvisí s vyšší morbiditou a mortalitou, jsou možnosti adekvátní antibiotické léčby infekcí, především u pacientů v intenzivní péči, stále více limitovány. Problém bakteriální rezistence je tak nutné řešit na základě interdisciplinárního přístupu mnoha lékařských specializací. Základním předpokladem je úzká spolupráce všech zdravotnických pracovníků s cílem zachovat účinnost antibiotik. Pokud vyjdeme z předpokladu, že v současné medicíně není možné obejít se bez antibiotik, pak je nutné změnit přístup také k problematice bakterií, bakteriálních infekcí a antibiotické léčby.

Možnosti řešení lze stručně definovat následujícími body:

- adekvátní identifikace bakteriálních patogenů a správná interpretace mikrobiologických výsledků,
- hodnocení výskytu frekvence bakteriálních původců u jednotlivých infekcí či infekčních komplikací,
- správné stanovení bakteriální rezistence k antibiotikům podle všech nutných kritérií a za definovaných pravidel,
- racionální aplikace antibakteriálních přípravků, včetně uplatňování zásad deeskalačního postupu, omezení širokospektré antibioterapie, pokud je znám původce a zkrácování délky antibiotické léčby,
- důrazné dodržování hygienicko-epidemiologických režimů,
- aktivní sledování frekvence bakteriálních patogenů a vývoje jejich rezistence k antibiotikům,
- tvorba schémat antibiotické léčby konkrétních bakteriálních infekcí na základě lokálních informací,
- využívání molekulárně-genetických metodik a na jejich základě racionální posouzení zdrojů a cest šíření multirezistentních bakterií,
- vývoj nových antibakteriálních léčiv,
- zajištění informovanosti odborné i laické veřejnosti o problému stoupající odolnosti bakteriálních patogenů k antibiotické léčbě a klesajícím počtu vhodných léčivých přípravků.

Příspěvkem k řešení závažné problematiky bakteriální rezistence je i předložená disertační práce, které se zabývá některými aspekty souvisejícími s uvedeným tématem.

5.1. Charakterizace enterokokových infekcí

Podle amerického surveillance systému NHSN (National Healthcare Safety Network) byly v letech 2011-2014 enterokokové infekce druhou nejčastější nozokomiální nákazou (60). Fiore a kol. dodávají, že enterokoky způsobují 14 % nozokomiálních infekcí a 5-20 % komunitních infekcí (61). Jako nejčastěji se vyskytující druhy Fisher a kol. uvádějí *Enterococcus faecalis* (63 %) a *Enterococcus faecium* (28 %). Podobné výsledky publikovali Wang a kol., kteří uvádějí, že enterokoky jsou zodpovědné za 10 % infekcí novorozenců a nejvíce zastoupeny jsou druhy *Enterococcus faecalis* (72 %) a *Enterococcus faecium* (10 %) (62, 63). V období let 2015-2019 bylo ve FNOL izolováno 8 239 klinicky významných kmenů enterokoků, přičemž se jednalo převážně o druhy *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*. V letech 2015 a 2016 je zřejmý vysoký podíl enterokoků (39 %), které nebyly druhově identifikovány. Tato okolnost byla způsobena technickými a organizačními opatřeními, které se v polovině roku 2016 změnily se zavedením rutinního používání identifikačního systému MALDI-TOF. Lze předpokládat, že poměr zastoupení jednotlivých druhů byl i v těchto letech podobný jako v letech následujících (2017-2019), kdy zastoupení druhu *Enterococcus faecalis* činilo 66 % a v případě *Enterococcus faecium* 29 %.

Enterokoky byly nejčastěji izolovány z moče (35 %), stěru z urogenitální oblasti (17 %) a stěru z ran (17 %). Močové infekce a infekce v urogenitální oblasti s enterokokovou etiologií jsou velmi časté. Yadav a kol. ve své práci udávají vysoký výskyt (70 %) enterokoků v moči, podobně jako Kanthisheree a kol. (72 %) (64, 65). Jak uvádějí Kreft a kol., enterokoky využívají plasmidem kódované agregační substance, adheziny a povrchové proteiny, které jim umožní adherovat na buňky renálního epitelu a přežít na nich. Zároveň jsou enterokoky schopné růst ve formě biofilmu, přežít na umělých materiálech a podílet se na vzniku katérových infekcí (66). Garg a kol. ve své práci uvádějí, že enterokoky se podílely jako původci u 6 % katérových infekcí (67). V této studii byl podíl enterokoků u katérových infekcí stanoven na 3 %.

Při srovnání klinik FNOL bylo nejvíce enterokokových infekcí na klinice Porodnicko-gynekologické (16 %) a Hemato-onkologické (11 %). U pacientů Hemato-onkologické kliniky se ve FNOL aplikuje aktivní screening bakteriálních kmenů se závažnými fenotypy antibiotické

rezistence, včetně VRE, který probíhá pomocí inokulace biologického materiálu na vyhledávací půdy (Chromogenní půdy Brillance, Oxoid Česká republika, Brno) a případné kolonie jsou následně dále vyšetřovány. Tím je způsoben vyšší záchyt nosičských enterokoků, včetně VRE z krku a stolice, které by u jiných pacientů byly zahrnuty do fyziologické flóry (enterokoky z GIT se v běžné populaci druhově neurčují a netestují na rezistenci k antibiotikům). Není proto nijak překvapující, že nejvíce kmenů enterokoků bylo izolováno od hemato-onkologických pacientů.

Z výsledků je patrné, že u pacientů do 50 let je podíl enterokokových infekcí nízký (pod 10 %). S věkem četnost infekcí způsobených enterokoky stoupá. Ve věku 51-60 let je podíl enterokokových infekcí 12 % a v kategorii 61-70 let 21 %. Od věku 71 let podíl klesá na 19 % a od 81 let na 10 %. Odlišné výsledky enterokokových infekcí ve věkových skupinách pacientů publikovali Yadav a kol. kteří uvádějí nejčastější výskyt (23 %) u pacientů mezi 20-30 lety, mezi 30-60 lety pak 15 % a následné snižování od 60 let na 7-6 % (64). Tento rozdíl je způsoben nejspíše různou socioekonomickou situací pacientů a zároveň odlišným typem nemocničního zařízení.

Problematika bakteriální rezistence k antibiotikům, včetně rezistence enterokoků, představuje v posledních letech závažný problém epidemiologický, terapeutický i ekonomický (68). V roce 2013 označila CDC (Centers for Disease Control and Prevention) VRE jako vážnou hrozbu a doporučila kroky vedoucí k jejich zvýšené kontrole a prevenci (60). Studie Evropského střediska pro kontrolu a prevenci infekcí (ECDC) odhadla, že počet infekcí a mortalita asociovaná s VRE se mezi lety 2007-2015 téměř zdvojnásobila (69).

Nejčastější výskyt VRE byl ve FNOL zjištěn ve stolici (44 %). Enterokoky ve stolici jsou přirozenou součástí mikroflóry, nicméně 244 vankomycin-rezistentních kmenů ze stolice (3 % všech enterokoků) bylo shledáno jako klinicky významných na základě provádění aktivního screeningu u hemato-onkologických pacientů. Z horních cest dýchacích bylo izolováno 18 % VRE a 15 % z moče.

Gambarotto a kol. ve své prospektivní studii sledovali prevalenci kolonizujících kmenů VRE v gastrointestinálním traktu u hematologicky nemocných pacientů. Uvádají, že až 37 % hematologických pacientů byli nosiči VRE (70). Dle jiné souhrnné studie, čítající 45 zdrojů a posuzující přes 8 000 pacientů s malignitou, se kolonizace VRE v GIT pohybovala okolo 20 %. (71). Podobné výsledky prezentují i Yoon a kol., kteří se zaměřili na kolonizaci trávicího traktu u pacientů na jednotkách intenzivní péče. U 37 % těchto pacientů izolovali kmeny VRE v rektálních střezech (72). Gedik a kol. ve své práci uvádějí, že kolonizace rekta kmeny VRE je významným

faktorem při možném výskytu následné bakteriémie (73). Jejich výsledky dokumentují, že u 40 % hematologických pacientů došlo ke kolonizaci VRE a u 4 % se následně rozvinula bakteriémie vyvolaná těmito kmeny. V případě hemato-onkologických pacientů v naší studii činila prevalence VRE v GIT 7 %, přičemž se jednalo pouze o kmeny *Enterococcus faecium* s fenotypem VanA. (74). Aktivní screening VRE v gastrointestinálním traktu aplikovaný na našem pracovišti je velmi žádoucí. Bylo prokázáno, že VRE jakožto součást mikrobioty GIT mohou vlivem chemoterapie translokovat do krve a případně dalších systémů, kde mohou především u imunosuprimovaných pacientů vyvolat závažnou infekci (75). O'Driscoll ve své práci uvádějí, že nejvíce kolonizujících kmenů VRE se vyskytuje v gastrointestinálním a urogenitálním traktu (76). Zvýšené riziko kolonizace VRE se objevuje při imunosupresi, hematologických malignitách, transplantaci orgánů a při dlouhodobých pobytech na jednotkách intenzivní péče. Dále ve své práci uvádějí, že hlavní příčinou infekcí močových cest spojených se zdravotní péčí jsou právě VRE (76).

V Evropě je v případě VRE nejčastěji se vyskytující fenotyp VanA (77). To potvrzuje i genetická analýza VRE v naší nemocnici, kdy u všech testovaných izolátů byl přítomen gen *vanA*. Naše hodnoty jsou shodné s výsledky srbské studie z roku 2018, kde Jovanović a kol. posuzovali VRE izolované z orofaryngu a stolic hemato-onkologických pacientů. Jejich výsledky rovněž prokázaly přítomnost *vanA* genu a nulový výskyt genu *vanB* (78). V rámci molekulární typizace výsledky ukazují, že v 67 % případech testovaných izolátů VRE, došlo ke klonálnímu šíření. Analýzou restričních profilů jednotlivých klonů byly zjištěny klonální skupiny čítající od 2 do 12 kmenů získaných vždy od konkrétního pacienta. Z výsledků vyplývá, že nebyl potvrzen jedinečný epidemiologický klon, který by se šířil na HOK po delší časové období. Výskyt jednotlivých epidemiologických klonů byl ohraničen časovým intervalem 1-8 měsíců. Jedním z rizikových faktorů kolonizace je dlouhodobá hospitalizace pacientů a pobyt na společném pokoji v kombinaci se schopností enteroků přetrvávat v nemocničním prostředí (29). Právě malé skupiny klonů, odhalené na HOK, zjištěné u dvou resp. tří pacientů naznačují jejich šíření mezi pacienty, kteří byli hospitalizováni v témže časovém období. K možným cestám přenosu patří ruce pacientů i ošetřujícího personálu, případně i ruce rodinných příslušníků v době návštěv nemocného.

Léčba enterokokových infekcí může představovat problém z důvodu jejich rezistence k celé řadě antibiotik. Největším úskalím je iniciální antibiotická terapie, kdy ještě není známo etiologické agens a ani jeho citlivost k antibiotikům. Ošetřující lékař musí vycházet především

z informací týkajících se pacienta (věk, komorbidity, celkový stav, předchozí hospitalizace a antibiotická léčba), konkrétní infekce (lokalita, rozsah) a epidemiologických dat daného zdravotnického zařízení, resp. oddělení. K tomu slouží právě epidemiologické přehledy tohoto typu pomáhající při rozhodování o iniciální antibiotické terapii.

Vzhledem ke skutečnosti, že většina infekcí je způsobena druhem *Enterococcus faecalis*, který je citlivý k aminopenicilinům a ve FNOL nebyl v posledních pěti letech zachycen ani jeden kmen tohoto species rezistentní k vankomycinu, může být antibiotická terapie zahájena aminopeniciliny, v případě těžších infekcí v kombinaci s gentamicinem. Alternativně lze uvažovat o penicilinových přípravcích s inhibitory bakteriálních beta-laktamáz (amoxicilin/kys.klavulanová, ampicilin/sulbaktam, piperacilin/tazobaktam), v případě nekomplikovaných cystitid může být použit nitrofurantoin či fosfomycin. U nitrobřišních infekcí, které často bývají polymikrobiální, může být použit tigecyklin (79). V případě *Enterococcus faecium* nebyl v naší studii izolován kmen citlivý k ampicilinu. Rezistence k aminopenicilinům je často sdružená s rezistencí ke gentamicinu, takže lékem volby jsou glykopeptidy (vankomycin, teikoplanin) (80, 81). Při podezření na VRE (přítomnost rizikových faktorů, imunokompromitovaní pacienti, předcházející pozitivní kultivace), případně při selhání antibiotické léčby, je indikován linezolid jako lék první volby, popř. tigecyklin.

5.2. Bakteriální infekce u novorozenců

Nezbytnou součástí terapeutického přístupu k novorozeneckým infekcím je aplikace antibakteriálních léčiv ihned po stanovení diagnózy. Antibiotické režimy by měly vycházet z mikrobiologických vyšetření novorozeneckého dítěte, matky a lokálních výsledků surveillance nejčastějších bakteriálních patogenů a jejich rezistence k antibiotikům. Na základě výsledků mikrobiologických vyšetření, které jsou důležitou součástí celkového terapeutického přístupu, je vhodné realizovat cílenou antibioterapii.

Ve sledovaném období bylo hospitalizováno na Novorozeneckém oddělení Fakultní nemocnice Olomouc celkem 7 221 dětí, z tohoto počtu bylo u 5 % prokázána bakteriální infekce. Z výsledků studie vyplývá, že nejčastějšími agens, způsobujícími infekce v novorozeneckém období jsou enterobakterie (52 % všech izolovaných agens) a stafylokoky (21 %). K nejčastějším species u novorozeneckých infekcí patřily *Escherichia coli* (22 %), *Klebsiella pneumoniae* (12 %),

koaguláza-negativní stafylokoky (12 %) a *Staphylococcus aureus* (10 %). Mezi původci mykotických infekcí byly majoritně zastoupeny kmeny *Candida albicans* (80 %). Výsledky potvrzuje studie Russellové, která uvádí mezi nejčastějšími izoláty u časných infekcí gramnegativní bakterie, především *Escherichia coli* (25 %). U pozdních infekcí dominují koaguláza-negativní stafylokoky (50 %), dále *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, a *Enterococcus* sp. (82). Shane a kol. ve své práci uvádějí, že u časných novorozeneckých infekcí byly nejčastěji izolovány *Streptococcus agalactiae* (43 %) a *Escherichia coli* (29 %). Tato species patří mezi nejvýznamnější patogeny podílejícími se na rozvoji časně novorozenecké infekce především u dětí předčasně narozených, nebo u dětí s velmi nízkou porodní hmotností. Jako původce pozdních infekcí tito autoři uvádějí *Staphylococcus aureus*, koaguláza-negativní stafylokoky, enterokoky, enterobakterie a *Streptococcus pyogenes* (83). Studie Bulkowsteina a kol. prezentuje jako nejčastěji se vyskytující agens u časných infekcí opět *Escherichia coli* (34 %), *Streptococcus agalactiae* (22 %), *Klebsiella pneumoniae* (13 %), *Enterococcus faecalis* (9 %) a *Staphylococcus aureus* (5 %). Spektrum patogenů je podobné i u pozdních infekcí, kde autoři izolovali nejčastěji *Escherichia coli* (29 %), *Streptococcus pneumoniae* (13 %), *Staphylococcus aureus* (9 %) a *Klebsiella pneumoniae* (7 %) (84).

Na základě našich výsledků lze konstatovat, že jako vhodnější termín pro klasifikaci časných a pozdních novorozeneckých infekcí se jeví 72 hodin. S tím souvisí i doporučení iniciální antibiotické léčby. V prvních 72 hodinách života byly častěji izolovány mikroorganismy, které dítě získá od matky intrauterinně nebo při porodu. Naopak při hodnocení časně infekce do 7. dne života bylo izolováno více bakterií, které jsou více spojeny s nozokomiálními infekcemi. Naše výsledky dokazují, že při 72-hod cut-off byly izolovány častěji kmeny pocházející od matky (především *Streptococcus agalactiae*). Zároveň, při 72-hod cut-off, byla velmi nízká frekvence nefermentujících bakterií (*Stenotrophomonas maltophilia* a *Pseudomonas aeruginosa*). Naopak při 7-denní cut-off se počet izolovaných bakteriálních patogenů téměř zdvojnásobil. Tyto agens vykazovaly vyšší míru rezistence k antimikrobiálním látkám a často jsou to kmeny asociované s nemocničním prostředím. Je třeba zdůraznit, že při aplikaci 7-denní cut-off by infekce způsobené enterobakteriemi produkujícími širokospektré beta-laktamázy také spadaly do kategorie časných infekcí. Pokud by však byl použita 72-hod cut-off, všechny tyto infekce by byly charakterizovány jako pozdní. Z práce tak vyplývá, že při 72 hodinovém cut-off mohou být pozdní

infekce častěji způsobené bakteriemi, které jsou odolnější k antibiotikům, což je zjištění, které je naprosto zásadní pro strategii iniciální antibiotické léčby.

Infekce způsobené kmeny *Candida* spp. jsou u kojenců spojeny s významnou morbiditou a mortalitou. Podobně jako u bakteriálních infekcí jsou předčasně narozené děti s extrémně nízkou porodní hmotností (méně než 1 000 g) velmi ohroženy kvasinkovými infekcemi (85). K závažnému onemocnění nedonošených novorozenců patří kandidóza, která se může projevit jako kandidémie nebo infekce močových cest. Mezi rizikové faktory při rozvoji kandidózy lze zahrnout předčasný porod, centrální cévní katetrizaci, operaci v oblasti břicha, nekrotizující enterokolitidu, parenterální výživu, užívání antacid a širokospektrých antibiotik (např. cefalosporiny III. generace a karbapenemy) a endotracheální intubaci (86). Používání katétrů a endotracheálních trubic ničí přirozené bariéry a umožňuje kvasinkám pronikat, množit se a napadat původně sterilní části těla. Je tedy zřejmé, že kvasinková infekce by nebyla možná bez předchozí kolonizace sliznic, popř. povrchu těla. Studie Roilides a kol. předkládá druhy kvasinek, které se u dětských pacientů vyskytují nejčastěji: *Candida albicans* (50 %), *Candida prapsilosis* (21 %) a *Candida tropicalis* (10 %) (87). Stejně druhy byly izolovány i v naší práci. Nevyšší výskyt kvasinek byl zaznamenán po prvních třech dnech života. V případě mykotických infekcí je opět vhodnější použít 72-hod cut-off pro určení časně infekce, protože v porovnání se 7denní hranicí bylo zjištěno téměř 10krát méně kvasinek.

Ve sledovaném tříletém období bylo v našem souboru novorozenců izolováno velmi malé procento GBS (3 %). Toto species se uplatňuje hlavně při časných novorozeneckých infekcích (do 72 hodin po narození). Při přepočtu lze konstatovat, že GBS novorozeneckou infekcí bylo postiženo 1,2 dětí na 1000 živě narozených dětí. Straková a kol. dokumentují incidenci výskytu invazivní streptokokové infekce novorozenců v letech 2001 a 2002 v rozmezí 0,7 – 1,0 na 1000 živě narozených dětí (88). Šimetka a kol. ve své studii uvádějí, že mezi lety 2003-2005 byla prokázána časná infekce způsobená GBS u 1,2 dětí na 1000 živě narozených dětí (89). Tyto výsledky lze vysvětlit velmi dobrou profylaxí již v prenatálním období, tedy plošným „screeningem“ těhotných žen v období mezi 35. a 37. týdnem těhotenství, včasnou laboratorní diagnostikou a odpovídající prepartální antibiotickou profylaxí.

Z výsledků testování citlivosti bakteriálních původců na antibakteriální přípravky vyplývá jejich relativně dobrá účinnost. Nebyly prokázány kmeny MRSA, vankomycin-rezistentní enterokoky a produkce širokospektrých beta-laktamáz (CTX-M-15, CTX-M-9, EBC a CIT) byla

zachycena pouze u 6 % enterobakterií s unikátním genetickým profilem a zároveň nebylo prokázáno klonální šíření. Závažný terapeutický problém však představují multirezistentní kmeny *Stenotrophomonas maltophilia* a *Burkholderia cepacia* komplex se zachovalou účinností antibiotik, jejichž aplikace je v neonatologii kontraindikována.

Na základě získaných výsledků je zřejmé, že terapeutický přístup k novorozeneckým infekcím musí vycházet z charakteru infekce, resp. klasifikace časně/pozdní novorozenecké infekce. Pouze v případě časných infekcí do 3 dnů lze doporučit iniciální antibiotickou léčbu založenou na kombinaci gentamicin + ampicilin. V případě pozdních (vznik od 3. dne života) je však nutné zahájit antibiotickou léčbu kombinací gentamicin + amoxicilin/kyselina klavulanová. Současně je vhodné zdůraznit nezbytnost mikrobiologického vyšetření, které umožní cílenou antibiotickou léčbu, včetně aplikace adekvátních antibiotik v případě průkazu multirezistentních bakteriálních patogenů.

5.3. Bakteriální komplikace u pacientů s karcinomem jícnu

Ezofagektomie je rozsáhlý operační výkon na horní etáži zažívacího traktu. Rozsah operace v kombinaci s celkovým stavem nemocných (pacienti ve vyšších věkových skupinách s přidruženými závažnými komorbiditami) znamená velkou zátěž pro organismus operovaných pacientů (90, 91). Nejčastější příčinou úmrtí po ezofagektomii jsou plicní komplikace, které se vyskytují u 15-45 % pacientů (92), a zároveň na mortalitě nemocných se podílí zejména respirační selhání s rozvojem ARDS. Výskytem plicních komplikací jsou ohroženi zejména nemocní ve vyšších věkových skupinách, s chronickým abusem nikotinu, malnutricí, plicní dysfunkcí a poruchou imunity (93). Za další faktory ovlivňující vznik respiračních komplikací jsou považovány délka operace, krevní ztráta během výkonu, snížený FEV₁ (jednovteřinová vitální kapacita, resp. objem vzduchu vydechnutý při usilovném výdechu za první sekundu při spirometrickém vyšetření), neoadjuvantní onkologická terapie a výskyt píštěle v anastomóze (94). V případě vzniku plicních komplikací je indikována komplexní terapie spočívající v umělé plicní ventilaci, tracheostomii, antibiotické léčbě a toaletě dýchacích cest.

Ve sledovaném souboru se respirační komplikace vyskytly u 57 % pacientů. Závažné komplikace charakteru pneumonie s rozvojem respiračního selhání a ARDS byly zaznamenány u 21 % nemocných, z nichž u jednoho došlo k dehiscenci anastomózy. Bohužel v dalším průběhu

nemocný exitoval na multiorgánové selhání při septickém stavu na podkladě mediastinitidy. Méně závažné komplikace se vyskytly u dalších 36 % nemocných. Ve dvou případech se jednalo u pneumonii, která byla úspěšně vyléčena antibiotiky, další 3 nemocní měli fluidotorax, který byl ošetřen drenáží dutiny hrudní. U dvou pacientů došlo k rozvoji píštěle a u jednoho ke vzniku abscesu v hlubokém krčním prostoru. Námi referovaný soubor popisuje relativně vysoké procento respiračních komplikací, ale dominovaly lehké komplikace. U závažných komplikací jejich 21% výskyt v našem nevelkém souboru koresponduje s 20-30 % udávanými v literárních odkazech. Ott a kol. popisují závažné respirační komplikace po ezofagektomii u 25 % nemocných (95). Celková mortalita v souboru 379 pacientů po ezofagektomii publikovaných Atkinsonem a kol. byla 6 %, přičemž dominantní příčinou (v 54 %) byla pneumonie (92).

Mezi nejzávažnější komplikace ezofagektomie u pacientů s karcinomem jícnu patří pneumonie s následným respiračním selháním, proto je důležité u těchto pacientů sledovat složení mikroflóry horních cest dýchacích před operací (96, 97). U každého pacienta ve sledovaném souboru byl před operací odebrán materiál z horních cest dýchacích na kulturační vyšetření. V případě rozvoje bakteriální komplikace byly vyšetřeny příslušné klinické materiály. Jako původci pneumonií byly prokázány *Acinetobacter johnsonii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Enterococcus faecium* a *Candida krusei*. Tyto výsledky jsou v souladu se studií Vrby a kol. uvádějící rozvoj pneumonie u 27 % pacientů po ezofagektomii, přičemž jako nejčastější bakteriální patogeny byly identifikovány *Staphylococcus aureus*, enterobakterie (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*), nefermentující bakterie (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter ursingii*) a *Candida albicans* (98). Horáková a kol. dokumentují u 41 % pacientů po ezofagektomii pneumonii vyvolanou kmeny *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* a *Candida albicans* (96).

Uvedená klinicko-mikrobiologická analýza pacientů po exstirpaci jícnu pro karcinom potvrzuje význam mikrobiologického vyšetření horních cest dýchacích před operačním výkonem. V případě detekce potenciálně patogenní bakterie je nutné vzít tuto skutečnost v úvahu při zahájení iniciální antibiotické léčby z důvodu rozvoje bakteriální komplikace. Současně byla potvrzena nutnost úzké spolupráce mezi mikrobiologem a ošetřujícím lékařem, která musí být kontinuální a vycházet z každodenního posouzení výsledků mikrobiologických vyšetření a klinického stavu pacienta.

5.4. Bakteriální rezistence ve vztahu ke Covid-19

Bakteriální ko-infekce a sekundární bakteriální infekce byly a vždy budou rizikovým faktorem morbidity a mortality pacientů s virovými infekcemi (99-103). Například chřipková pandemie H1N1 v roce 2009 si vyžádala odhadem 300 000 životů, přičemž 30-55 % zemřelo na bakteriální pneumonii (104). Bylo prokázáno, že pacienti s virovými pneumoniemi, jako je chřipka, SARS (severe acute respiratory syndrome) a Covid-19 jsou více náchylní ke ko-infekcím multirezistentními bakteriemi (105-108). Současná data ukazují, že 3-6 % pacientů hospitalizovaných na standardních odděleních má komunitní bakteriální ko-infekci (109, 110). Na odděleních ICU tento je tento podíl vyšší, udává se 14-28 % (109). Ve studii s 36 pacienty na UPV mělo 8 % bakteriální superinfekci do 48 hodin od přijetí na ICU, 36 % mělo superinfekci respiračního traktu po 48 hodinách (110). Z uvedeného vyplývá, že zatímco komunitně získané ko-infekce u pacientů s Covid-19 jsou málo časté, s přibývajícím délkou hospitalizace a v souvislosti s dalšími faktory roste pravděpodobnost nasedající bakteriální superinfekce. Nejvíce ohrožení jsou pacienti s respirační insuficiencí, na UPV, s vazopresory, s délkou hospitalizace nad 7 dnů, se zavedenými invazivními vstupy etc. Poukazuje se rovněž na vliv imunosuprese, která se rozvíjí v kategorii critical covid-19, kdy je často popisovaná lymfopenie (111, 112).

Při léčbě bakteriální ko-infekce je zásadní její rychlá identifikace. Při následné antibiotické léčbě je nezbytné postupovat podle zásad racionální antibiotické politiky s cílem snížit morbiditu a mortalitu u pacientů s onemocněním Covid-19 a zároveň je to důležitý nástroj pro uplatňování antimicrobial stewardship během koronavirové pandemie.

Data ukazují, že asi 70 % Covid-19 pozitivních pacientů je léčeno antibiotiky, především širokospektrými a většinou empiricky (105, 106). V rámci práce ve FNOL dostávali všichni pacienti na KARIM během nejzávažnějšího období koronavirové pandemie antibiotickou léčbu. Důvodem byl těžký klinický stav pacientů v kombinaci s komplikovanou diferenciální diagnostikou virové a bakteriální pneumonie. Běžně používané parametry (kašel, dušnost, bolest na hrudníku, teplota, poslechový nález i nález na RTG plic) jsou pro bakteriální zánět plic nespecifické. Nelze se opřít ani o běžné biochemické parametry C-reaktivního proteinu (CRP), bílých krvinek (WBC), ferritinu atd., neboť tyto jsou zvýšené i v rámci průběhu onemocnění Covid-19. Bakteriologické vyšetření materiálu z dolních cest dýchacích může být zavádějící kvůli možné kontaminaci přirozenou mikroflórou z orofaryngu. Proto se u všech pacientů přijatých na KARIM s onemocněním Covid-19 aplikovala iniciální kombinovaná antibioterapie cefotaximu (event. amoxicillin/kys.

klavulanová) s klaritromycinem. Toto rozhodnutí podporoval i fakt, že u chřipkové pneumonie bývá bakteriální ko-infekce relativně častá (11-35 %) (109), zatímco u onemocnění Covid-19 chyběla analogická epidemiologická data v časně fázi pandemie.

Lze předpokládat, že nárůst spotřeby antibiotik kvůli bakteriálním ko-infekcím a superinfekcím u onemocnění Covid-19 může být příčinou vyššího selekčního tlaku na bakteriální agens a tím podpořit i rostoucí trend rezistence k antibiotikům. Práce dokládá pokles spotřeby základních antibiotik, jako jsou kombinované aminopeniciliny, cefalosporiny 2. generace a gentamicin, ale i výrazný nárůst spotřeby širokospektrých a záložních antibiotik, jako je cefotaxim, amikacin, linezolid a kolistin.

Výsledky jednoznačně neprokázaly celkový vzestup bakteriální rezistence v době trvání Covid-19 ve srovnání s obdobím před pandemií Covid-19. U některých bakteriálních druhů sice došlo k nárůstu četnosti multirezistentních kmenů (např. *Serratia marcescens*), u jiných však naopak k poklesu (*Escherichia coli*). Bylo zaznamenáno zvýšení rezistence některých bakteriálních species (*Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*) ke konkrétním antibiotikům, zatímco v případě dalších species došlo k poklesu rezistence (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*). U některých species (*Klebsiella pneumoniae*) se rezistence vůbec nezměnila. I údaje z literatury jsou smíšené, některé vykazují nárůst rezistence, především z Německa, Itálie a USA, jiné studie z Francie a Španělska hlásí naopak pokles (113-116).

Velmi zajímavý je pokles rezistence u druhu *Acinetobacter baumannii*, který v předkovidové době vykazoval vysokou rezistenci k meropenemu, aminoglykosidům, ciprofloxacinu a kotrimoxazolu, přičemž v době kovidové pandemie rezistence klesla na 0 %. Příčinou by mohla být chyba malých čísel (v předkovidovém období bylo zachyceno pouze 7 izolátů) a případné klonální šíření citlivého kmene v době kovidové (zachyceno 40 izolátů). Klonální šíření bylo v době kovidové rozhodně potvrzeno v signifikantně vyšší míře u *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* i *Burkholderia multivorans* ve srovnání s obdobím před koronavirovou pandemií. Je proto pravděpodobné, že i u kmenů *Acinetobacter baumannii* došlo ke klonálnímu šíření.

Zajímavý výsledek představuje pokles rezistence *Pseudomonas aeruginosa* k meropenemu. Kolář a kol. dokumentují zvyšování frekvence meropenem-rezistentních kmenů *Pseudomonas aeruginosa* v souvislosti s jeho spotřebou (117). Z porovnání spotřeby meropenemu ve sledovaných obdobích je zřejmé, že sice došlo k nárůstu jeho absolutní spotřeby,

procentuální zastoupení tohoto antibiotika však zůstalo na stejné úrovni. K absolutnímu i procentuálnímu zvýšení spotřeby došlo v případě cefotaximu, ale například u *Klebsiella pneumoniae* nedošlo ke zvýšení frekvence ESBL-pozitivních kmenů, resp. rezistence k cefalosporinům III. generace zůstala na stejné úrovni. Naopak ke zvýšení frekvence ESBL-pozitivních kmenů došlo u *Serratia marcescens* a *Enterobacter cloacae*. Nárůst frekvence kmenů *Serratia marcescens* a rezistence *Stenotrophomonas maltophilia* ke kolistinu může souviset s jeho zvýšenou spotřebou v inhalační formě. Je zřejmé, že na vzestupu/snížení bakteriální rezistence se uplatňovalo klonální šíření bakteriálních patogenů.

Prokázané klonální šíření pravděpodobně souvisí s použitím HFNOT a faktem, že ne všechna lůžka byla umístěna v izolačních boxech. HFNOT je nasazována při selhání konvenční kyslíkové terapie, nebo po odpojení od UPV a extubaci pacienta, popř. u pacientů s kardiogenním edémem, kteří netolerují jiné formy neinvazivní ventilace (118-120). Je prokázáno, že se tak u některých pacientů lze vyhnout intubaci nebo re-intubaci (121, 122).

Použití HFNOT je doporučeno v guidelines WHO pro léčbu Covid-19, i dalších institucí, například National Institutes of Health (NIH), COVID-19 Treatment Guidelines Panel, European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), Society of Critical Care Medicine (SCCM), Australia and New Zealand Intensive Care Society (ANZICS) a National COVID-19 Clinical Evidence Taskforce (123-126). Vzhledem k masivnímu rozšíření HFNOT během vln pandemie se v posledních měsících množí práce o potenciálu HFNOT k horizontálnímu šíření bakteriálních kmenů a riziku nákazy personálu a dalších pacientů. Tím, že HFNOT nevyžaduje invazivní zajištění dýchacích cest a systém není vybaven žádným filtrem, uniká veškerý vydechovaný vzduch do okolní atmosféry. Zde tedy je potenciál k šíření infekce, ale zároveň je zde i riziko nákazy. Přestože potenciál pro aerosolizaci u HFNOT existuje, jeho význam není zcela jasný. Sledován byl i přenos infekce na zdravotnický personál (127, 128). Literatura však spíše nepotvrzuje šíření částic do vzdálenějšího okolí pacienta při použití HFNOT. Ve srovnávacích studiích vycházela HFNOT lépe než běžná oxygenoterapie (129, 130). Bylo zaznamenáno zvýšené klonální šíření v době koronavirové pandemie. Je možné, že to bylo dáno uspořádáním oddělení, kdy v open-space místnostech bylo 5-8 pacientů na HFNOT a vzdálenost mezi nimi byla menší než 2 metry pro zvýšení lůžkové kapacity oddělení. Vliv mohlo mít i častější stěhování pacientů mezi jednotkami podle toho, jak se jejich stav vyvíjel, respektive zhoršoval. V neposlední řadě to mohlo být i na vrub nedostatečného dodržení všech protiepidemických opatření personálem z důvodu přetíženosti

oddělení velkým množstvím pacientů, personál byl převeden z jiných oddělení na výpomoc, svou roli sehrála i neznalost práce v OOP v tomto rozsahu, snaha o maximální rehabilitaci a zvýšený pohyb pacientů okolo lůžka.

Nebyl jednoznačně prokázán celkový vzestup rezistence u bakteriálních patogenů. Nicméně přece jen došlo u některých species ke zvýšení četnosti ESBL-pozitivních kmenů (*Serratia marcescens* a *Enterobacter cloacae*) a zvýšení rezistence u některých species (*Staphylococcus aureus* k oxacilinu a k ciprofloxacinu, *Stenotrophomonas maltophilia* ke kolistinu). Na druhou stranu byl prokázán i pokles rezistence (*Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*) a u některých species (*Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*) zůstal poměr rezistentních kmenů v obou obdobích stejný. U některých antibiotik jako jsou cefotaxim, amikacin, linezolid a kolistin byl prokázán nárůst spotřeby, u ostatních antibiotik byl pozorován stejný stav nebo pokles spotřeby. Dále bylo prokázáno klonální šíření kmenů na KARIM během nejtěžšího období koronavirové pandemie ve srovnání s předkovidovým obdobím.

Závěrem lze shrnout, že současná koronavirová pandemie upozornila na důležitost prevence a kontroly infekcí ve zdravotnických zařízeních. Tato důsledná prevence je nutná nejen pro zvládnutí SARS-CoV-2, ale i pro omezení šíření multirezistentních bakterií. Zavedená hygienicko-epidemiologická opatření musí být pravidelně zhodnocena, případně rozšířena a důkladně dodržována. Důraz musí být rovněž kladen na správnou antibiotickou praxi založenou na mikrobiologickém vyšetření včetně opakovaného zhodnocení klinického stavu pacienta a spolupráce ošetřujícího lékaře s klinickým mikrobiologem.

6 Souhrn

Na základě výsledků předložené disertační práce je možné formulovat následující závěry:

1. Enterokoky jsou a stále budou významnými bakteriálními patogeny. Jejich primární a sekundární rezistence ztěžuje antibiotickou terapii. Výsledky jsou shrnuty v následujících bodech:
 - U *Enterococcus faecalis* je zřejmá velmi nízká rezistence ke všem testovaným antibakteriálním přípravkům. U ampicilinu a tigecyklinu byla rezistence maximálně 3 %.
 - U kmenů *Enterococcus faecalis* izolovaných z urogenitálního traktu nebyl zaznamenán žádný kmen VRE a rezistence k nitrofurantoinu činila max. 2 %.
 - U druhu *Enterococcus faecium* izolovaných ze všech materiálů, byl prokázán 24 % podíl VRE. Rezistence k linezolidu v případě VRE nepřesáhla 1 %.
 - V období 5 let bylo izolováno celkem 7 % VRE ze všech izolovaných enterokoků, vždy se jednalo o *Enterococcus faecium* s fenotypem VanA.
 - Nejvíce kmenů VRE bylo izolováno na HOK z perianálních stěrů a ve většině případů se jednalo o kolonizaci gastrointestinálního traktu.
 - Na základě PFGE nedošlo ve FNOL k žádnému významnému propuknutí klonálního šíření VRE, ale byla pozorována opakovaná vzplanutí menšího charakteru.
2. Enterobakterie představují zhruba polovinu (52 %) všech původců novorozeneckých infekcí. Výsledky jasně ukazují, že terapeutický přístup k novorozeneckým infekcím musí být založen na jejich charakteru včetně klasifikace jako časných či pozdních. Jako mezní hodnota je vhodnější 72 hodin po narození. Pouze v případě časných infekcí do 3 dnů věku lze doporučit úvodní antibiotickou terapii založenou na gentamicinu s ampicilinem nebo amoxicilinem/kyselinou klavulanovou. Je také jasné, že úvodní antibiotická léčba musí být založena na lokálním sledování nejběžnějších bakteriálních patogenů a jejich rezistence na antibiotika.
3. V roce 2020 bylo operováno celkem 14 pacientů s karcinomem jícnu. Respirační komplikace se vyskytly u 57 % pacientů, přičemž pneumonie s rozvojem respiračního selhání a ARDS byly zaznamenány u 21 %. Méně závažné komplikace se vyskytly u 36 % nemocných. U pacientů po ezofagektomii patří pneumonie s následným respiračním selháním

k nejzávažnějším komplikacím, proto je důležité u těchto pacientů sledovat složení mikroflóry horních cest dýchacích před operací. Jako původci pneumonií byly detekovány kmeny *Acinetobacter johnsonii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Enterococcus faecium* a *Candida krusei*.

4. V době koronavirové pandemie nedošlo k významnému vzestupu bakteriální rezistence ve srovnání s obdobím před pandemií Covid-19. Bylo však potvrzeno klonální šíření bakteriálních patogenů, včetně multirezistentních kmenů. Výsledky jsou opět shrnuty v následujících bodech:

- U některých druhů (*Serratia marcescens* a *Enterobacter cloacae*) došlo ke zvýšení frekvence ESBL pozitivních kmenů.
- Došlo ke zvýšení rezistence na některá antibiotika, u *Staphylococcus aureus* na oxacilin a ciprofloxacin, v případě *Stenotrophomonas maltophilia* na kolistin.
- U některých bakteriálních species rezistence poklesla (*Escherichia coli* a *Acinetobacter baumannii*).
- Podíl rezistentních kmenů *Klebsiella pneumoniae* a *Enterococcus faecium* zůstal v obou obdobích nezměněn.
- Spotřeba některých antibiotik vzrostla (cefotaxim, amikacin, linezolid nebo kolistin), ale u jiných antibakteriálních přípravků se snížila nebo zůstala stejná.
- Na Klinice anesteziologie, resuscitace a intenzivní péče FNOL bylo pozorováno klonální šíření bakteriálních patogenů v nejhorší době pandemie Covid-19 ve srovnání s předpandemickým obdobím.
- Vzhledem k této skutečnosti by měla být přehodnocena přiměřenost stávajících hygienických a epidemiologických opatření a jejich dodržování a měla by být zkoumána role dalších faktorů (např. HFNOT) v klonálním šíření.

7 Summary

Based on the results of the presented dissertation, the following conclusions can be drawn:

5. Enterococci have been and will continue to be important bacterial pathogens. Their primary and secondary resistance makes antibiotic therapy difficult. The results are summarized as follows:
 - *Enterococcus faecalis* shows very low resistance to all the tested antibacterial agents. For ampicillin and tigecycline, the resistance was up to 3%.
 - For *Enterococcus faecalis* isolated from the genitourinary tract, no VRE strains were observed; the resistance to nitrofurantoin was up to 2%.
 - For *Enterococcus faecium* isolated from all materials, the proportion of VRE was 24%. Resistance to linezolid in the case of VRE did not exceed 1%.
 - Over a period of 5 years, 7% of all isolated enterococci were VRE, all of them being *Enterococcus faecium* with the VanA phenotype.
 - The highest number of VRE strains were isolated from perianal swabs in a department of hemato-oncology, with most of the cases being colonization of the gastrointestinal tract.
 - As shown by PFGE, there was no major outbreak of the clonal spread of VRE in the University Hospital Olomouc; however, minor outbreaks were repeatedly observed.
6. Enterobacteria account for about half (52%) of all pathogens causing neonatal infections. The results clearly show that the therapeutic approach to neonatal infections must be based on their nature, including classification as early- or late-onset. A cut-off point of 72 hours after birth is considered more appropriate. Only in the case of early infections occurring within 3 days of age, initial antibiotic therapy based on gentamicin with ampicillin or amoxicillin / clavulanic acid may be recommended. It is also clear that initial antibiotic therapy must reflect local surveillance of the most common bacterial pathogens and their resistance to antibiotics.
7. In 2020, a total of 14 patients underwent surgery for esophageal cancer. Respiratory complications occurred in 57% of patients, with pneumonia leading to respiratory failure and ARDS being noted in 21%. Minor complications were observed in 36% of patients. In patients undergoing esophagectomy, pneumonia with subsequent respiratory failure is

one of the most serious complications; it is therefore important to monitor the composition of these patients' upper respiratory tract microflora before their surgery. The pathogens causing pneumonia were strains of *Acinetobacter johnsonii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Enterococcus faecium* and *Candida krusei*.

8. During the COVID-19 pandemic, no significant increase in bacterial resistance was observed, as compared with the pre-pandemic period. However, clonal spread of bacterial pathogens including multidrug-resistant strains was confirmed. Once again, the results are summarized as follows:

- In some species (*Serratia marcescens* and *Enterobacter cloacae*), the proportion of ESBL-positive strains increased.
- Resistance to certain antibiotics increased such as that of *Staphylococcus aureus* to oxacillin a ciprofloxacin or *Stenotrophomonas maltophilia* to colistin.
- In the case of some bacterial species, resistance rates dropped (*Escherichia coli* and *Acinetobacter baumannii*).
- The proportions of resistant strains of *Klebsiella pneumoniae* and *Enterococcus faecium* remained unchanged over the two periods.
- Although the consumption of some antibiotics increased (cefotaxime, amikacin, linezolid or colistin), it remained the same or even decreased in the case of others.
- In the Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care, University Hospital Olomouc, clonal spread of bacterial pathogens was observed during the worst time of the COVID-19 pandemic, as compared with the pre-pandemic period.
- Given this fact, the adequacy of existing hygiene and epidemiological measures and adherence to them should be reassessed and the role of other factors (e.g. HFNOT) in clonal spread should be investigated.

8 Seznam použité literatury

1. Kolář M, Rejman D, Bardoň J. Zásady antibiotické léčby. 1. vydání. Olomouc: Univerzita Palackého 2020, 128 s. ISBN 978-80-244-5740-6
2. Pudová V, Htoutou Sedláková M, Kolář M a kol. Clonality of bacterial pathogens causing hospital-acquired pneumonia. *Curr Microbiol* 2016, 73:312-316.
3. Papajk J, Mezerová K, Uvízl R, Štosová T, Kolář M. Clonal diversity of *Klebsiella* spp. and *Escherichia* spp. strains isolated from patients with ventilator-associated pneumonia. *Antibiotics* 2021, 10:674.
4. Kolář M, Fišerová K, Kučová P. Mikrobiom a bakteriální původci onemocnění plic. *Postgrad med* 2019, 21
5. Papajk J, Uvízl R, Kolář M. Vliv předchozí antibiotické terapie na epidemiologii ventilátorových pneumonií. *Klin Mikrobiol Inf Léč* 2019, 25:7-11.
6. Chromá M. Charakterizace bakteriálních patogenů, včetně genů rezistence, pomocí PCR a analýzy křivky tání. Dizertační práce, Olomouc, Lékařská fakulta Univerzity Palackého, 2010
7. Husičková V. Identifikace a typizace bakterií s produkcí širokospektrých betalaktamáz. Dizertační práce, Olomouc, Lékařská fakulta Univerzity Palackého, 2012
8. Beneš J. Antibiotika-systematika, vlastnosti, použití. 1. vydání. Praha: Grada publishing 2018, 600 s. ISBN 978-80-271-0636-3
9. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). <https://ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/ears-net>
10. Kolář M. Problematika vankomycin-rezistentních enterokoků. *Klin Mikrobiol Inf Léč* 2018, 24:50–56
11. Moellering RC Jr. Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. *Clin Infect Dis*. 1992, 14:1173-1176
12. Vágnerová I, Kolář M. Možnosti terapie infekcí způsobených vankomycin-rezistentními enterokoky. *Klin Farmakol Farm* 2003, 17:170-173
13. McBride SJ, Upton A, Roberts SA. Clinical characteristics and outcomes of patients with vancomycin-susceptible *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* bacteraemia--a five-year retrospective review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010, 29:107-114
14. Sood S, Malhotra M, Das BK, et al. Enterococcal infections & Antimicrobial resistance. *Indian J Med Res* 2008, 128:111-121
15. Aguirre M, Collins MD. Lactic acid bacteria and human clinical infection. *J Appl Bacteriol* 1993, 75:95-107
16. Ahmed FZ, Baig, MW, Gascoyne-Binzi, D, et al. *Enterococcus cecorum* aortic valve endocarditis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011, 70:525-527
17. Tan CK, Lai CC, Wang JY, Lin, et al. Bacteremia caused by non-*faecalis* and non-*faecium* *enterococcus* species at a Medical center in Taiwan, 2000 to 2008. *J Infect* 2010, 61:34-43
18. Kučová P, Htoutou Sedláková M, Fišerová K, Hricová K, Kolář M. Enterokokové infekce a možnosti jejich léčby. *Klin Mikrobiol Inf Léč* 2021, 27:4-12
19. Arthur M, Reynolds PE, Depardieu F, Evers S, Dutka-Malen S, Quintiliani R Jr., Courvalin P. Mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *J Infect* 1996, 32:11–16
20. Murray BE. Vancomycin-resistant enterococci. *Am J Med* 1997, 102:284–293
21. Reynolds PE, Courvalin P. Vancomycin resistance in enterococci due to synthesis of

- precursors terminating in D-alanyl-D-serine. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005, 49:21–25
22. Courvalin P. Vancomycin resistance in gram-positive cocci. *Clin Infect Dis* 2006, 42:25–34
 23. Klare I, Witte E, Wendt C, et al. Vancomycin-resistant enterococci (VRE). Recent results and trends in development of antibiotic resistance. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2012, 55:1387-1400
 24. Heath CH, Blackmore TK, Gordon DL. Emerging resistance in *Enterococcus* spp. *Med J Aust* 1996, 164:116–120
 25. Weber DJ, Rutala WA. Role of environmental contamination in the transmission of vancomycin-resistant enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997, 18:306–309
 26. Jordens JZ, Bates J, Griffiths DT. Faecal carriage and nosocomial spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *J Antimicrob Chemother* 1994, 34:515–528
 27. Kolář M, Pantůček R, Vágnerová I, Kesselová M, Sauer P, Matoušková I, Doškař J, Koukalová D, Hejnar P. Genotypic characterisation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from haemato-oncological patients at Olomouc University Hospital, Czech Republic. *Clin Microbiol Infect* 2006, 12:353–360.
 28. Paterson DL, Muto CA, Ndirangu M, Linden PK, Potoski BA, Capitano B, Bonomo RA, Aron DC, Donskey CJ. Acquisition of rectal colonization by vancomycin-resistant *Enterococcus* among intensive care unit patients treated with piperacillin-tazobactam versus those receiving cefepime-containing antibiotic regimens. *Antimicrob Agents Chemother* 2008, 52:465–469
 29. Kolář M, Pantůček R, Vágnerová I, a kol. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in hospitalized patients and those living in the community in the Czech Republic. *New Microbiol* 2006, 29:121-125
 30. Shah BA, Padbury JF. Neonatal sepsis: an old problem with new insights. *Virulence*, 2014, 5:170-178
 31. Cortese F, Scicchitano P, Gesualdo M, a kol. Early and late infections in newborns: where do we stand? A review. *Pediatr Neonatol* 2016, 57:265-273
 32. Tzialla C, Borghesi A, Pozzi M, Stronati M. Neonatal infections due to multi-resistant strains: Epidemiology, current treatment, emerging therapeutic approaches and prevention. *Clin Chim Acta* 2015, 45:171-77
 33. McMillan JA, Weiner LB, Lamberson HV, a kol. Efficacy of maternal screening and therapy in the prevention of chlamydia infection of the newborn. *Infection* 1985, 13:263-266
 34. Darville T. Chlamydia trachomatis infections in neonates and young children. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005, 16:235-244
 35. Santos RP, Tristram D. A Practical Guide to the diagnosis, treatment, and prevention of neonatal infections. *Pediatr Clin N Am* 2015, 62:491–508
 36. Mukhopadhyay S, Wade KC, Puopolo KM. Drugs for the prevention and treatment of sepsis in the newborn. *Clin Perinatol* 2019, 46:327-347
 37. Dong Y, Speer CP. Late-onset neonatal sepsis: recent developments. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed* 2015, 100:257-263
 38. Becker HD, Hohenberger W, Junginger T, a kol. Chirurgická onkologie, Praha: Grada publishing 2005, s.291-338.ISBN
 39. Kroupa R, Katinová I, Pavlík T, Kunovský L, Procházka V, Bořilová Linhartová P, Packová B, Kala Z, Dolina J. Incidence trends of esophageal cancer in the Czech Republic by histological subtype and stage and prescription rate of acid suppressing drugs. *Cancer Epidemiol* 2020, 69:101853

40. Kutup A, Nentwich MF, Bollschweiler E, Bogoevski D, Izbicki JR, Hölscher AH. What should be the gold standard for the surgical component in the treatment of locally advanced esophageal cancer: transthoracic versus transhiatal esophagectomy. *Ann Surg* 2014, 260:1016–1022
41. Naftoux P, Moons J, Coosemans W, a kol. Minimally invasive oesophagectomy: a valuable alternative to open oesophagectomy for the treatment of early oesophageal and gastro-oesophageal junction carcinoma. *Eur J Cardiothorac Surg* 2011, 40:1455–1463
42. Bonavina L, Asti E, Sironi A, Bernardi D, Aiolfi A. Hybrid and total minimally invasive esophagectomy: how I do it. *J Thorac Dis* 2017, 9:761–772
43. Ferguson MK, Durkin AE. Preoperative prediction of the risk of pulmonary complications after esophagectomy for cancer. *J Thorax Cardiovasc Surg* 2002, 123:661–669.
44. Vrba R, Kučová P, Ľubušká L, Fišerová K, Kolář M. Bakteriální komplikace při chirurgickém řešení karcinomu jícnu. *Klin Mikrobiol Inf Léč* 2021, 27:93-97
45. O'Neill J. Review on antimicrobial resistance antimicrobial resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. The Review on Antimicrobial Resistance: London, UK, 2014. Available online: https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf
46. Zhou F, Yu T, Du R, a kol. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020; 395: 1054-1062.
47. Facklam RR, Collins MD. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by conventional test scheme. *J clin microbiol* 1989, 27:731-734.
48. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Available from: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints.
49. Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol* 1995, 33:24-27
50. Vankerckhoven V, Van Autgaerden T, Vael C, a kol. Development of a multiplex PCR for the detection of *asa1*, *gelE*, *cylA*, *esp*, and *hyl* genes in enterococci and survey for virulence determinants among European hospital isolates of *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol* 2004, 42:4473-4479
51. Pantůček R, Götz F, Doškař J, Rosypal S. Genomic variability of *Staphylococcus aureus* and the other coagulase-positive *Staphylococcus* species estimated by macrorestriction analysis using pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Syst Bacteriol* 1996, 46:216-222
52. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, a kol. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995, 33:2233-2239
53. Htoutou Sedlaková M, Hanulík V, Chromá M, a kol. Phenotypic detection of broad-spectrum beta-lactamases in microbiological practice. *Med Sci Monit* 2011, 17:147-152
54. Husičková V, Čekanová L, Chromá M, Htoutou-Sedlaková M, Hricová K, Kolář M. Carriage of ESBL-and AmpC-positive *Enterobacteriaceae* in the gastrointestinal tract of community subjects and hospitalized patients in the Czech Republic. *Biomed Pap* 2012, 156:348–353.]

55. Zhang W, Du RH, Li B, Zheng XS, Yang XL, Hu B, Wang YY, Xiao GF, Yan B, Shi ZL, a kol. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect* 2020, 9:386-389
56. Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the mec element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002, 46:2155-2161
57. Zakaria AM, Hassuna NA. Modified PFGE protocol for improving typeability of DNA degradation susceptible nosocomial *Klebsiella pneumoniae*. *J Med Microbiol* 2019, 68:1787-1792
58. Standard Operating Procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. Available online: <https://www.cdc.gov/pulsenet/pdf/ecoli-shigella-salmonella-pfge-protocol-508c.pdf>
59. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. ATC/DDD Index 2020. Available online: https://www.whocc.no/atc_ddd_index/
60. Levitus M, Rewane A, Perera TB. Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) [Updated 2020 Mar 30]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513233/>
61. Fiore E, Van Tyne D, Gilmore MS. Pathogenicity of enterococci. *Microbiol Spectr* 2019, 7:10
62. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* 2009, 155:1749-1757
63. Wang J, Kortsalioudaki C, Heath PT, a kol. Epidemiology and healthcare factors associated with neonatal enterococcal infections. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2019, 104:480-485
64. Yadav G, Thakuria B, Madan M, Agwan V, Pandey A. Linezolid and vancomycin resistant enterococci: A therapeutic problem. *J Clin Diagn Res* 2017, 11:07-11
65. Kanthisheree BH, Shashikala N, Sunil Kumar D, Sangeetha S. Isolation, identification and speciation of enterococci and their antimicrobial susceptibility in a tertiary care hospital. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences* 2014, 3:13893-99
66. Kreft B, Marre R, Schramm U, Wirth R. Aggregation substance of *Enterococcus faecalis* mediates adhesion to cultured renal tubular cells. *Infect Immun* 1992, 60:25-30
67. Garg S, Mohan B, Taneja N. Biofilm formation capability of enterococcal strains causing urinary tract infection vis-a-vis colonisation and correlation with enterococcal surface protein gene. *Indian J Med Microbiol* 2017, 35:48-52
68. Puchter L, Chaberny IF, Schwab F, a kol. Economic burden of nosocomial infections caused by vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob Resist Infect Control* 2018, 7:1
69. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, a kol. Attributable deaths and disability-adjusted lifeyears caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis* 2019, 19:56-66
70. Gambarotto K, Ploy MC, Turlure P, Grélaud C, Martin C, Bordessoule D, Denis F. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in fecal samples from hospitalized patients and nonhospitalized controls in a cattle-rearing area of France. *J Clin Microbiol* 2000, 38:620-4.

71. Alevizakos M, Gaitanidis A, Nasioudis D, Tori K, Flokas ME, Mylonakis E. Colonization with vancomycin-resistant enterococci and risk for bloodstream infection among patients with malignancy: A systematic review and meta-Analysis. *Open Forum Infect Dis* 2016, 4:246
72. Yoon YK, Lee MJ, Ju Y, et al. Determining the clinical significance of co-colonization of vancomycin-resistant enterococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the intestinal tracts of patients in intensive care units: a case-control study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2019,18:28.
73. Gedik H, Yildirmak T, Simşek F, a kol. Vancomycin-resistant enterococci colonization and bacteremia in patients with hematological malignancies. *J Infect Dev Ctries* 2014, 8:1113-1118
74. Hricová K, Štosová T, Kučová P, Fišerová K, Bardoň J, Kolář M. Analysis of vancomycin-resistant enterococci in hemato-oncological patients. *Antibiotics* 2020, 9:785
75. Jorges JZ, Bates J, Griffiths DT. Fecal carriage and nosocomial spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *J Antimicrob Chemother* 1994, 34:515-528
76. O'Driscoll T, Crank CW. Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. *Infect Drug Resist* 2015, 8:217-30
77. Talaga K, Odrowąż-Konduracka D, Paradowska B, a kol. Typing of *Enterococcus* spp. strains in 4 hospitals in the Małopolska region in Poland. *Adv Clin Exp Med* 2018, 27:111-117
78. Jovanović M, Tošić T, Jovanović S, a kol. Presence of the esp gene in *Enterococcus faecium* derived from oropharyngeal microbiota of haematology patients. *Arch Oral Biol* 2018, 88:54-59.
79. Bender JK, Cattoir V, Hegstad K, Sadowy E, a kol. Update on prevalence and mechanisms of resistance to linezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe: Towards a common nomenclature. *Drug Resist Updat* 2018, 40:25-39.
80. Nicoletti G, Stefani S. Enterococci: susceptibility patterns and therapeutic options. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995, 14:33-7
81. Cisterna R, Ibarra K, Morla A, Basaras M, Cisterna C, Herreras A, Borja J. Multicenter study of resistance in enterococci. The role of teicoplanin. Spanish group for study and surveillance of resistance. *Rev Esp Quimioter* 1999, 12:237-43
82. Russell ARB. Neonatal sepsis. *Paediatr Child Health* 2011, 21:265–269
83. Shane AL, Sánchez PJ, Stoll BJ. Neonatal sepsis. *Lancet* 2017, 390:1770–1780
84. Bulkowstein S, Ben-Shimol S, Givon-Lavi N, Melamed R, Shany E, Greenberg D. Comparison of early onset sepsis and community-acquired late onset sepsis in infants less than 3 months of age. *BMC Pediatr* 2016, 16:1–8
85. Greenberg RG, Benjamin DK. Neonatal candidiasis: Diagnosis, prevention, and treatment. *J Infect* 2014, 69:19–22
86. Hope W, Castagnola E, Groll A, Roilides E, Akova M, Arendrup M, Arikan-Akdagli S, Bassetti M, Bille J, Cornely O, a kol. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: Prevention and management of invasive infections in neonates and children caused by *Candida* spp. *Clin Microbiol Infect* 2012, 18:38–52
87. Roilides E. Invasive candidiasis in neonates and children. *Early Hum Dev* 2011, 87:75–76
88. Straková L, Motlová J. Active surveillance of early onset disease due to group B streptococci in newborns. *Indian J Med Res* 2004, 119:205–207
89. Šimetka O, Petroš M, Podešvová H. Prevention of early-onset neonatal group B streptococcal infection: Neonatal outcome after introduction of national screening guideline. *Ceska Gynkol.* 2010, 75:41–46.

90. Ferguson MK, Durkin AE. Preoperative prediction of the risk of pulmonary complications after esophagectomy for cancer. *J Thorax Cardiovasc Surg* 2002, 123:661-669.
91. Low DE, Alderson D, Cecconello I, Chang AC, Darling GE, D'Journo XB, Griffin SM, Hölscher AH, Hofstetter WL, Jobe BA, Kitagawa Y, Kucharczuk JC, Law SY, Lerut TE, Maynard N, Pera M, Peters JH, Pramesh CS, Reynolds JV, Smithers BM, van Lanschot JJ. International consensus on standardization of data collection for complications associated with esophagectomy: Esophagectomy complications consensus group (ECCG). *Ann Surg* 2015, 262: 286-94
92. Atkins BZ, Shan AS, Kelley A, Hutcheson KA, Mangum JH, Pappas TN, Harpole DH, Dámico TA, Reducing hospital morbidity and mortality following esophagectomy *Ann Thorac Surg* 2004, 78:1170-6
93. Bartels H, Stein H J, Siewert J R. Risk analysis in esophageal surgery. *Resent Result Cancer Res* 2000, 155:89-96
94. Cerfolio RJ, Pickens A, Bass C, a kol. Fast-tracking pulmonary resections. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001, 122:318-24
95. Ott K, Bader F G, Lordick F, Feith M, Bartels H, Siewert J R. Surgical factors influence the outcome after Ivor-Lewis esophagectomy with intrathoracic anastomosis for adenocarcinoma of the esophagogastric junction: a consecutive series of 240 patient at an experienced center, *Ann Surg Oncol* 2009, 16:1017-1025
96. Horáková M., Ľubušká L., Kolář M., Hricová K., Vrba R., Neoral Č., Zapletalová J.: Individualized prophylaxis in patients with esophageal replacement because of cancer. *Surgical Infections* 2015, 16:513-517.
97. Neoral C, Horáková M, Aujeský R, Chudáček J, Hanulík V, Chromá M, Kolář M. Infectious complications after esophagectomy. *Surgical Infections* 2012, 13:159-162
98. Vrba R, Neoral C, Vomáčková K, Vrána D, Melichar B, Lubušká L, Lovečková Y, Aujeský R. Complications of the surgical treatment of esophageal cancer and microbiological analysis of the respiratory tract. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2020, 164:284-291
99. Beadling C, Slifka MK. How do viral infections predispose patients to bacterial infections? *Curr Opin Infect Dis* 2004, 17:185-91
100. Metzger DW, Sun K. Immune dysfunction and bacterial coinfections following influenza. *J Immunol* 2013, 191:2047–2052
101. Jia L, Xie J, Zhao J, Cao D, Liang Y, Hou X, Ligui W, Li Z. Mechanisms of severe mortality-associated bacterial co-infections following influenza virus infection. *Front Cell Infect Microbiol* 2017, 7:338
102. Katsurada N, Suzuki M, Aoshima M, Yaegashi M, Ishifuji T, Asoh N, Hamashige N, Abe M, Ariyoshi K, Morimoto K. on behalf of the Adult Pneumonia Study Group-Japan. The impact of virus infections on pneumonia mortality is complex in adults: A prospective multicentre observational study. *BMC Infect Dis* 2017, 17:755
103. Quah J, Jiang B, Tan PC, Siau C, Tan TY. Impact of microbial aetiology on mortality in severe community-acquired pneumonia. *BMC Infect Dis* 2018, 18:451
104. Morris DE, Cleary DW, Clarke SC. Secondary bacterial infections associated with influenza pandemics. *Front Microbiol* 2017, 8:1041
105. Rawson TM, Moore LSP, Zhu N, Ranganathan N, Skolimowska K, Gilchrist M, Satta G, Cooke G, Holmes A. Bacterial and fungal coinfection in individuals with coronavirus: A rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing. *Clin Infect Dis* 2020, 71:2459-2468

106. Langford BJ, So M, Raybardhan S, Leung V, Westwood D, MacFadden DR, Soucy JR, Daneman N. Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2020, 26:1622-1629.
107. Lansbury L, Lim B, Baskaran V, Lim WS. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Infect* 2020, 81:266–275
108. Hughes S, Troise O, Donaldson H, Mughal N, Moore LSP. Bacterial and fungal coinfection among hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study in a UK secondary-care setting. *Clin Microbiol Infect* 2020, 26:1395–1399
109. Youngs J, Wyncoll D, Hopkins P, Arnold A, Ball J, Bicanic T. Improving antibiotic stewardship in COVID-19: Bacterial co-infection is less common than with influenza. *J Infect* 2020, 81:55-57
110. Clancy CJ, Nguyen MH. COVID-19, superinfections and antimicrobial development: what can we expect? *Clin Infect Dis* 2020, 71:2736-2743
111. Despotovic A, Milosevic B, Milosevic I, Mitrovic N, Cirkovic A, Jovanovic S, Stevanovic G. Hospital-acquired infections in the adult intensive care unit-Epidemiology, antimicrobial resistance patterns, and risk factors for acquisition and mortality. *Am J Inf Control* 2020, 48:1211–1215
112. Kalicińska E, Szymczak D, Zińczuk A, Adamik B, Smiechowicz J, Skalec T, Nowicka-Suszko D, Biernat M, Bogucka-Fedorczuk A, Rybka J, a kol. Immunosuppression as a hallmark of critical COVID-19: Prospective study. *Cells* 2021, 10:1293
113. Saini V, Jain C, Singh NP, Alsulimani A, Gupta C, Dar SA, Haque S, Das S. Paradigm shift in antimicrobial resistance pattern of bacterial isolates during the COVID-19 pandemic. *Antibiotics* 2021, 10:954
114. Li J, Wang J, Yang Y, Cai P, Cao J, Cai X. Etiology and antimicrobial resistance of secondary bacterial infections in patients hospitalized with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective analysis. *Antimicrob Resist Infect Control* 2020, 9:153
115. Porretta AD, Baggiani A, Arzilli G, Casigliani V, Mariotti T, Mariottini F, Scardina G, Sironi D, Totaro M, Barnini S, a kol. Increased risk of acquisition of New Delhi metallo-beta-lactamase-producing carbapenem-resistant Enterobacterales (NDM-CRE) among a cohort of COVID-19 patients in a teaching hospital in Tuscany, Italy. *Pathogens* 2020, 9:635
116. Tiri B, Sensi E, Marsiliani V, Cantarini M, Priante G, Vernelli C, Martella LA, Costantini M, Mariottini A, Andreani P, a kol. Antimicrobial stewardship program, COVID-19, and infection control: Spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization in ICU COVID-19 patients. What did not work? *J Clin Med* 2020, 9:2744
117. Kolář M, Htoutou Sedláková M, Urbánek K, Mlynarčík P, Roderová M, Hricová K, Mezerová K, Kučová P, Zapletalová J, Fišerová K, Kurfurst P. Implementation of antibiotic stewardship in a university hospital setting. *Antibiotics* 2021, 10:93
118. Stéphan F, Barrucand B, Petit P, Rézaiguia-Delclaux S, Médard A, Delannoy B, Cosserant B, Flicoteaux G, Imbert A, Pilorge C, a kol. High-flow nasal oxygen vs noninvasive positive airway pressure in hypoxemic patients after cardiothoracic surgery: A randomized clinical trial. *JAMA* 2015, 313: 2331-2339
119. Frat JP, Coudroy R, Marjanovic N, Thille AW. High-flow nasal oxygen therapy and noninvasive ventilation in the management of acute hypoxemic respiratory failure. *Ann Transl Med* 2017, 5:297
120. Lodeserto FJ, Lettich TM, Rezaie SR. High-flow nasal cannula: Mechanisms of action and adult and pediatric indications. *Cureus* 2018, 10:3639

121. Hernández G, Vaquero C, Colinas L, Cuenca R, González P, Canabal A, Sanchez S, Rodriguez ML, Villasclaras A, Fernández R. Effect of Postextubation High-flow nasal cannula vs noninvasive ventilation on reintubation and postextubation respiratory failure in high-risk patients: A randomized clinical trial. *JAMA* 2016, 316:1565-1574
122. Bonnet N, Martin O, Boubaya M, Levy V, Ebstein N, Karoubi P, Tandjaoui-Lambiotte Y, Van Der Meersch G, Oziel J, Soulie M, a kol. High flow nasal oxygen therapy to avoid invasive mechanical ventilation in SARS-CoV-2 pneumonia: a retrospective study. *Ann Intensive Care* 2021, 11:37
123. World Health Organization interim guidance for the Clinical management of COVID-19. Available online: [https://www.who.int/publications/i/item/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novel-coronavirus-\(ncov\)-infection-is-suspected/](https://www.who.int/publications/i/item/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novel-coronavirus-(ncov)-infection-is-suspected/) (accessed 18 July 2021)
124. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. National Institutes of Health. Available online: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/> (accessed 18 July 2021)
125. Alhazzani W, Møller MH, Arabi YM, Loeb M, Gong MN, Fan E, Oczkowski S, Levy MM, Derde L, Dzierba A, a kol. Surviving sepsis campaign: guidelines on the management of critically ill adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Intensive Care Med* 2020, 46:854-887
126. Australian guidelines for the clinical care of people with COVID-19. Available online: <https://covid19evidence.net.au/> (accessed 18 July 2021)
127. Li J, Fink JB, Ehrmann S. High-flow nasal cannula for COVID-19 patients: risk of bio-aerosol dispersion. *Eur Respir J* 2020, 55:2000892
128. Somsen GA, van Rijn C, Kooij S, a kol. Small droplet aerosols in poorly ventilated spaces and SARS-CoV-2 transmission. *Lancet Respir Med* 2020, 8: 658–659
129. Leonard S, Atwood CW Jr, Walsh BK, DeBellis RJ, Dungan GC, Strasser W, Whittle JS. Preliminary findings on control of dispersion of aerosols and droplets during high-velocity nasal insufflation therapy using a simple surgical mask: Implications for the high-flow nasal cannula. *Chest* 2020, 158:1046-1049
130. Guy T, Créac'hcadec A, Ricordel C, Salé A, Arnouat B, Bizec JL, Langelot M, Lineau C, Marquette D, Martin F, a kol. High-flow nasal oxygen: a safe, efficient treatment for COVID-19 patients not in an ICU. *Eur Respir J* 2020, 56:2001154

9 Seznam publikací souvisejících s tématem disertační práce

Tato kapitola obsahuje seznam publikací v časopisech s impakt faktorem, publikací v recenzovaných časopisech bez impakt faktoru a seznam přednášek s abstraky prezentovaných na konferencích.

9.1. Publikace v časopisech s impakt faktorem

1. Hricová K, Štosová T, Kučová P, Fišerová K, Bardoň J, Kolář M. Analysis of vankomycin resistant enterococci in hemato-oncological patients. *Antibiotics* 2020, 9:785. IF 4,369, Q2
2. Kolář M, Htoutou Sedláková M, Urbánek K, Mlynarčík P, Röderová M, Hricová K, Mezerová K, Kučová P, Zapletalová J, Fišerová K, Kurfurst P. Implementation of antibiotic stewardship in a university hospital setting. *Antibiotics* 2021, 10:93. IF 4,639
3. Kučová P, Kantor L, Fišerová K, Lasák J, Röderová M, Kolář M. Bacterial pathogen and evaluation of a cut-off for defining early and late neonatal infection. *Antibiotics* 2021, 10:278. IF 4,639
4. Hricová K, Röderová M, Fryčák P, Volodymyr P, Kurka O, Mezerová K, Štosová T, Bardoň J, Milde D, Kučová P, Kolář M. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci and antimicrobial residues in wastewater and surface water. *Life* 2021, 12:1-18. IF 3,817

9.2. Publikace v recenzovaných časopisech bez impakt faktoru

1. Kučová P, Htoutou Sedláková M, Fišerová K, Hricová K, Kolář M. Enterokokové infekce a možnosti jejich léčby. *Klin Mikrobiol Inf Léč* 2021, 27:4-12
2. Kolář M, Fišerová K, Kučová P. Mikrobiom a bakteriální původci onemocnění plic. *Postgrad med* 2019, 21
3. Vrba R, Kučová P, Ľubušká L, Fišerová K, Kolář M. Bakteriální komplikace při chirurgickém řešení karcinomu jícnu. *Klin Mikrobiol Inf Léč* 2021, 27:93-97

9.3. Přednášky s abstraktem (pouze 1. autor)

1. Kučová P, Kolář M. Sepse dětského věku z pohledu mikrobiologa. 21. pracovní setkání “Antibiotická politika”: Infekce v pediatrii. Soláň, 25. – 27. 5. 2017
2. Kučová P, Kolář M. Rezistence *Escherichia coli* v porodnické a neonatální péči. XXV. Moravsko-slovenské mikrobiologické dny. Ostrava, 23. – 25. 11. 2017
3. Kučová P, Kantor L, Fišerová K, Lasák J, Kolář M. Bakteriální původci novorozeneckých infekcí. Kongres klinické mikrobiologie, infekčních nemocí a epidemiologie. Olomouc, 14. -16. 11. 2019

10 Seznam grantových projektů řešených v souvislosti s disertační prací

1. Epidemiologie vankomycin-rezistentních enterokoků v České republice: One Health concept, AZV ČR, č. NV18-05-00340 (2018-2021)
2. Problematika rezistence bakterií k antimikrobním přípravkům v humánní a animální oblasti z hlediska konceptu „One Health“, IGA UP 2018
3. Analýza vybraných multirezistentních bakterií ve Fakultní nemocnici Olomouc, IGA UP 2019
4. Aplikace „antibiotic stewardship“ v podmínkách fakultní nemocnice, IGA UP 2020
5. Možnosti včasné detekce bakteriálních patogenů u septických pacientů, IGA UP 2021

11 Seznam tabulek, obrázků a grafů

11.1. Seznam tabulek

- Tabulka 1:** PCR primery a produkty pro detekci *van* genů a faktorů virulence.
- Tabulka 2:** Zastoupení druhů klinicky významných enterokoků izolovaných v letech 2015-2019 ve FNOL
- Tabulka 3:** Rezistence *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* k vybraným antibiotikům ve FNOL (v procentech)
- Tabulka 4:** Prevalence VRE v jednotlivých klinických materiálech, na vybraných klinikách a odděleních FNOL (celkový počet enterokoků v absolutní hodnotě, v závorce procento)
- Tabulka 5:** Citlivost VRE k vybraným antibiotikům (v procentech)
- Tabulka 6:** Bakteriální původci novorozeneckých infekcí
- Tabulka 7:** Rozložení bakteriálních/mykotických patogenů u novorozenců léčených antibiotiky při použití obou časových kritérií (rok 2017).
- Tabulka 8:** Stanovení etiologie potvrzených nebo podezřelých původců novorozeneckých infekcí
- Tabulka 9:** Citlivost enterobakterií na vybraná antibiotika (v procentech)
- Tabulka 10:** Citlivost *Staphylococcus aureus* a koaguláza negativních stafylokoků na vybraná antibiotika (v procentech)
- Tabulka 11:** Enterobakterie produkující širokospektré betalaktamázy
- Tabulka 12:** Výsledky mikrobiologických vyšetření a antibiotická léčba
- Tabulka 13:** Rezistence gramnegativních bakterií před Covid-19 (I.) a v průběhu Covid-19 (II.) v procentech
- Tabulka 14:** Rezistence enterokoků před Covid-19 (I.) a v průběhu Covid-19 (II.) v procentech
- Tabulka 15:** Spotřeba antibakteriálních přípravků v době předkovidové (I.) a kovidové (II.)

11.2. Seznam obrázků

- Obrázek 1:** Rezistence izolátů VRE v Evropě v roce 2020 (v procentech, dle EARS-Net)
- Obrázek 2:** Dendrogram PFGE 103 izolátů vankomycin-rezistentních *E. faecium* za období studie 2016-2018.
- Obrázek 3:** Časová osa výskytu klonů VRE v letech 2016-2018
- Obrázek 4:** Poměrné zastoupení časných a pozdních infekcí s ohledem na obě časová kritéria (72 hodin a 7 dní) prokázané pro *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, koaguláza-negativní stafylokoky, *Pseudomonas aeruginosa*, a *Candida albicans*
- Obrázek 5:** PFGE u 3 kmenů *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15
- Obrázek 6:** PFGE u 2 kmenů *Escherichia coli* CTX-M-15
- Obrázek 7:** Časová osa prevalence izolátů *Klebsiella pneumoniae* ve sledovaném období. Šedé obdélníky představují 7 klonálních skupin *Klebsiella pneumoniae* na základě jejich podobnosti (jednotlivé izoláty jsou zastoupeny znaky ◯▪○*□○●).

Obrázek 8: Časová osa prevalence izolátů *Serratia marcescens* ve sledovaném období. Šedé obdélníky představují 7 klonálních skupin *Serratia marcescens* na základě jejich podobnosti (jednotlivé izoláty jsou zastoupeny znaky●○□).

11.3. Seznam grafů

- Graf 1:** Rezistence izolátů *Enterococcus faecium* z krve k vankomycinu v České republice od roku 2005 do roku 2020. Převzato z databáze EARS-Net
- Graf 2:** Rozložení enterokoků v klinických materiálech u pacientů FNOL v letech 2015-2019 (v procentech)
- Graf 3:** Rozložení enterokoků podle klinik a oddělení FNOL za období 2015-2019 (v procentech)
- Graf 4:** Rozložení VRE podle klinických materiálů u pacientů FNOL za období 2015-2019 (v procentech)
- Graf 5:** Rozložení VRE podle jednotlivých klinik a oddělení FNOL za období 2015-2019 (v procentech)
- Graf 6:** Výskyt faktorů virulence u kmenů VRE na HOK
- Graf 7:** Citlivost enterobakterií k vybraným antibiotikům v letech 2015-2017
- Graf 8:** Citlivost *Staphylococcus aureus* k vybraným antibiotikům
- Graf 9:** Citlivost koaguláza-negativních stafylokoků k vybraným antibiotikům
- Graf 10:** Procentuální zastoupení nejčastěji izolovaných bakteriálních agens na KARIM před Covid-19 (I) a v průběhu Covid-19 (II.)
- Graf 11:** Rezistence *Staphylococcus aureus* před Covid-19 (I.) a v průběhu Covid-19 (II.) v procentech

12 Seznam zkratek

AMI	amikacin
AMP	ampicilin
AmpC	typ širokospektré β -laktamázy (třída C dle Amblera)
AMR	bakteriální antimikrobiální rezistence
AMS	ampicilin/sulbaktam
ANZICS	Australia and New Zealand Intensive Care Society
ARDS	syndrom dechové tísně dospělých
ATCC	sběrka tkáňových a buněčných kultur (<i>American Type Culture Collection</i>)
ATB	antibiotikum
ATC/DDD	systém klasifikace léčiv (<i>Anatomical therapeutic chemical classification system/defined daily dose</i>)
BMI	body mass index
CAP	komunitní pneumonie (<i>community acquired pneumonia</i>)
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CIP	ciprofloxacin
CLI	klindamycin
COL	kolistin
CPAP	neinvazivní mechanické ventilace u spontánně dýchajícího pacienta (<i>Continuous Positive Airway Pressure</i>)
CPM	cefepim
CRP	C-reaktivní protein
CRX	cefuroxim
CS	koeficient podobnosti
CTX	cefotaxim
CTZ	ceftazidim
CZL	cefazolin
DCD	dolní cesty dýchací
DM	diabetes mellitus
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EARS-Net	European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
ECMO	mimotělní membránová oxygenace
ENVIS LIMS	Laboratorní informační systém
ERY	erytromycin
ESBL	širokospektré β -laktamázy (<i>extended-spectrum beta-lactamases</i>)
ESICM	European Society of Intensive Care Medicine
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FEV 1	jednovteřinová vitální kapacita

FNOL	Fakultní nemocnice Olomouc
FUR	nitrofurantoin
GBS	<i>Streptococcus agalactiae</i> (Group B Streptococcus)
GEN	gentamicin
GIT	gastrointestinální trakt
HAP	nosokomiální pneumonie (<i>Hospital Acquired Pneumonia</i>)
HCD	horní cesty dýchací
HFNOT	vysokoprůtoková nasální kyslíková terapie (<i>High Flow Nasal Oxygen Therapy</i>)
HOK	Hemato-onkologická klinika
CHOPN	chronická obstrukční plicní nemoc
ICU	jednotka intenzivní péče (<i>Intensive care unit</i>)
IPCHO	Intenzivní péče chirurgických oborů
KARIM	Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny
LNZ	linezolid
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight
MDR	multirezistentní bakterie (<i>Multidrug resistant</i>)
MER	meropenem
MRSA	metilicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
NHSN	National Healthcare Safety Network
NIH	National Institutes of Health
NIV	neinvazivní ventilace
OOP	ochranné osobní prostředky
OXA	oxacilin
PBP2a	Penicillin binding protein 2a
PCR	Polymerázová řetězová reakce (<i>polymerase chain reaction</i>)
PCT	prokalcitonin
PET/CT	pozitronová emisní tomografie
PFGE	pulsní gelová elektroforéza (<i>pulsed-field gel electrophoresis</i>)
PPT	piperacilin/tazobaktam
RAPD	náhodná amplifikace polymorfní DNA (<i>Random Amplification Polymorphic DNA</i>)
RTG	rentgen
RT-PCR	polymerázová řetězová reakce v reálném čase (<i>real-time PCR</i>)
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
SCCM	Society of Critical Care Medicine
TEI	teikoplanin
TIG	tigecyklin
TNM	celosvětově uznávaný standart pro klasifikaci maligních nádorů
TOB	tobramycin
UPV	umělá plicní ventilace
UV	ultrafialové záření
VAN	vankomycin

VAP	ventilátorová pneumonie
VRE	vankomycin-rezistentní enterokok
WBC	leukocyty (<i>white blood cells</i>)
WHO	World Health Organisation