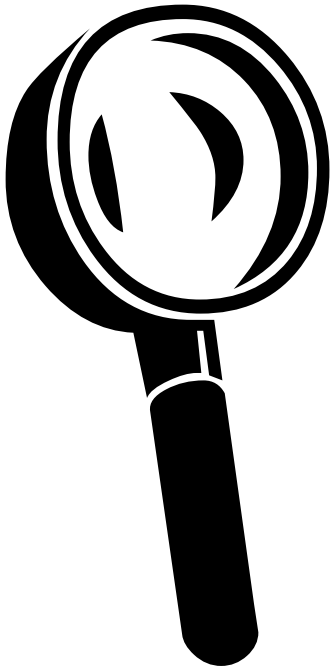


Mikrobiologický ústav uvádí

## NA STOPĚ PACHATELE



Díl první: Pachatelem je  
stafylokok

# Obsah

Přehled klinické bakteriologie

Klinická charakteristika: *Staphylococcus aureus*

Klinická charakteristika: koagulázanegativní stafylokoky

*Mikrokoky: vsuvka pro zvidavé*

Diagnostika stafylokoků

Diferenciální diagnostika stafylokoků I

Diferenciální diagnostika stafylokoků II

Testování antibiotické citlivosti a antibiotická léčba

# Přehled klinické bakteriologie

# Speciální bakteriologie (P01–P09)

- Nyní budeme mít devět praktik týkajících se bakterií (P01 až P09)
- Seznam není úplný, a také bakterie nejsou roztríděny podle taxonomie, ale spíše podle mikroskopického vzhledu (*ačkoli např. být kokem neznamena být příbuzný jiným kokům*)
- Některé bakterie (mykoplasmata, chlamydie, rickettsie) se v praxi neprobírají; některé z nich byly zmíněny ve virologii nebo metodologické části praktik
- Samozřejmě, znalost i těchto bakterií bude vyžadována u závěrečné zkoušky

# Speciální bakteriologie (P01–P09)

- Grampozitivní (G+) koky: P01, P02, P03 (část)
- G+ tyčinky: P03 (část)
- G– tyčinky: P04, P05, P06 (část)
- G– koky: P06 (část)
- Striktně anerobní bakterie: P07
- Acidorezistentní, částečně acidorezistentní a větvené tyčinky: P08
- Spirochety: P09

Řekneme-li „grampozitivní koky“, není to taxonomická jednotka. Některé G+ koky (např. *Staphylococcus*) jsou fylogeneticky blíže příbuzné některým G+ tyčinkám (např. *Bacillus*) než některým jiným kokům (*Streptococcus*, či dokonce *Micrococcus*)

Ani Gramovo barvení není jednoznačné. Mykoplasmata jsou fylogeneticky blízká G+ bakteriím, ale nemají buněčnou stěnu, a tak se barví slabě růžově (tedy jako gramnegativní organismy).

# Lékařsky významné G+ bakterie (+ acidorezistentní bakterie a mykoplasmata) v moderní taxonomii

- **G+ bakterie, kmen Firmicutes, třída Bacilli**
  - Řád Bacillales: čeledi *Bacillaceae* (P03), *Listeriaceae* (P03), *Staphylococcaceae* (P01)
  - Řád Lactobacillales: čeledi *Lactobacillaceae* (P03), *Streptococcaceae* (P02), *Enterococcaceae* (P03)
  - Řád Erysipelotrichiales: čeleď *Erysipelotrichiaciae* (P03)
  - ?Řád Mollicutes: čeleď *Mycoplasmataceae* (někdy ale považovány za zvláštní kmen!)
- **G+ bakterie, kmen Firmicutes, třída Clostridia**
  - Řád Clostridiales (P07): čeledi *Clostridiaceae*, *Peptococcaceae*, *Peptostreptococcaceae*
- **G+ bakterie, kmen Actinobacteria, třída Actinobacteria**
  - Řád Actinomycetales: čeledi *Actinomycetaceae*, *Nocardiaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Mycobacteriaceae* (P03 a P08)
  - Řád Bifidobacteriales: čeleď *Bifidobacteriaceae* (například složka střevního mikrobiomu *Bifidobacterium* a poševní bakterie *Gardnerella*)
  - Řád Coriobacteriales: čeleď *Coriobacteriaceae*, např. poševní *Atopobium*

# Lékařsky významné G– bakterie (+ spirochety) v moderní taxonomii

- **G– bakterie, kmen Proteobacteria, třída Alphaproteobacteria**
  - Řád Rickettsiales: čeleď *Rickettsiaceae* (není obsažena v praktiku)
- **G– bakterie, kmen Proteobacteria, třída Betaproteobacteria**
  - Řád Burkholderiales: čeleď *Burkholderiaceae* (P05)
  - Řád Neisseriales: čeleď *Neisseriaceae* (P06)
- **G– bakterie, kmen Proteobacteria, třída Gammaproteobacteria**
  - Řád Aeromonadales: čeleď *Aeromonadaceae* (P04)
  - Řád Enterobacteriales: čeleď *Enterobacteriaceae* (P04; navrženy nové čeledi)
  - Řád Pasteurellales: čeleď *Pasteurellaceae* (P05)
  - Řád Pseudomonadales: čeledi *Pseudomonadaceae* (P05), *Moraxellaceae* (P06)
  - Řád Xanthomonadales: čeleď *Xanthomonadaceae* (P05, včetně *Stenotrophomonas*)
  - Řád Vibrionales: čeleď *Vibrionaceae* (P04)
- **G– bakterie, kmen Proteobacteria, třída Epsilonproteobacteria**
  - Řád Campylobacteriales: čeledi *Campylobacteriaceae* a *Helicobacteriaceae* (P04)
- **G– bakterie (?), kmen Planctobacteria, třída Chlamydiae**
  - Řád Chlamydiales: čeleď *Chlamydiaceae* (není v praktiku)
- **G– bakterie (?), kmen Spirochaetes, třída Spichochaetia**
  - Řád Spirochaetales: čeledi *Leptospiraceae* a *Spirochetaceae* (P09)

Klinická

charakteristika:

*Staphylococcus*

*aureus*



# Příběh první

- **Paní J. K.**, kuchařka ve studentské menze. Má na ruce **puchýř, naplněný žlutobílým hnisem**. Nevěnuje mu však pozornost. Bere do ruky knedlíky, které se už nevaří, ale jen prohřívají
- **Student Miloš** s přítelkyní si pochutnají na knedlicích. Odpoledne mají schůzku ... ale co to? Půl hodinu před schůzkou Miloše najednou **rozbolelo břicho, má průjem a zvrací**. Volá přítelkyni – ta má ale pochopení, je na tom stejně... Romantické odpoledne se nekoná...

# Kdo je vinen?

- Vinen je (vedle oné kuchařky) i ***Staphylococcus aureus***  
*název z řeckého σταφυλή (staphylé) = hrozen*
- Tento „zlatý stafylokok“ s oblibou způsobuje hnisavé infekce kůže a kožních adnex
- Některé (velmi vzácné) kmeny produkují **enterotoxiny**, které fungují jako tzv. **superantigeny**
- Intoxikace bakteriálním toxinem se, na rozdíl od střevní infekce (jako je salmonelóza), projeví velice rychle; obvykle také rychle odezní
  - **Enterotoxikóza** = situace, kde nemoc je způsobena pozřeným toxinem vyprodukovaným **mimo střevo**, nikoli tedy samotným mikrobem
  - **Střevní infekce** = situace, kdy se mikrob množí ve střevě (a buď proniká do jeho stěny, nebo produkuje toxiny **uvnitř** střeva)

# Příběh druhý

- **Studentka P. Z.** je unavená. Má hodně učení, a navíc „své dny“. Nakonec usnula, aniž by si vyměnila tampón, ačkoli už ho měla dlouho...
- Najednou ji chytila **třesavka, mdloby, horečka**. Spolubydlička ji našla ležící na koberci a volá 155. Objevila se **vyrážka**, leží na JIP infekční kliniky...

## *Kdo je vinen tentokrát?*

- Opět je viníkem ***Staphylococcus aureus***, tentokrát kmen produkující toxin zvaný **TSST-1** (toxin syndromu toxického šoku)
- Také tento toxin je **superantigenem**
- Způsobuje toxický šok, typicky se vyskytuje u **uživatelék menstruačních tampónů**

# *Staphylococcus aureus*

## (zlatý stafylokok)

- Jediný pro člověka běžně významný z tzv. **koaguláza pozitivních stafylokoků**
- Původce infekcí kůže, chlupů, nehtů, otitis externa, zánětů spojivek, infekcí HCD
- Někdy také původce abscesů ve tkáních
- Některé kmeny, vybavené určitými **neobvyklými** faktory virulence, způsobují závažné, ale vzácné choroby
- Na druhou stranu mikroba nalezneme i na kůži zcela zdravých osob

# Faktorů virulence, nalézaných u *S. aureus*, je veliké množství...

- ...ale podíl kmenů, které je produkuje je různý:
  - skoro 100 % u koagulázy, hyaluronidázy, clumping faktoru (proto se používají jako diagnostické testy)
  - 20–80 % pro hemolysiny (alfa, beta, delta)
  - 0,1 % a méně pro vzácné, ale závažné faktory
    - exfoliatiny A a B, enterotoxiny A a B, toxic shock syndrome toxin (TSST-1), PVL (Panton-Valentinův leukocidin) a další

# Abscesy

- Na rozdíl od streptokoků, které vytvářejí ve tkáni zpravidla **neopouzdržené flegmóny**, tvoří stafylokoky spíše **opouzdržené abscesy.**



# Kožní infekce

- Typické stafylokokové infekce jsou infekce kůže, jako například

impetigo

furunkl

karbunkl

folikulitida



Klinická

charakteristika:

*Staphylococcus*

sp. (koag.-neg.)



# Příběh třetí

- **Mladík F. B.** se zotavuje po těžké havárii. Do krevního řečiště má zavedeny dva žilní katétry pro infusní výživu a odběry krve
- Náhle se stav **prudce zhoršil**, objevily se vysoké horečky, které kolísají – ošetřující lékař vyslovil podezření na septický stav, odebírá krev na kultivaci (hemokulturu)
- Po **vyměnění katetru a antibiotické léčbě** se stav opět zlepšil

# A kdo je vinen nyní?

- Vinen je *Staphylococcus epidermidis*, nejběžnější z takzvaných **koaguláza negativních stafylokoků**
- Koaguláza negativní stafylokoky patří **do stejného rodu jako zlatý stafylokok**
- Jsou **mnohem méně patogenní než on**
- V poslední době jsou však velice významnými původci infekcí u **oslabených osob**, zejména nemocničních
- Na katétrech a jiných plastech často tvoří **biofilm**

*Proč říkáme koaguláza negativním stafylokokům koaguláza negativní? Dozvíte se za chvíli...*

# *Staphylococcus epidermidis*

Autor: Prof. MVDr. Boris Skalka, DrSc.

Autor: Prof. MVDr. Boris Skalka, DrSc.



# Koaguláza negativní stafylokoky



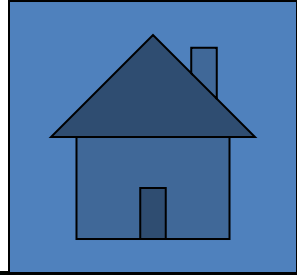
- **Koaguláza negativní stafylokoky** (*Staphylococcus epidermidis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus* a asi čtyřicet dalších druhů a poddruhů) jsou hlavní součástí běžné bakteriální mikroflóry kůže.
- Mohou být ale původci močových infekcí, případně i infekcí ran, katetrových sepsí (hlavně *S. saprophyticus*) aj.
- Jejich nálezy se tedy hodnotí jinak např. ve výtěru v nosu či ve stolici, jinak v moči, a zcela jinak v hemokultuře.
- Vedle *S. aureus* a koaguláza negativních stafylokoků existuje i kategorie „koaguláza pozitivních stafylokoků jiných než *S. aureus*“. Tato kategorie má ale v humánní klinické mikrobiologii minimální význam, a proto často zjednodušeně rozdělujeme stafylokoky pouze na *S. aureus* a koaguláza-negativní druhy.

Mikrokoky  
(vsuvka pro  
zvídavé)

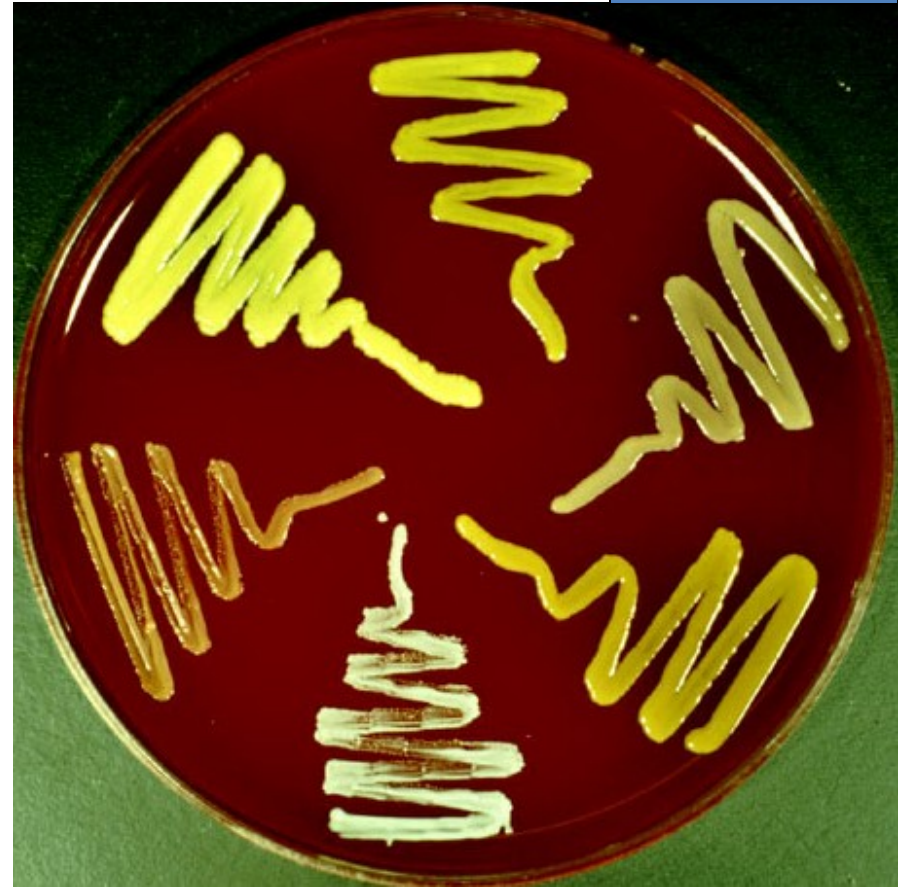
# Pro zvědavé: něco o mikrokocích

- **Mikrokoky** se dlouho považovaly za blízké příbuzné stafylokoků. Aktuálně ale patří do jiného kmene (jsou si tedy se stafylokoky příbuzné asi jako člověk a hvězdice)
- Jsou to rovněž grampozitivní koky v malých shlucích, jsou však **oxidáza pozitivní**
- Dřívější rod *Micrococcus* se rozpadl do šestnácti rodů, např. *Micrococcus*, *Kytococcus*, *Kocuria*, *Nesterenkonia* aj. ***Kocuria*** se jmenuje po

# Mikrokoky mají krásné pigmenty



- *Micrococcus luteus* je sírově žlutý (ne zlatý jako *Staphylococcus aureus*), *Kocuria rosea* je růžová
- V klinickomikrobiologické laboratoři je nacházíme většinou jako kontaminaci.



# Diagnostika stafylokoků

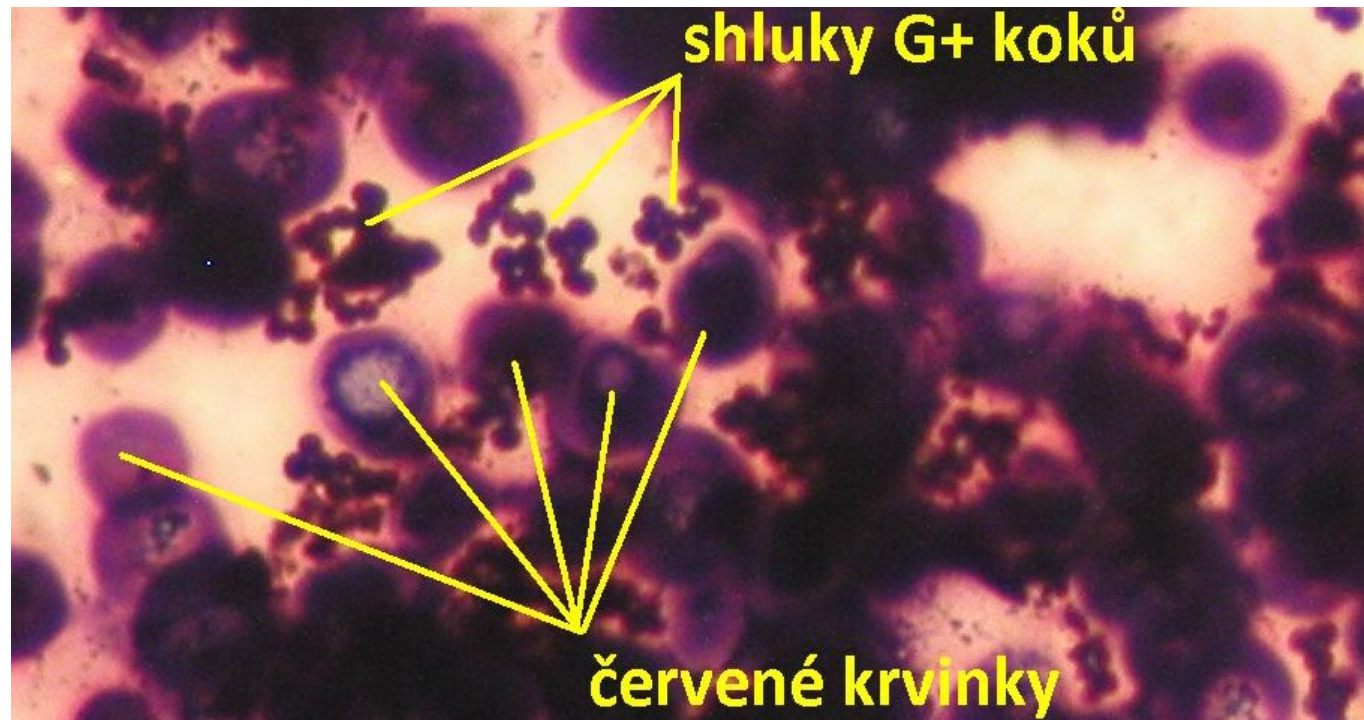


# Popis pachatele (diagnostika)

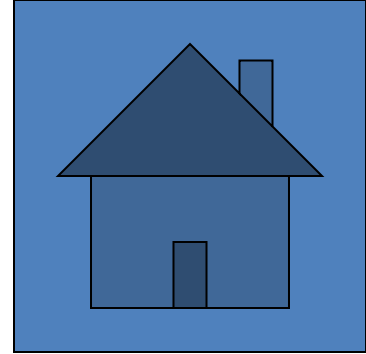
- **Mikroskopie:** grampozitivní kok
- **Kultivace:** na KA kolonie větší (2 mm), ploché, máslovité konzistence, bílé, anebo (hlavně u zlatého stafylokoka) nazlátlé
- **Identifikační testy:** kataláza pozitivní, oxidáza negativní, biochemicky lze rozlišit jednotlivé druhy; to lze také pomocí MALDI-TOF
- **Antigenní analýza a speciální testy** mohou při pátrání velice pomoci

# Když pátráme po pachateli mikroskopicky ve vzorku

- Prohlížíme mikroskopický preparát sputa, obarvený podle Grama
- Pátráme po grampozitivních kocích ve shlucích a také po erytrocytech (a případně i jakýchkoli jiných útvarech)



# Fotografie z databáze zločinců



Autor: Prof. MVDr. Boris Skalka, DrSc.



Autor: Prof. MVDr. Boris Skalka, DrSc.

Diferenciální diagnostika  
stafylokoků I: od  
„neznámé bakterie“ po  
rodové určení  
*„Staphylococcus“*

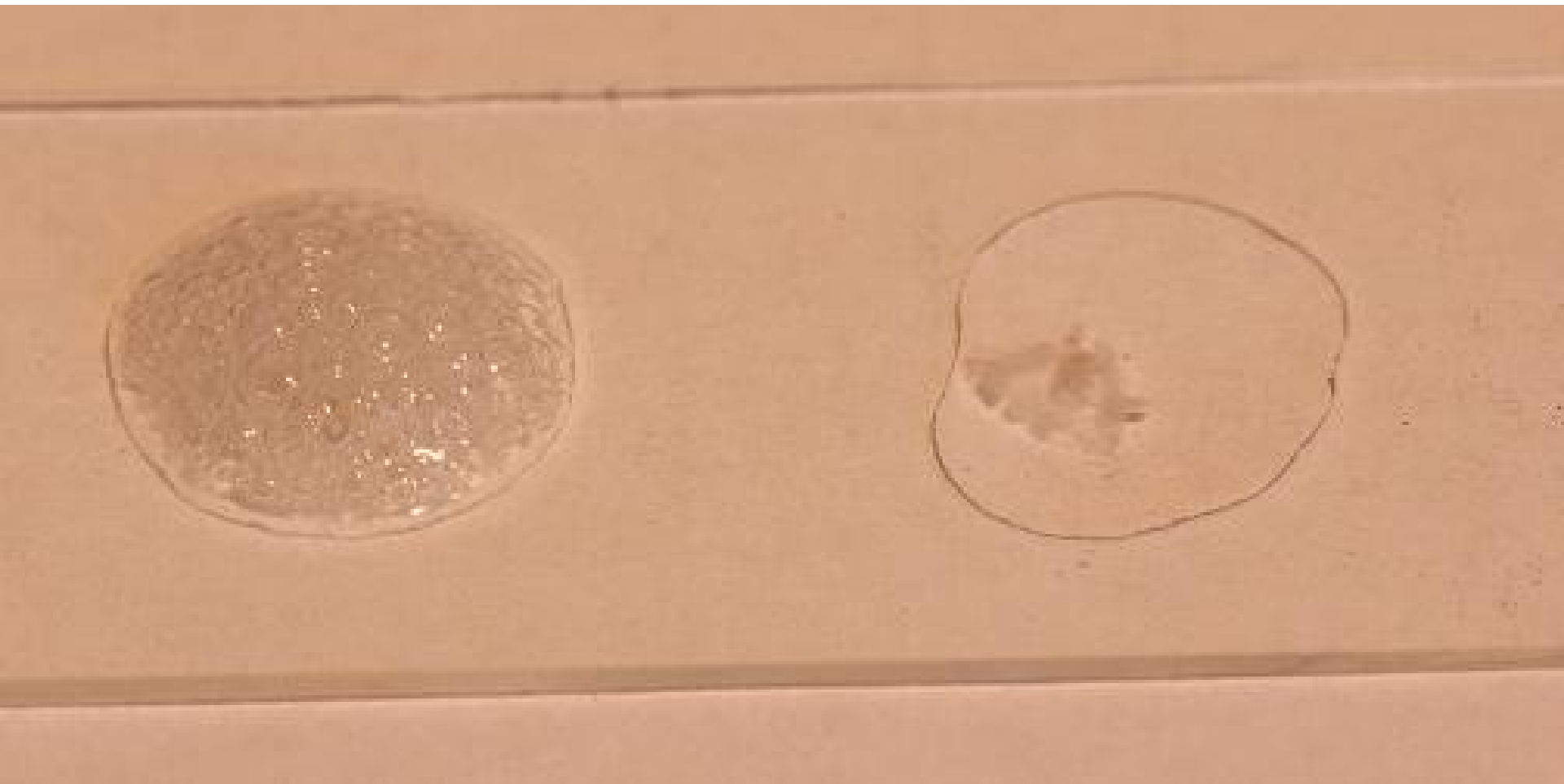
# Odlišení od ostatních podezřelých (diferenciální diagnostika 1)

- **Gramovo barvení** odhalí všechny bakterie, které nepatří mezi **grampozitivní koky**
- **Pozitivní kataláza** odliší stafylokoky od streptokoků a enterokoků. *Oxidázu bychom případně využili k odlišení mikrokoků (v praxi výjimečně)*
- Stejnou službu (a ve směsi mikrobů ještě lepší) udělá **kultivace na KA s 10 % NaCl**
- *Orientačně můžeme využít i toho, že kolonie ostatních G+ koků nejsou bílé či nazlátlé a že mikroskopicky netvoří shluky*

# Gramovo barvení (opakování)

- **Postup Gramova barvení:** Uděláme nátěr, necháme uschnout, fixujeme plamenem, poté barvíme: Gram 30 s, voda, Lugol 30 s, voda, alkohol 15 s, voda, safranin 60 s, voda, osušit, imerzní objektiv 100×)
- **Nyní již můžeme odlišit** vše co je gramnegativní a/nebo je to tyčinka, tj. vše, co nepatří mezi grampozitivní koky

# Katalázový test (pro připomenutí)





# Katalázový test + a -

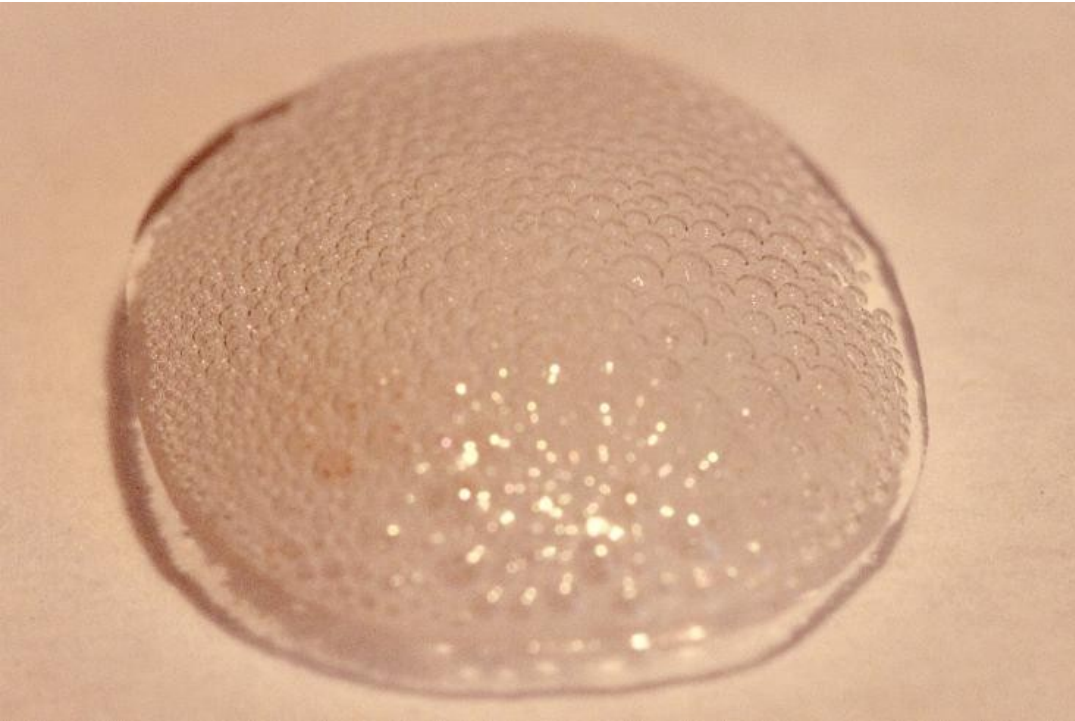
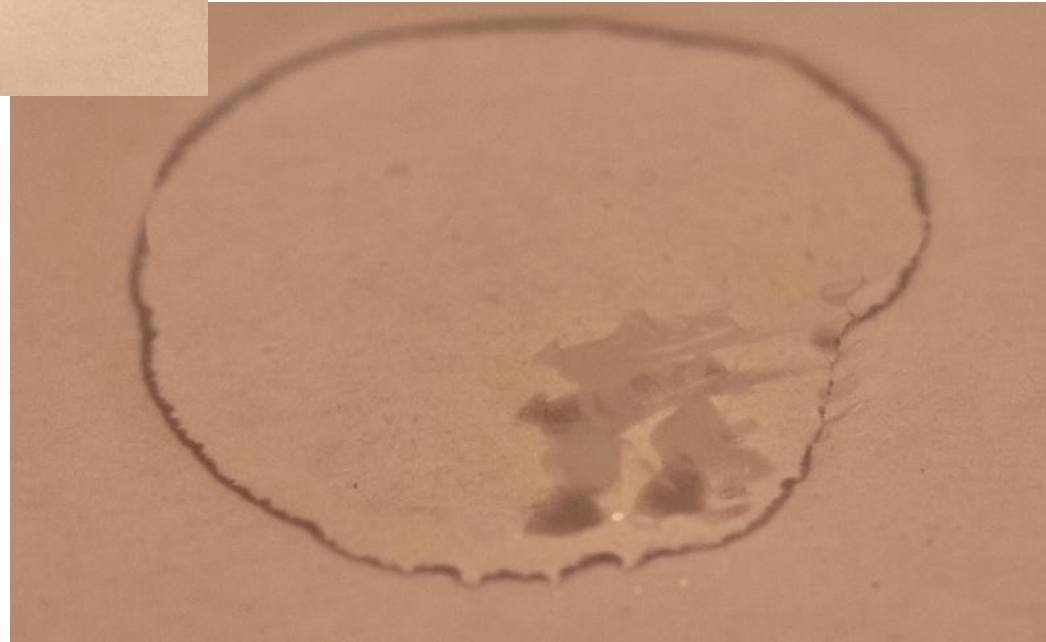


Foto: Veronika Holá

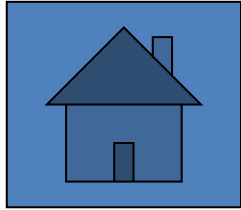




# Popis kolonií na KA

- Popis kolonií nemá konkrétní místo ve schématu algoritmu diferenciální diagnostiky stafylokoků. Přesto je užitečné si jej udělat. Můžeme „pojmout podezření“: například stafylokoky mívají oproti streptokokům bělejší (případně žlutavější) kolonie. Takové podezření je ovšem potřeba ověřit.

# Odlišení stafylokoků od jiných G+ koků



- Ve směsi se stafylokok prozradí růstem na KA s 10 % NaCl, ostatní G+ koky tu nerostou
- Máme-li čistý kmen, odhalíme stafylokoka i rychleji než kultivací na KA s 10 % NaCl a to katalázovým testem (kolonie vmícháme do kapky peroxidu vodíku). Pokud šumí, je to stafylokok

*Pozor! Kdybychom přeskočili předchozí kroky, udělali bychom špatně. Pozitivní katalázu má spousta bakterií. Relativně průkazná je jen tehdy, víme-li, že náš kmen je G+ kok*

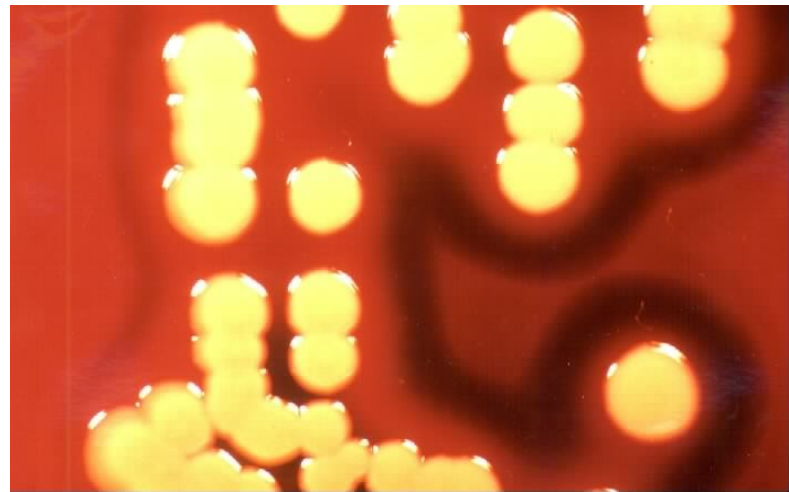
Diferenciální diagnostika  
stafylokoků II:  
kroky uvnitř rodu  
*„Staphylococcus“*

# Rozlišení podezřelých stafylokoků (diferenciální diagnostika 2)

- **Volná plasmakoaguláza** je pozitivní u zlatého stafylokoka, negativní u koaguláza negativních, proto se tak také jmenují
- **Clumping factor neboli vázaná plasmakoaguláza** se používá stejně, ale je méně spolehlivá
- **Komerční testy** na bázi antigenní analýzy jsou naopak velmi spolehlivé
- **Hyaluronidáza** je nejen spolehlivá, ale i levná

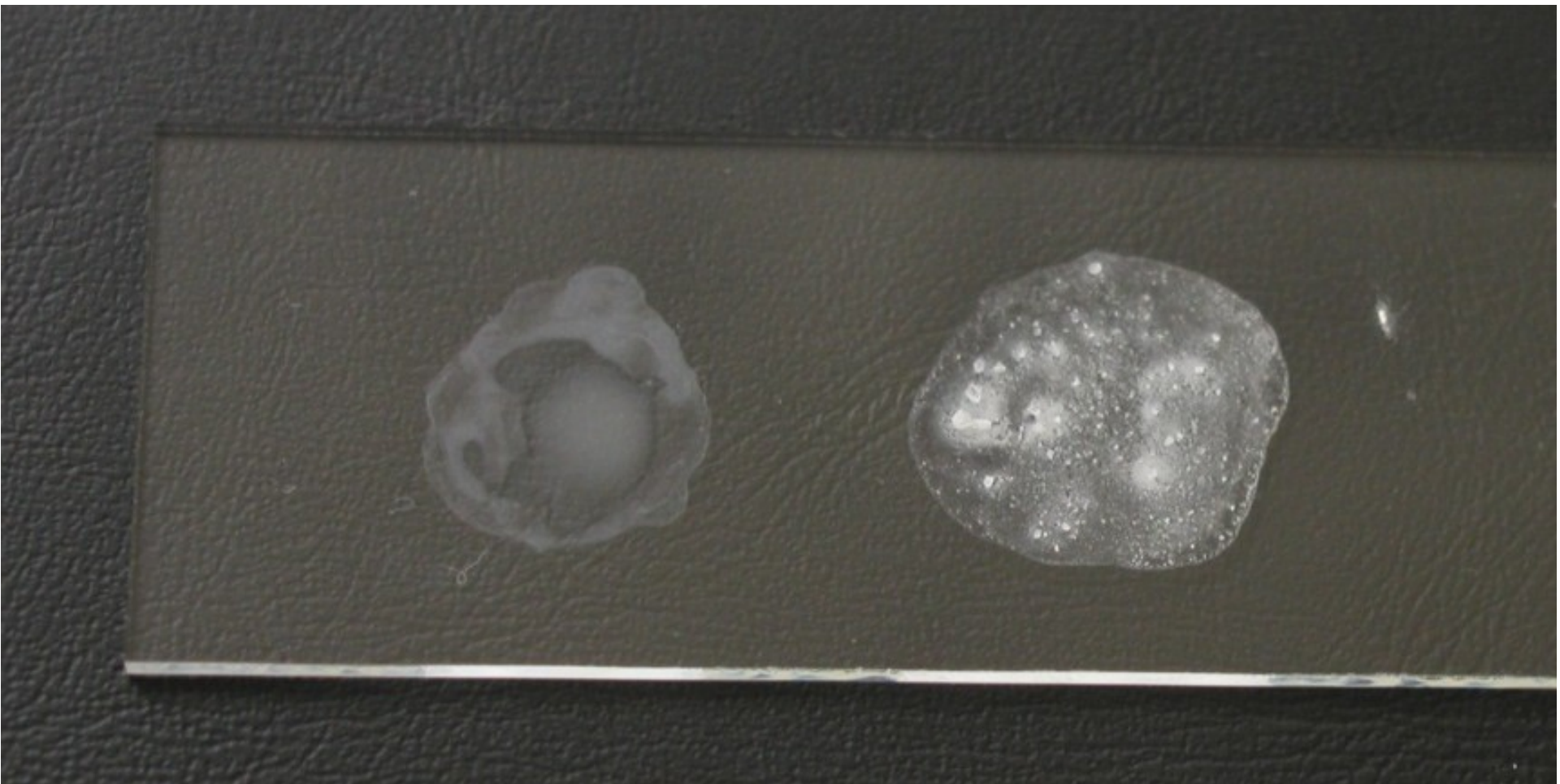
# Méně spolehlivé testy: hodí se při pátrání, ale nejsou „důkazem pro soud“!

- **Hemolýza:** Koaguláza negativní stafylokoky mohou produkovat jen delta hemolyzin, zlaté i alfa a beta, mívají proto mnohem výraznější hemolýzu
- **Nazlátlé zbarvení kolonií** a jejich větší průměr může také napovědět
- **Větší shluky v mikroskopii** jsou také typické pro zlaté stafylokoky



# Clumping factor neboli také vázaná plasmakoaguláza – rychlé

- Kolonie se vmíchají do kapky králičí plasmy na podložním sklíčku
- Pozitivita se projeví jako tvorba „chuchvalců“ v kapce plasmy (viz obrázek na další obrazovce)
- Nejde vlastně o KOAGULACI, ale o AGLUTINACI plasmy
- Test není příliš spolehlivý



# Volná koaguláza – klasika

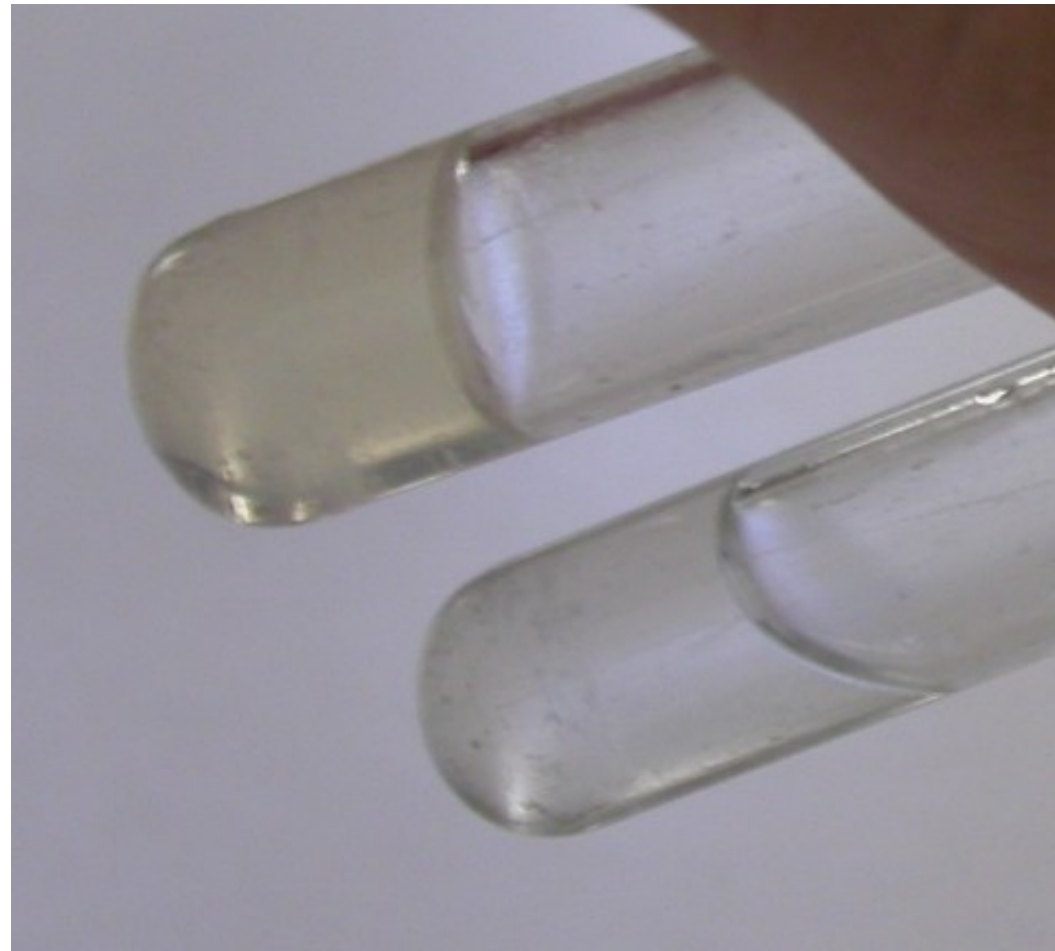
- Nejklasičtější z testů pro odlišení zlatého stafylokoka (koaguláza pozitivního stafylokoka)
- Kličkou nabrané kolonie vmícháme do králičí plasmy ve zkumavce
- Pokud plasma koaguluje (má konzistenci želé), je kmen koaguláza pozitivní



# Pozitivní a negativní plasmakoaguláza

- **První zkumavka – pozitivní** (gel, při naklonění nemění tvar)
- **Druhá a třetí zkumavka = negativní** (tekutina, při naklonění si uchovává vodorovnou hladinu)

Foto: Archiv MiÚ



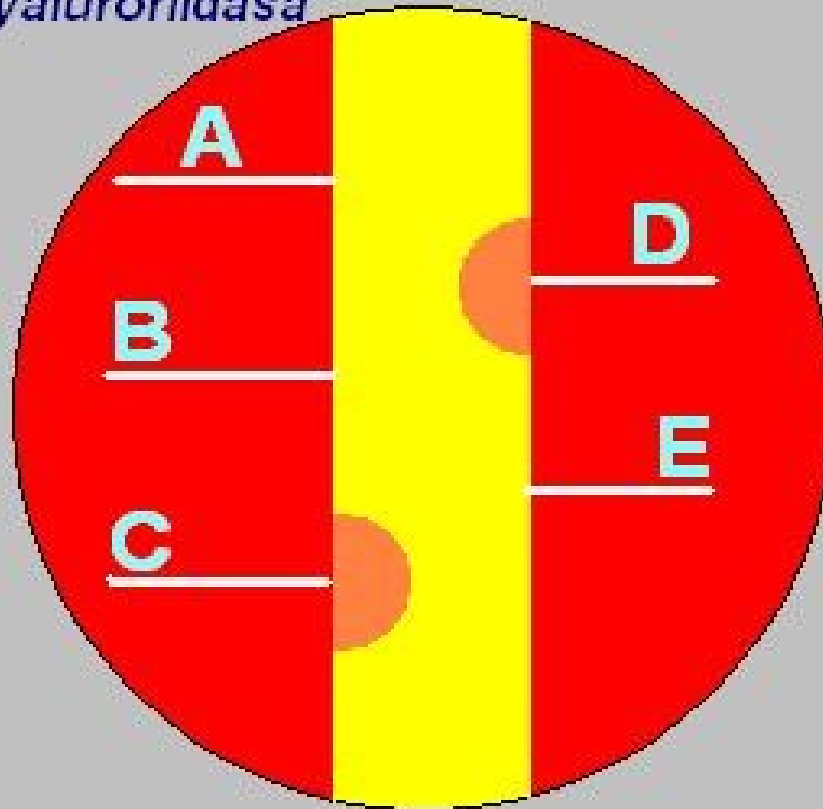
# Komerční testy, např. Staphaurex (v praxi je neprovádíme)

- Provedením připomínají clumping factor, ale jsou spolehlivější než volná plasmakoaguláza
- Jsou bohužel relativně dražší oproti předchozím
- Příkladem je **Staphaurex** (*video v angličtině*)

# Hyaluronidáza (test dekapulace – „odpouzdrění“)

- **Elegantní test**, jehož principem je skutečnost, že **hyaluronidáza, produkována zlatým stafylokokem** (ne však koaguláza negativními stafylokoky) rozpouští pouzdro (kapsulu) opouzdrěných bakterií. Používá se druh streptokoka ***Streptococcus equi***, pro člověka nepatogenní
- **Ztráta pouzdra** se projeví **změnou vzhledu streptokoka** (ztráta „hlenovitosti“)

# Hyaluronidasa



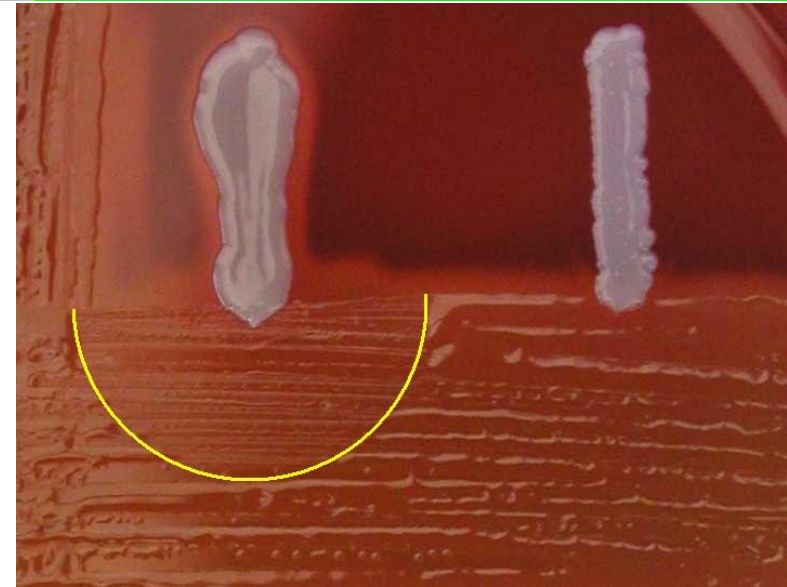
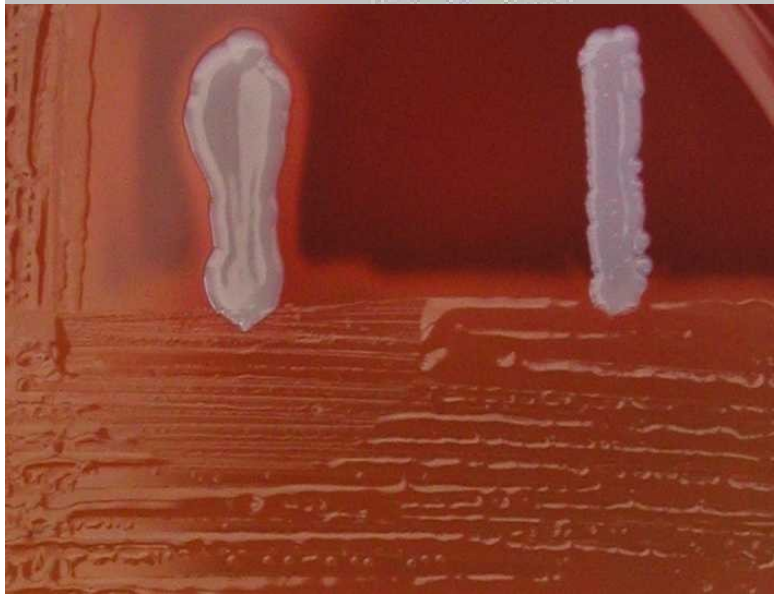
Žlutě "soplovitý" nárůst,  
oranžově suché kolonie.

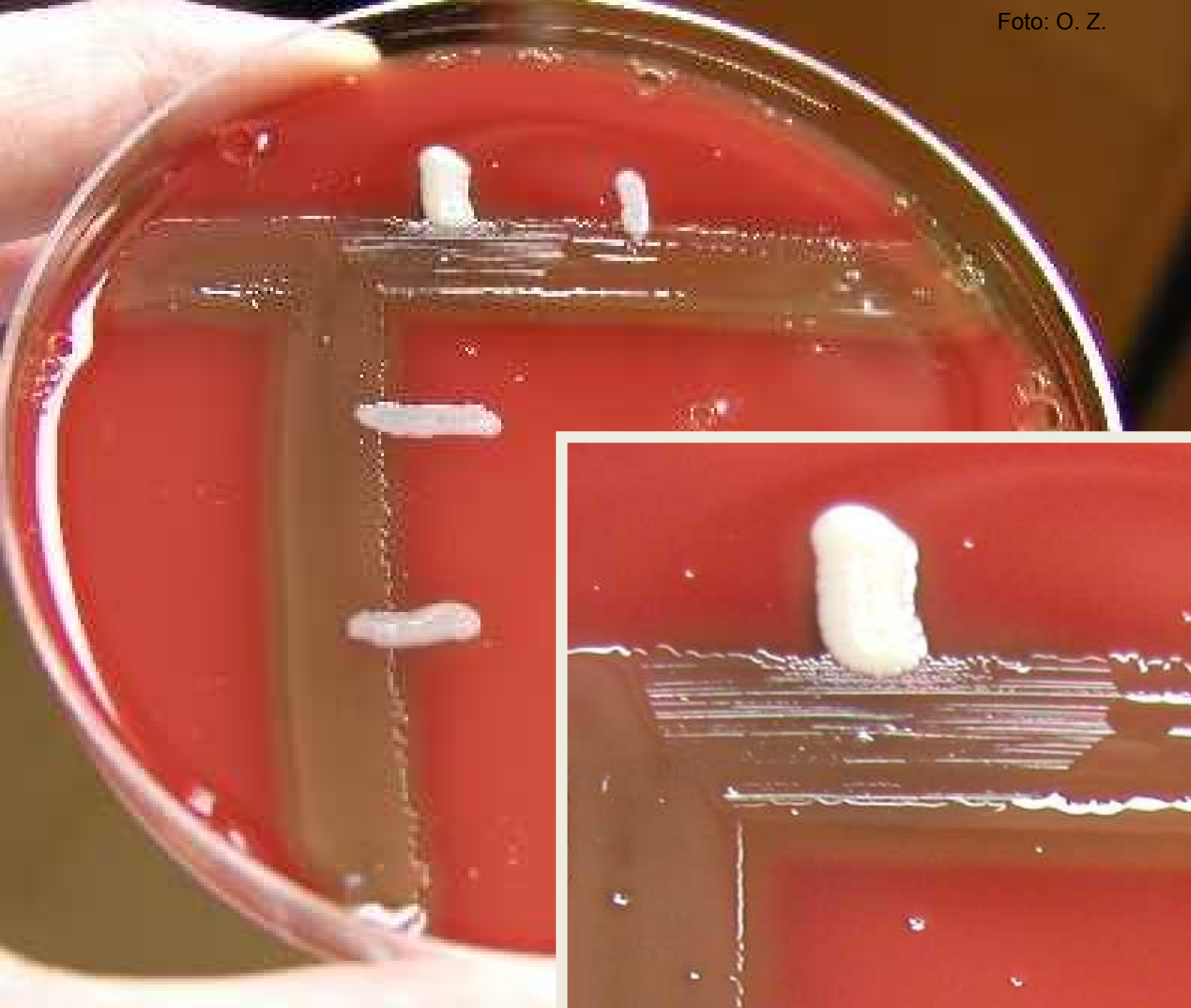
Bíle testované kmeny  
stafylokoků.

Hodnocení:

Kmeny C, D patří k druhu  
*Staphylococcus aureus*

Kmeny A, B, E patří mezi  
koagulázanegativní  
stafylokoky





# Shrnutí testů k odlišení *S. aureus*

- **Clumping faktorový test:** kolonie se vmíchají do kapky králičí plasmy na podložním sklíčku, pozitivní je aglutinace
- **Plasmakoagulázový test:** kolonie se vmíchají do kapky králičí plasmy ve zkumavce, pozitivní je koagulace (koagulovaná tekutina). Odečítá se orientačně po 4 h a spolehlivě až po 24 h.
- **Hyaluronidázový test:** K testovacímu opouzdřenému kmeni (koňský *Streptococcus equi*) se přiočkují testované kmeny. Pozitivní je kmen, který „rozpouští slizovitost“ pásu streptokoka (zbavuje ho pouzdra)

# Obávaný „zlatý“ to není: a co teď?

- Ve většině případů se spokojíme s tím, že jde o koaguláza negativního stafylokoka a **netrváme na druhovém určení**
- Pokud na druhovém určení trváme (např. u hemokultur), lze je provést **několika způsoby**
- MALDI-TOF je aktuálně nejpoužívanější způsob druhové identifikace. Nicméně musíme mít pro každý případ i alternativy
- STAPHYtest 16 je nejtypičtější česká varianta biochemického testu pro stafylokoky. Je potřeba pracovat dle návodu.
- Jak MALDI-TOF tak i STAPHYtest 16 jsou používány především pro **diagnostiku koagulázanegativních stafylokoků**; nicméně je můžeme použít i pro „potvrzení“ nálezu *Staphylococcus aureus*, ačkoli základem diagnostiky je stále hyaluronidázový nebo plasmagoagulázový test




















































# STAPHYtest 16 – jak ho odečíst

- Pozor – i když se jmenuje STAPHYtest 16, zahrnuje ve skutečnosti 17 reakcí. **Jako první se odečítá test VPT ve zkumavce.** Červená tekutina ve zkumavce = pozitivní VPT, bezbarvá tekutina = negativní
- **První řádek STAPHYtestu = 2.–9. reakce**
- **Druhý řádek STAPHYtestu = 10.–17. reakce**
- Vypočítejte kód a porovnejte s kódovníkem
- Kód je šestimístný. Prvních pět číslic je ze trojic testů, šestá číslice je z posledních dvou






















































# Příklad výsledku

(703 651 = *S. aureus*, 99,8 %,  $T_{in}=1,00$ )

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	Zkum	H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C	B	A
	Zkum	První řádek panelu								Druhý řádek panelu							
+																	
-																	
?																	
	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-
	1	2	4	<del>1</del>	<del>2</del>	<del>4</del>	1	2	<del>4</del>	<del>1</del>	2	4	1	<del>2</del>	4	1	<del>2</del>
	7			0			3			6			5			1	

# Jiný příklad výsledku

(703 241 = *S. epidermidis*, 97,95 %,  $T_{in}=1,00$ )

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	Zkum	H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C	B	A
		První řádek panelu								Druhý řádek panelu							
+																	
-																	
?																	
	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
	1	2	4	<del>1</del>	<del>2</del>	<del>4</del>	1	2	<del>4</del>	<del>1</del>	2	<del>4</del>	<del>1</del>	<del>2</del>	4	1	<del>2</del>
	7			0			3			2			4			1	

# Api Staph – zahraniční obdoba našich STAPHYtestů 16

- Bez ohledu na provenienci konkrétního testu zůstává princip stejný – **kombinace většího počtu enzymatických reakcí**, které se projeví změnou zbarvení reakčního důlku



# Jiná varianta testu API-Staph

- Na předchozím obrázku byl API-Staph pro automatické odečítání ve fotometru, tato varianta je pro „okometrické“ odečítání



# Shrnutí mikrobiologické diagnostiky stafylokokové infekce

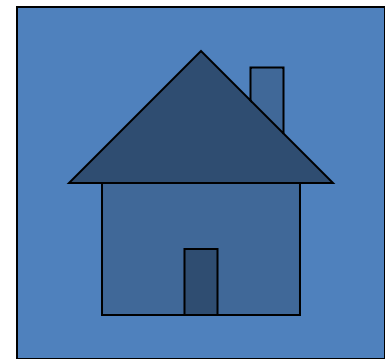
- *(Mikroskopie VZORKU – např. hemokultury)*
- Mikroskopie izolovaných KMENŮ

Nyní jsme odlišili grampozitivní koky od ostatních

- (Popis kolonií na krevním agaru)
- Katalázový test (odlišení strepto- a enterokoků)
- Růst na KA s 10 % NaCl

Nyní jsme již odlišili stafylokoky od ostatních koků

- Odlišení zlatého stafylokoka od koaguláza negativních druhů
- Druhové určení stafylokoka (je-li nutné)
- **Testování citlivosti na atb**
- *(pouze je-li stafylokok patogenem!)*

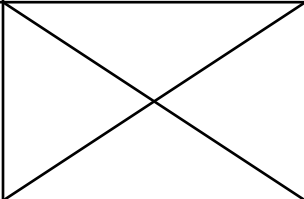
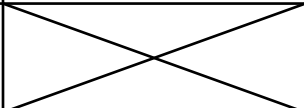


# Testování antibiotické citlivosti a antibiotická léčba stafylokokových infekcí

# Léčba stafylokokových infekcí

- Lékem volby pro infekce způsobené *S. aureus* je obecně **oxacilin**, ale existují výjimky
- **Makrolidy** a **tetracykliny** lze použít jako druhou volbu (u alergiků)
- **Cefalosporiny** 1. či 2. generace jsou na infekce močových cest vhodnější než oxacilin (který hůře proniká do močových cest)
- **Linkosamidy** se používají u stafylokokových infekcí pohybového systému (mají lepší průnik do kostní dřeně)
- **Vankomycin** či **linezolid** se používají u kmenů **MRSA** nebo u koaguláza-negativních staphylokoků (které jsou k oxacilinu citlivé mnohem méně často než *S. aureus*)
- U **MRSA** nelze použít žádné betalaktamy, s výjimkou cefalosporinu 5. generace **ceftarolinu**
- Ke zjištění sekundárních rezistencí zpravidla používáme **difusní diskový test** – měříme zóny a porovnáváme s referenčními
- Samozřejmě, antibiotické testy se používají jen u stafylokoků jako patogenů (= ne pokud je považujeme za běžnou mikroflóru)

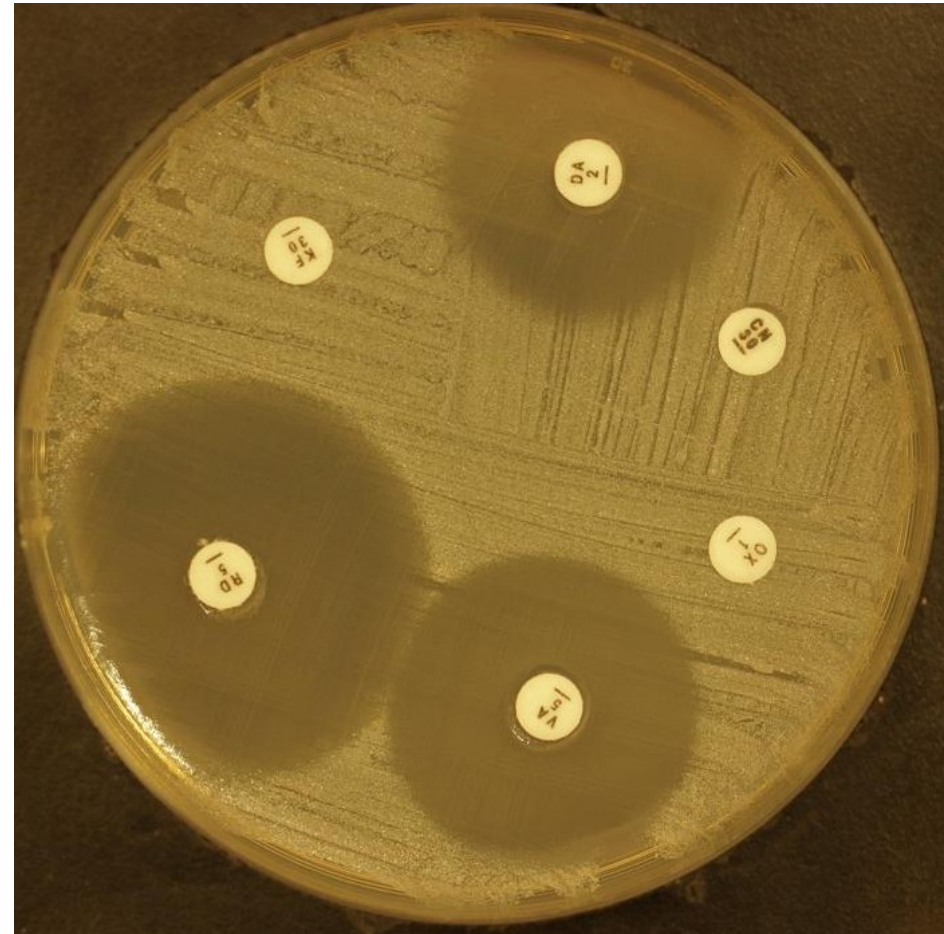
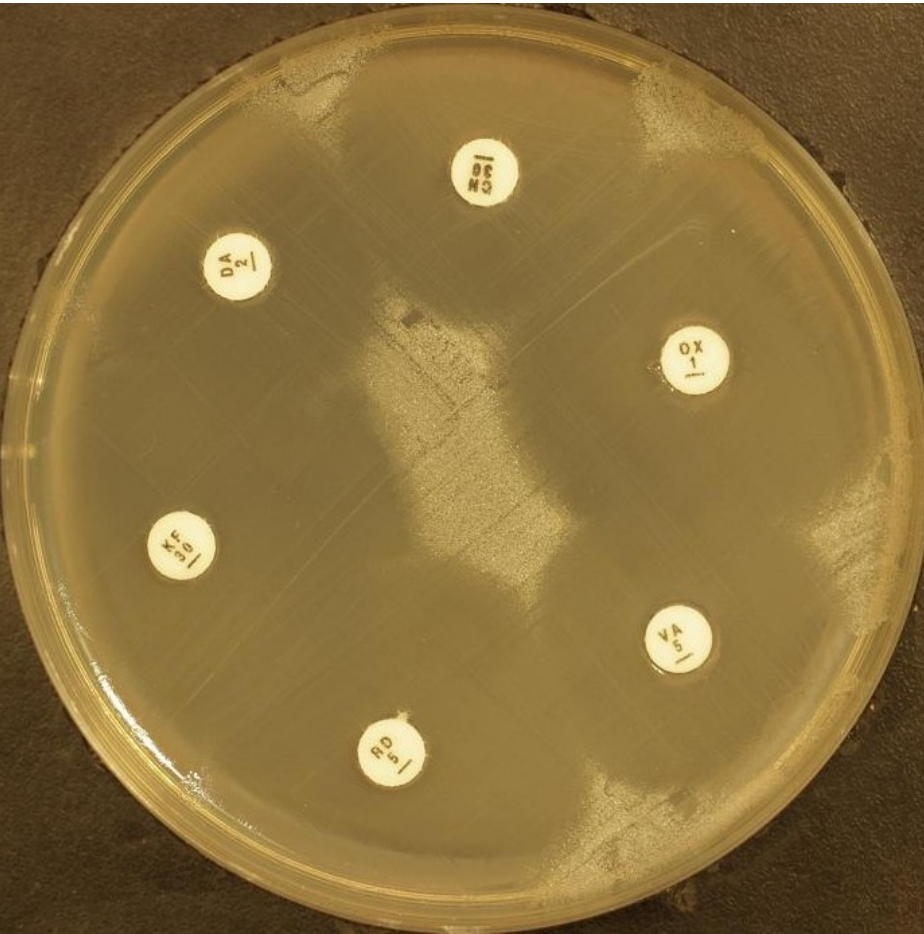
# Zóny citlivosti některých běžných protistafylokokových antibiotik

Antibiotikum	Zkr.	„C“ je-li $\geq$ než (mm)	„I“ je-li mezi (mm)	„R“ je-li $<$ než (mm)
Cefoxitin (cefalosporin); interpretace: oxacilin a další	CXT	$\geq$ 22/25*		22/25* *
Erythromycin (macrolid)	E	$\geq$ 21	18–20	$<$ 18
Clindamycin (linkosamid)	DA	$\geq$ 22	19–21	$<$ 19
Ko-trimoxazol (směs)	SXT	$\geq$ 17	15–16	$<$ 15
Tetracyklin (tetracyklin)	TE	$\geq$ 22	19–21	$<$ 19
Chloramfenikol	C	$\geq$ 18		$<$ 18

\*CXT: 22 mm *S. aureus*, 25 mm koagulázanegativní stafylokoky



Test citlivosti u zlatého a koagulázanegativního stafylokoka (zlatý stafylokok bývá v průměru citlivější)



# Kvalitativní a kvantitativní testy

- Zpravidla tedy používáme kvalitativní testy (difusní diskový test). Lze však použít i kvantitativní testy (např. mikrodiluční test nebo E-test). Konkrétní provedení může být různé.



Podle situace  
používáme buď

←kvalitativní, nebo  
kvantitativní testy →



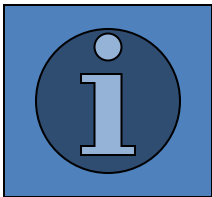
# Obvyklé pravidlo:

## horší patogen – lepší citlivost

- Při srovnání výsledků testů citlivosti lze často zaznamenat, že **horší patogen (zde zlatý stafylokok) je zpravidla citlivější než mírnější patogen** (koaguláza negativní stafylokok). Toto pravidlo je logické: menší patogenita je znakem adaptace, schopnosti mikroba koexistovat s námi a nevyvolávat u člověka chorobný stav. → přivyknutí mimo jiné i antibiotikům, která používáme.
- **Neplatí ovšem vždycky!** Existují výborně citlivé kmeny *S. epidermidis*, a existují kmeny MRSA mající zároveň rezistenci i na další skupiny antibiotik.

# MRSA a jejich detekce

- **Meticilin rezistentní stafylokoky (MRSA)** jsou epidemiologicky závažné kmeny, často způsobující nozokomiální infekce
- Příčinou je změna tzv. **penicillin binding proteins (PBP)**, **nikoli tedy produkce betalaktamázy!**
- Na MRSA upozorní **malá nebo žádná zóna u antibiotického disku oxacilinu či cefoxitinu**
- Lze také použít **screeningovou půdu** (vizte téma J05), případně PCR k **testování mecA genu**, kódujícího rezistenci
- Bonus v e-learningové verzi prezentace: rozšířené informace o MRSA zde →



# Konec

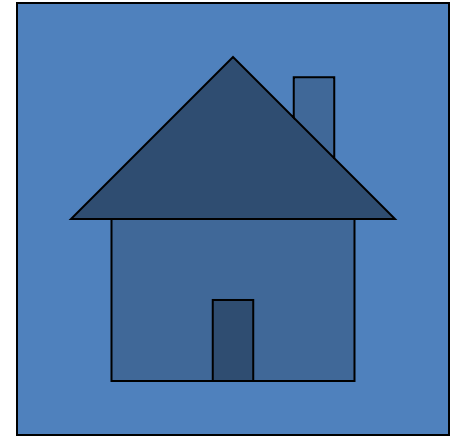


Foto: O. Z.

# Meticilin rezistentní stafylokoky (MRSA): více informací

- **Původně** byly i stafylokoky **citlivé na penicilin**, brzy však získaly rezistenci betalaktamázového typu
- **Meticilin poprvé použit 1959**, o něco později byl použit příbuzný oxacilin (z různých důvodů ho používáme raději než původní meticilin)
- První **výskyt MRSA** zaznamenán roku 1961, tehdy byl ovšem ojedinělý. Dnes se podíl MRSA na celkové populaci stafylokoků pohybuje v USA a většině evropských zemí v desítkách procent (vizte mapu na další stránce)
- Podkladem je alterace „penicillin binding proteins“. Kmeny MRSA jsou rezistentní na všechna betalaktamová antibiotika s výjimkou zcela nové 5. generace cefalosporinů (*ceftarolin*)

# MRSA jako medicínský problém

- Stárnutí populace
- Používání imunomodulační terapie
- Používání nitrožilních katetrů a nitrotělních implantátů
- Používání (a nadužívání antibiotik)

To vše jsou predisponující faktory, které ovlivňují riziko výskytu (nejen) MRSA

# MRSA není virulentnější než jiný kmen *S. aureus*

- Oproti vžitě představě je potřeba si uvědomit, že z hlediska schopnosti vyvolat infekci se **kmeny MRSA chovají úplně stejně jako kterýkoli jiný zlatý stafylokok**. Rezistence k oxacilinu není faktorem virulence kmene!
- Nejsou více, ale ani méně virulentní než jiné.



# Není MRSA jako MRSA

- Mezi kmeny MRSA existují velké vzájemné rozdíly
- Existuje **populace tzv. EMRSA** – epidemických MRSA, které se vyskytují především jako nemocniční kmeny. Jsou často polyrezistentní a například rezistence k erytromycinu je u nich téměř vždy doprovázena i rezistencí k linkosamidům
- Naopak existují tzv. **komunitní kmeny MRSA**, které jsou většinou dobře postižitelné i běžnými nebetalaktamovými antibiotiky. V našich podmínkách zatím stále převažují.

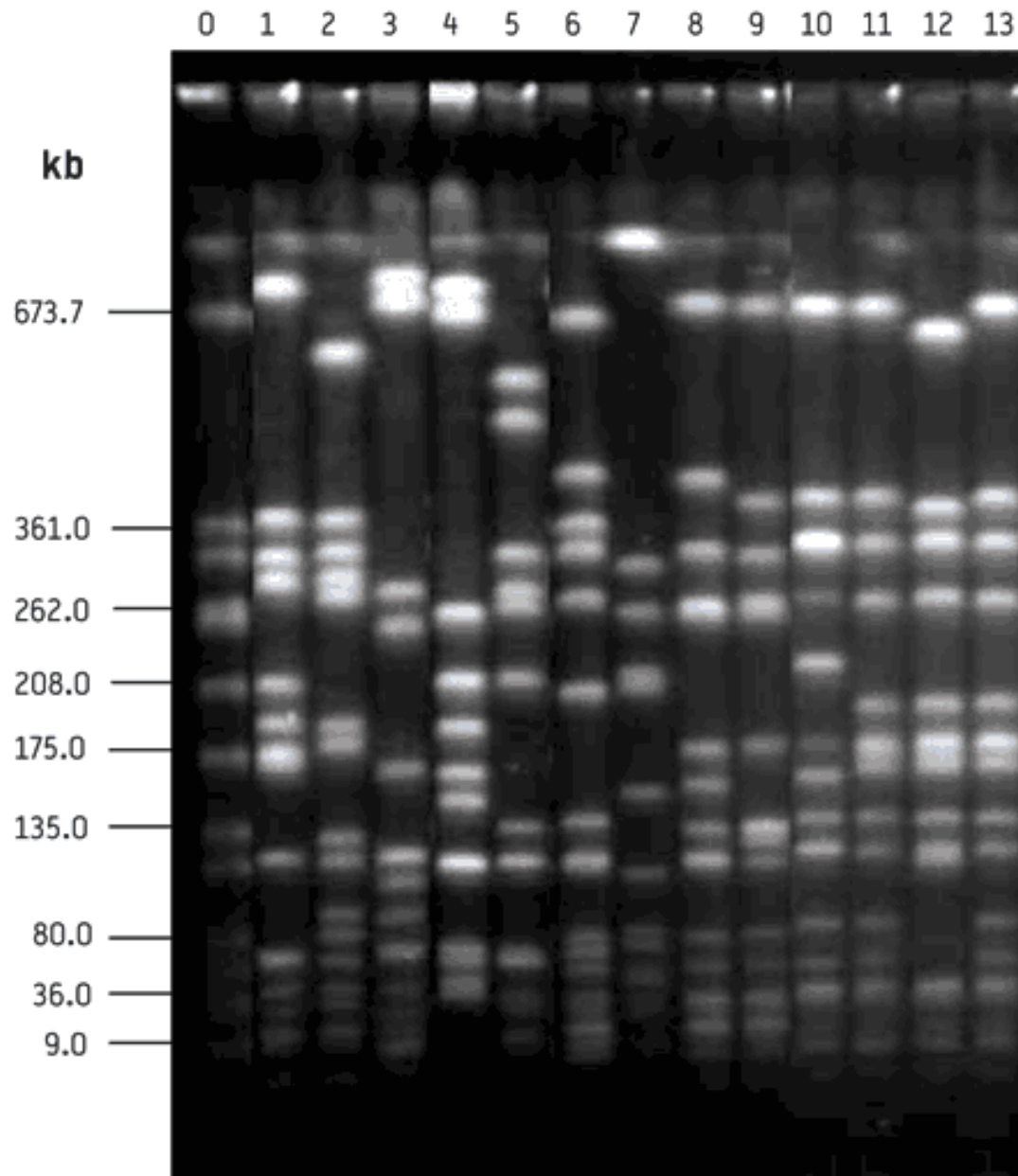
# Rozdíly lze zmapovat i PFGE

## Srovnání

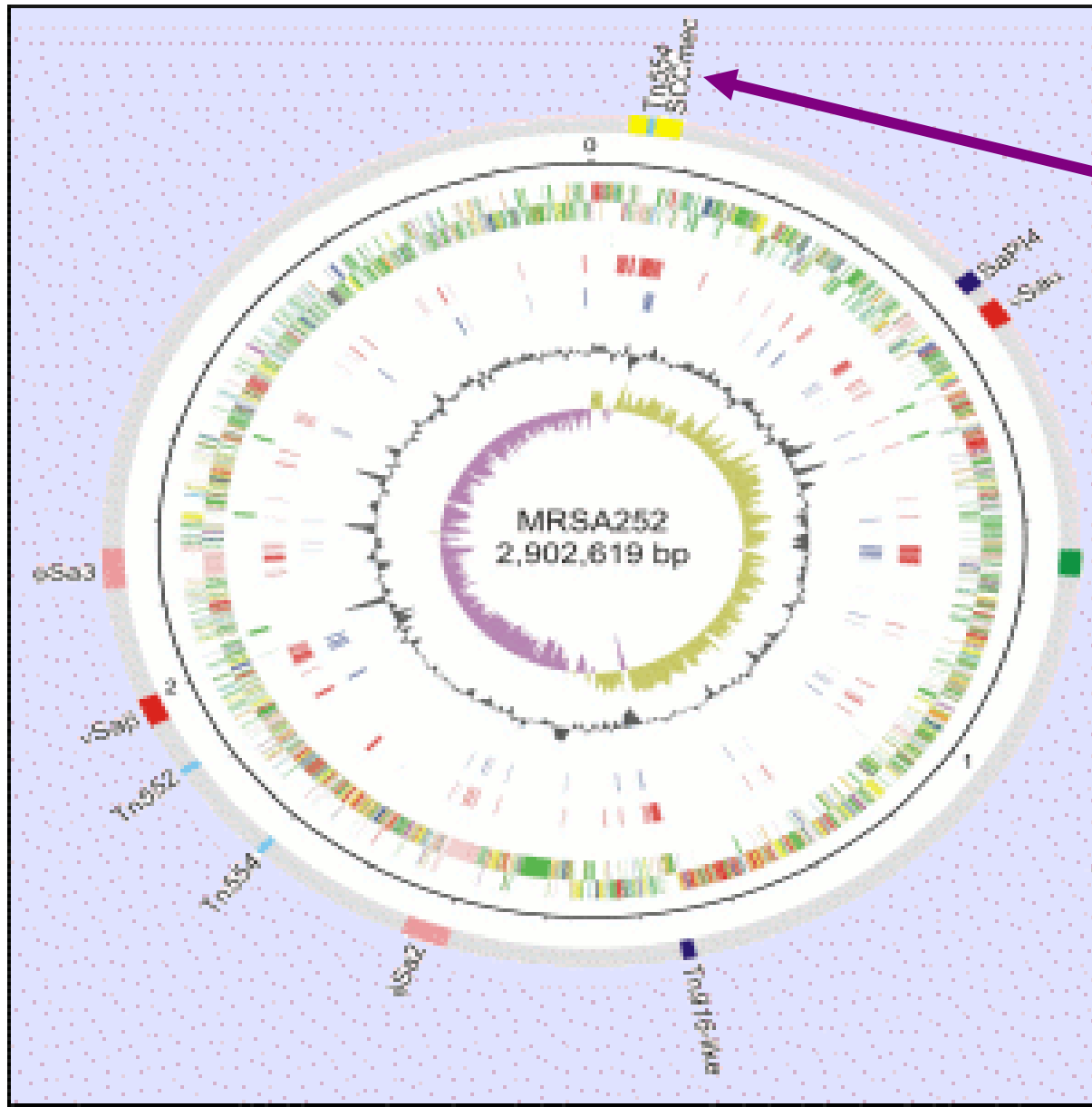
komunitních a nemocničních kmenů a kmenů od koní metodou PFGE ukazuje na časté podobnosti, ale i značné rozdíly mezi kmeny.

Zdroj:

<http://www.eurosurveillance.org/em/v11n01/1101-227.asp>



# Genom jednoho z kmenů MRSA



gen *mec*,  
podmiňující  
rezistenci

# Rozdíly jsou i v citlivosti na další atb

- Zde jsou dokumentovány tři populace kmenů s různými vzorci rezistence

TABLE

Characterisation of MRSA of MLST ST254 from infections in horses in VUW compared with healthcare-associated MRSA of MLST ST254 from humans and to MRSA from infections in horses, Canada

Origin	MLST	No. of isolates investigated	Resistance phenotypes	Resistance genes	PCR characterisation of SCCmec-elements
Horses, VUW	254	5	PEN, OXA, TET, GEN, TMP	mecA, tetM, aac6 <sup>+</sup> -aph2 <sup>+</sup>	IVd
Humans	254	5	PEN, OXA, ERY, CLI, TMP	mecA, ermA	IVc
Horses, Canada	8	1	PEN, OXA, ERY, CLI, GEN, OTE	mecA, ermC, aac6 <sup>+</sup> -aph2 <sup>+</sup> , tetM	IV

<http://www.eurosurveillance.org/em/v11n01/1101-227.asp>

# Aktuální situace v Brně

- Vyskytují se **sporadické případy MRSA** ve všech nemocnicích, občas se vyskytne kmen MRSA i u ambulantního pacienta. Celkově v naší laboratoři tvoří kmeny MRSA 8 až 9 % všech diagnostikovaných zlatých stafylokoků (2011–12)
- Naštěstí zpravidla **nedochází k významnějším epidemickým výskytům**, zejména díky obecnému povědomí o nutnosti dodržovat pravidla pro ošetřování pacientů s MRSA
- Některé kmeny jsou **dobře citlivé na jiná antibiotika**, pouze část kmenů je polyrezistentních

# MRSA – přístup k výskytu

- Protistafylokoková **vakcinace** (u nás se neprovádí)
- Eliminace **nosního nosičství zlatého stafylokoka** (pouze u indikovaných osob, např. před chystanými operacemi; zpravidla mupirocinem)
- Opatření k redukci **infekce žilních vstupů**
- Omezení používání **dialyzačních kanyl**
- Opatření k omezení **katetrových infekcí**, zejména u pacientů s hemodialýzou a peritoneální dialýzou

Podle

[www.ndt-educational.org/goldsmithslide.asp](http://www.ndt-educational.org/goldsmithslide.asp)

# Vakcinace

- Dle informací z internetu (viz předchozí obrazovka) jediná dávka vakcíny **signifikantně redukuje riziko bakteriémie** v příštích deseti měsících, a to nejvíce u nosních nosičů
- Vakcína je **dobře tolerována**, a to i u starších a oslabených
- Kromě komerčně dostupných vakcín lze případně použít i autovakcíny od pacienta – jediné ty se používají i v našich podmínkách

# Eliminace nosního nosičství

- Má smysl pouze krátkodobě, např. před výkonem, a nelze použít celkově působící látky
- Eradikace nosního nosičství má jen **omezenou účinnost** a je obvykle jen **dočasná**
- Záleží také **na predispozici té které osoby být nosičem** (trvalým, či jen přechodným)
- Provádí se **lokálními antiseptiky**, především **mupirocinem**
- *Dobré výsledky má údajně také použití extraktů z medu včel, pasoucích se na jisté australsko-novozélandské bylině*



# Prevence infekce žilních vstupů

- I při ošetřování žilních vstupů lze použít lokální antibiotika (antiseptika), např. mupirocin, ale též např. jodové preparáty apod.

# Omezení katetrových sepsí

- **Proplachování hemodialyzačních katetrů** např. směsí gentamicinu s heparinem či gentamicinu s citrátem („antibiotic lock“)
- Používání katetrů **napuštěných určitým antibiotikem**
- Spolupráce mikrobiologů a makromolekulárních chemiků při vývoji **nových plastů**, které nepodporují tvorbu biofilmu
- Při výběru nových katetrů by měl spolupracovat i mikrobiolog (v Nemocnici na Homolce to takto funguje)

# Hlášení a identifikace kmene

- Všechny suspektní kmeny MRSA musí být pečlivě ověřeny a v případě positivity se **hlásí** jednak na oddělení, jednak ústavním epidemiologům
- Součástí komunikace mikrobiologie s oddělením je konzultace vhodné a dostatečně dlouho trvající **léčby infekce** (jde-li o infekci a ne jen kolonizaci)
- V případě výskytu kmene MRSA na oddělení se přistupuje k zavedení opatření, jejichž cílem je **zamezit přenesení infekce na další pacienty**

# Čím léčit?

- U komunitních kmenů MRSA lze použít i ta **nebetalaktamová antibiotika**, na která je kmen in vitro citlivý (makrolidy, tetracykliny, ko-trimoxazol)
- U polyrezistentních kmenů je nutno použít **glykopeptidová antibiotika** (vankomycin, teikoplanin). S tím také souvisí požadavek nepoužívat tato antibiotika zbytečně, aby zůstala zachována citlivost alespoň na tato antibiotika
- U rezistence na glykopeptidy, či jejich kontraindikace z důvodu stavu pacienta, případně dalších zvláštních případů (kmeny prodující Panton-Valentinův leukocidin) lze použít **linezolid** či některá z dalších nových antibiotik

# Nová antibiotika

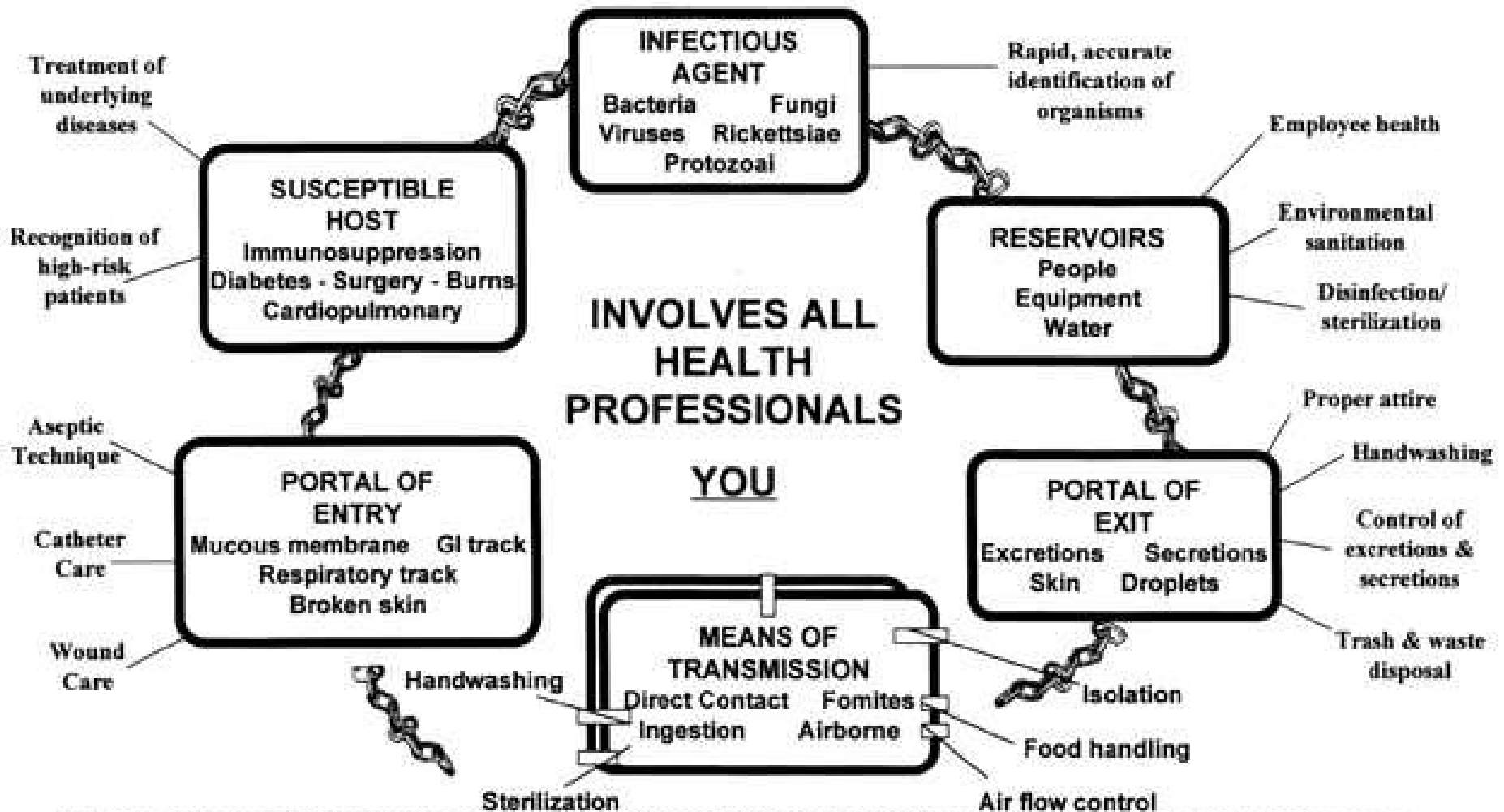
- Streptograminová kombinace  
quinupristin/daflopristin (Synercid)
- Lipopeptid daptomycin
- Nové glykopeptidy – oritavancin, dalbavancin
- Glykolipodepsipeptid – ramoplanin

*U glykopeptidů a jim příbuzných látek lze ale očekávat vývoj rezistence i v souvislosti s užíváním stávajících glykopeptidů*

# Hygienická pravidla

- Nutno **přerušit řetězec nákazy**
- Izolace pacienta **nesmí znamenat přerušení jeho společenských kontaktů** (etické zásady!)  
– návštěvy ovšem musí stejně jako personál dodržovat pravidla bariérového kontaktu
- Existuje **doporučený postup pro MRSA**, který je dostupný na [www.cls.cz](http://www.cls.cz), přičemž jednotlivá zdravotnická zařízení zpravidla mají svoje lokalizovaná pravidla

# BREAKING THE CHAIN OF INFECTION



# Vyšetřování na MRSA

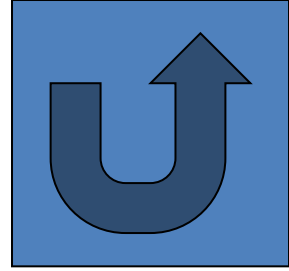
- U indikovaných pacientů se odebírá zpravidla **výtěr z nosu a stěr z perinea**, případně též z rány či jiného místa (tracheostomie apod.), kde lze předpokládat přítomnost MRSA
- U takovýchto pacientů se také zpravidla provádí pravidelný **screening během celé hospitalizace**
- **Indikovaní pacienti** = pacienti, kteří měli MRSA, přícházení z oddělení, kde se MRSA vyskytla, nebo přicházejí k provedení rizikové operace (pak není ani nutná „nebezpečná anamnéza“)



# Management nemocnice a MRSA

- V rámci nemocnice musí být vytvořen **system**, který dopředu určuje postupy ve všech **situacích** souvisejících s možným výskytem MRSA
- Zpravidla existují dva týmy
  - **koncepční tým** (který zahrnuje ředitelství nemocnice, vedení oddělení či klinik apod.): určují dlouhodobé trendy a směřování opatření sloužících k potlačení MRSA a nozokomiálních infekcí vůbec
  - **výkonný tým** (epidemiolog, mikrobiologové, „styční důstojníci“ klinik) – řeší konkrétní aktuální případy

# Konec bonusového materiálu



## WHAT IS MRSA?

### METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MRSA)

is a bacterium that causes infections in different parts of the body. It's tougher to treat than most strains of staph because it's resistant to some commonly used antibiotics.

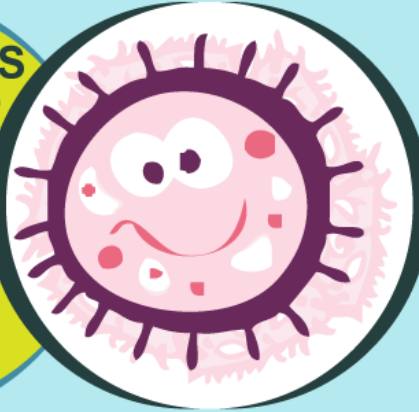
### CAUSES MRSA?

Garden-variety staph is common bacteria that can live in our bodies. Plenty of healthy people carry staph without being infected by it. In fact, 25%-30% of us have staph bacteria in our noses.

However, staph can be a problem if it manages to get into the body, often through a cut. Once there, it can cause an infection. Staph is one of the most common causes of skin infections in the U.S. Usually, these are minor and do not need special treatment. Less often, staph can cause serious problems like infected wounds or pneumonia.

### SYMPTOMS

The symptoms of MRSA depend on where you are infected. Most often, it causes mild infections on the skin, like sores or boils. It can also cause more serious skin infections or infect surgical wounds, the bloodstream, the lungs, or the urinary tract. Staph skin infections, including MRSA, generally start as small red bumps that resemble pimples, boils or spider bites. These can quickly turn into deep, painful abscesses that require surgical draining. Sometimes the bacteria remain confined to the skin.



### WHEN TO SEE A DOCTOR

Keep an eye on minor skin problems — pimples, insect bites, cuts and scrapes — especially in children. If wounds become infected, see your doctor. Do not attempt to treat an MRSA infection yourself. You could worsen it or spread it to others.



Both health care-associated and community-associated strains of MRSA still respond to certain **TREATMENTS AND DRUGS** antibiotics. In some cases, antibiotics may not be necessary.

Provided by theMRSA.com

