

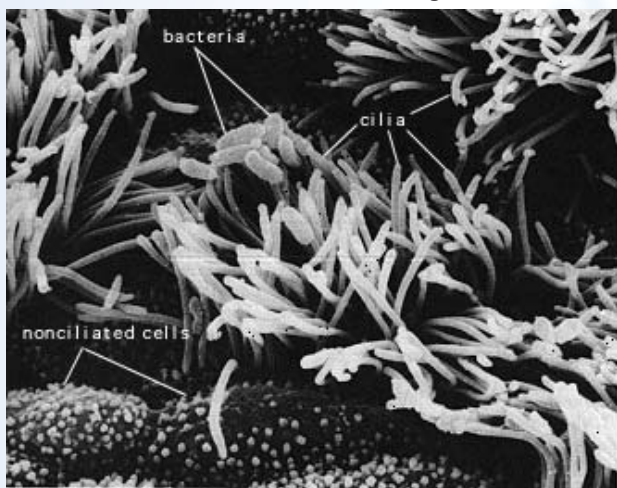


## Upozornění pro lékaře:

### ***Bordetella pertussis* vzrůstající incidence černého kašle (pertuse)**

Jančová J.,<sup>1</sup> Lysková P.,<sup>2</sup>

ZÚ se sídlem v Ostravě,<sup>1</sup> Odd. bakteriologie Ostrava,<sup>2</sup> Odd. bakteriologie Havířov



Původcem černého kašle je *Bordetella pertussis*. Od zavedení očkování v roce 1958 výskyt onemocnění postupně klesal. Avšak v posledních letech, navzdory očkování, je opět sledován vzestup. Převážná většina prokázaných případů byla zaznamenána u dětí a adolescentů v rozmezí 0-19 let. Celosvětově se pak případy nemocných pertusí posouvají do vyšších věkových skupin 10-19letých bez ohledu na druh použité vakcíny (celulární, acelulární). Uvažuje se o několika možných příčinách zvýšeného výskytu onemocnění. Vzhledem k tomu, že z možných příčin, mimo jiné, připadá v úvahu změna cirkulujícího genotypu *B. pertussis* nebo tzv. vyvanutí vakcínou zprostředkované imunity, je nutné klinicky suspektní případy laboratorně ověřovat (kultivace, serologie, PCR). Velmi cenné jsou kultivačně potvrzené případy. U získaných izolátů je možné dále ověřovat citlivost k erytromycinu respektive sledovat výskyt rezistence. Dále budou izolované kmeny našimi laboratoři zaslány do NRL pro pertusi k dalšímu studiu, zejména pro vytvoření účinné očkovací látky. Kultivace bordetel je poměrně obtížná, nasofaryngeální a/nebo laryngeální výtěr je třeba provést co nejdříve (v časných stádiích nemoci). Dále je nutný rychlý transport do

laboratoře, protože se jedná o velmi choulostivé mikroorganismy (nejlépe, pokud je to možné, informovat laboratoř den předem).

více na str. 2-5

### **Proč je třeba v ambulantních zdravotnických zařízeních dezinfikovat?**

Pazdziora E., Matějová K.

ZÚ se sídlem v Ostravě, Antibiotické středisko

Vztah mezi zdravotnickým personálem a pacientem je v ambulantních zařízeních v hlediska šíření nákaz těsný a oboustranný. Pacient může být pro zdravotníka zdrojem jeho profesionálního onemocnění, zdravotnický pracovník může být zdrojem a prostředí ambulance faktorem přímého i nepřímého přenosu aktuálních původců nákaz. Uvedené příklady šířících se infekcí i vlastní zkušenosti nás vedou k přesvědčení, že dřívější pohledy na infekční riziko v ambulantních zařízeních je třeba přehodnotit a respektovat aktuální epidemiologickou situaci.

více na str. 6-9

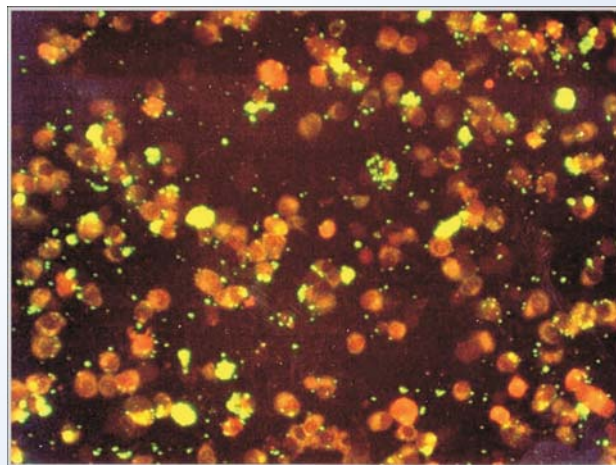
### **Nemoc z kočičího škrábnutí první zkušenosti s průkazem protilátek proti *Bartonella henselae***

Bílková Fránková H.

ZÚ se sídlem v Ostravě, Centrum mikrobiologie, parazitologie a imunologie

*Bartonella henselae* byla popsána teprve v posledním desetiletí minulého století a identifikována jako původce "nemoci z kočičího škrábnutí", postihující zejména lymfatický systém. Manifestovat se ale rovněž může jako zánět spojivek, mozkových blan či srdečního svalu. U pacientů s nedostatečnou imunitou může vyvolat závažnou bacilární angiomatosu. *Bartonella henselae* je gramnegativní, velmi pomalu a obtížně rostoucí tyčka, proto je prozatím, přes možnost zřízených reakcí, metodou volby nejčastěji průkaz protilátek.

více na str. 10



## Upozornění pro lékaře:

### *Bordetella pertussis* – vzrůstající incidence černého kašle (pertuse)

Lysková P.,<sup>2</sup> Jančová J.,<sup>1</sup>

ZÚ se sídlem v Ostravě, <sup>1</sup>Odd. bakteriologie Ostrava, <sup>2</sup>Odd. bakteriologie Havířov

Původcem černého kašle je *Bordetella pertussis*. Od zavedení očkování v roce 1958 výskyt onemocnění postupně klesal. Avšak v posledních letech, navzdory očkování, je opět sledován vzestup. Převážná většina prokázaných případů byla zaznamenána u dětí a adolescentů v rozmezí 0-19 let. Celosvětově se pak případy nemocných pertusí posouvají do vyšších věkových skupin 10-19letých bez ohledu na druh použité vakcíny (celulární, acelulární). Uvažuje se o několika možných příčinách zvýšeného výskytu onemocnění. Vzhledem k tomu, že z možných příčin, mimo jiné, připadá v úvahu změna cirkulujícího genotypu *B. pertussis* nebo tzv. vyvanutí vakcínou zprostředkované imunity, je nutné klinicky suspektní případy laboratorně ověřovat (kultivace, serologie, PCR). Velmi cenné jsou kultivačně potvrzené případy. U získaných izolátů je možné dále ověřovat citlivost k erytromycinu respektive sledovat výskyt rezistence. Dále budou izolované kmeny našimi laboratoři zaslány do NRL pro pertusi k dalšímu studiu, zejména pro vytvoření účinné očkovací látky. Kultivace bordetel je poměrně obtížná, nasofaryngeální a/nebo laryngeální výtěr je třeba provést co nejdříve (v časných stadiích nemoci). Dále je nutný rychlý transport do laboratoře, protože se jedná o mikroorganismy velmi citlivé k vnějším vlivům (nejlépe, pokud je to možné, informovat laboratoř den předem).

Klinické příznaky nemusejí být typické, zvláště u dospělých očkovaných osob. Avšak právě tito lidé se mohou stát dalším zdrojem nákazy pro malé děti či kojence ať už očkované nebo neočkované, u kterých je klinický průběh nejzávažnější a může končit smrtí dítěte!

**Chtěli bychom tímto upozornit na možnost výskytu pertuse, na včasnou diagnostiku a s tím související včasný odběr vzorků pro laboratorní potvrzení diagnózy.**

Při odběru materiálu pro **kultivační vyšetření** je třeba provést výtěr z laryngu nebo nasofaryngu sterilním vatovým tampónem na drátu. Tento je nutné co nejdříve doručit do laboratoře. **V průvodním listu musí být uvedeno, že se jedná o speciální vyšetření na původce pertuse (*Bordetella pertussis*/*B. parapertussis*), neboť pro záchyt bordetel je nutné použití speciálních kultivačních médií!!!** Nejlépe informovat laboratoř den předem a odběr provést ráno nalačno. Běžná standartní kultivace na krevním agaru původce černého kašle neodhalí, v těchto případech je vzorek zcela znehodnocen!

Úzká spolupráce lékařů a mikrobiologů je velmi důležitá pro získávání terénních kmenů, u kterých může být ověřena citlivost k makrolidovým antibiotikům, a dále mohou být zaslány k dalšímu studiu do NRL pro pertusi.

Pro imunologické vyšetření je třeba odebrání párových sér v intervalu 2-3 týdnů.

Více informací Vám ochotně poskytneme.

#### Literatura:

Fabiánová K. et al. (2007): Epidemiologická situace ve výskytu pertuse a parapertuse v období 1996-2005 na území ČR a Jihomoravského kraje. Zprávy CEM (SZÚ Praha), 16 (2), 83-91.

Fabiánová K. et al. (2007): Příčina úmrtí: Pertuse!?. Zprávy CEM (SZÚ Praha), 16 (8), 359-362.

Maixnerová M. et Křížová P. (2007): Posílení činnosti NRL pro pertusi a parapertusi. Zprávy CEM (SZÚ Praha), 16 (2), 82-83.

Postels-Multani S. et al. (1995): Symptoms and complications of pertussis in adults. Infection, 23 (3), 139-142.

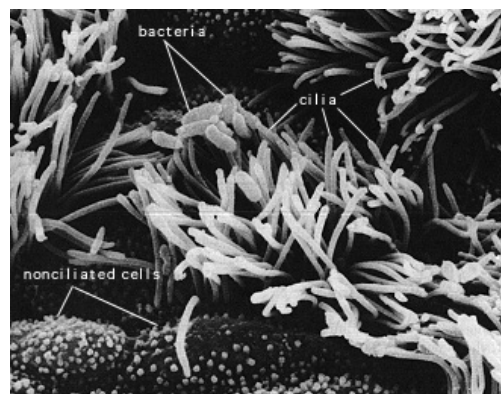


Foto: zdroj internet

# Pertusse z pohledu bakteriologa-možnosti diagnostiky

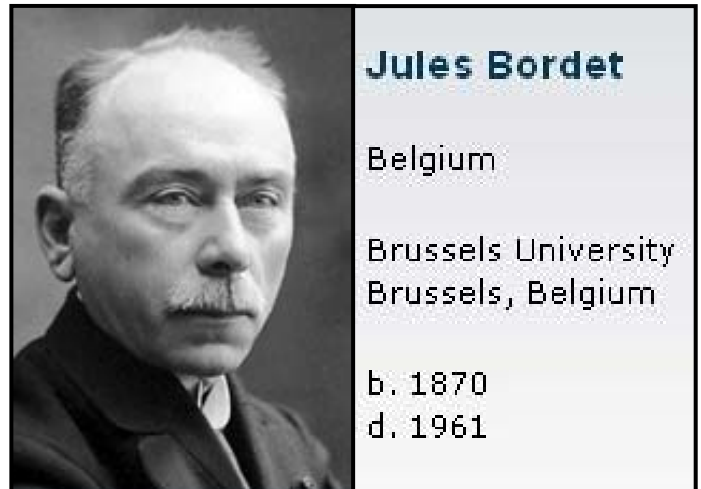
Jančová J.

ZÚ se sídlem v Ostravě, Oddělení bakteriologie

Vzhledem k narůstajícímu počtu případů pertusse v ČR bychom vás chtěli seznámit s možností laboratorní diagnostiky tohoto onemocnění.

Několik údajů z historie:

- **1578** Paříž, De Bailu  
- první popis klinického obrazu
- **1906** Jules Bordet, Gengua  
- první izolace
- **1916** Chievitz, Meyer  
- metoda kašlacích ploten
- **1946** Bradford, Day a Berry  
- metoda výtěru z nosohltanu



Bordetely jsou jemné, ovoidní gramnegativní kokobacily. *Bordetella pertusis* a *Bordetella parapertussis* jsou lidské patogeny, *Bordetella bronchiseptica* vyvolává onemocnění zvířat, ale může také vyvolat onemocnění u lidí, zejména imunokompromitovaných (septikémie, endokarditidy) a u chovatelů zvířat respirační onemocnění.

## ■ MORFOLOGIE

- krátká ovoidní G- tyčinka, uniformní, aerobní
- v subkulturách - vláknité formy

## ■ KULTIVACE: bordetely jsou vysoce náročné na kultivaci. Používá se

- Bordet-Genguova půda (čerstvá defibrinovaná beraní krev s glycerolem)
- jiné modifikované půdy s aktivním uhlím
- růst za 48-72 hodin
- kolonie jsou obklopeny úzkou zónou hemolýzy

## ■ IDENTIFIKACE se provádí

- biochemicky a sklíčkovou aglutinací se specifickým antisérem

	Růst na živném agaru	Ureáza	Redukce nitrátu	Pohyblivost	Citrát
<i>B. pertussis</i>	-	-	-	-	-
<i>B. parapertussis</i>	+	+	-	-	+
<i>B. bronchiseptica</i>	+	+	+	+	+

## ■ PATOGENEZE

- původce pertuse - černého kašle je vysoce infekční, šíří se kapénkovou infekcí, nemocný je infekční již koncem inkubační doby, má vysokou afinitu k řasinkovému epitelu dýchacích cest, není invazivní, produkuje však několik toxinů.



## ■ TOXINY

### *Pertussový toxin*

- zvyšuje citlivost na histamin a na některé hormony, způsobuje hypoglykémii

### *Tracheální cytotoxin*

- toxický pro řasinkový respirační epitel

### *Vláknitý hemaglutinin*

- působí adhezi na řasinkový epitel

### *Endotoxin* (podobá s lipopolysacharidy bakteriální stěna enterobakterií)

- dráždí sliznice (katarální stadium)
- navozuje výraznou leukocytózu
- dráždění ke kašli a záchvatovitý kašel
- změna enzymatická, hormonální a farmakologická – uvolňuje se při rozpadu bakterií

### *letální toxin*

- zánět, lokální nekrózy v respiračním traktu

## ***Bordetella parapertussis***

- respirační patogen
- vyvolává mírnější onemocnění
- snadnější kultivační průkaz, Bordet-Ganguova půda, růst za 24 hodin
- biochemické a sérologické určení.

## ***Bordetella bronchiseptica***

- zvířecí patogen
- u lidí se vyskytuje vzácně
- nutné diferenciálně diagnostické odlišení od obou výše jmenovaných úzká

## **Odběry na kultivaci**

- nutná příprava čerstvých, speciálních půd, je třeba telefonicky upozornit laboratoř

### *provedení odběru*

- v akutní fázi onemocnění, před terapií ATB
- u prolongovaného kašle i v pozdější fázi onemocnění
- odběr z laryngu a farynxu na speciálním drátěném tamponu
- co nejdříve provést naočkování na příslušné půdy do kapky penicilinu (inhibice G+ koků), kultivace 48-72 hodin, 35°C.
- nelze-li materiál ihned zpracovat - zmrazit na suchém ledu (*Bordetella* přežívá spolehlivě 48 h)

## **Laboratorní diagnostika**

### Sérologie

#### Průkaz protilátek

- akutní, prodělaná infekce, úspěšnost očkování

### **1. Pomalá aglutinace**

protilátky proti fimbriím *B. pertussis*, *B. parapertussis*

### Sledování dynamiky tvorby protilátek

1. vzorek séra – ihned při podezření na onemocnění
2. vzorek séra – podle délky trvání příznaků (3 týdny až 3,6 měsíců)

průkazný výsledek 4 x vzestup/pokles v párových vzorcích séra

Titř: 1:2,4,8,16,32,64,128,256,512,1024,2048,4096



## 2. ELISA (pertusový toxin)

doplňující vyšetření v jednom vzorku

- význam silných pozitivit v IgG, IgA případně IgM v období delším než 1 rok po očkování
- semikvantitativní hodnocení:  
Negativní      Hraniční      Pozitivní      Silně pozitivní

## 3. Imunoblot

- kvalitativní průkaz sp. Ab proti *B. pertussis* v séru
- FHA (filamentózní hemaglutinin) zkřížená reaktivita s *B. parapertussis* a jinými bakteriemi
- PT (toxin černého kašle)  
pro *B. pertussis* vysoce specifický

## 4. Nepřímá imunofluorescence

IgG, IgM protilátky v séru při ředění 1:10

Interpretace sérologických výsledků by měla vždy zahrnovat klinický obraz, epidemiologická data, eventuálně další laboratorní nálezy, jež jsou k dispozici.

## Laboratorní diagnostika

Molekulární biologie

### ■ PCR

přímý průkaz	<i>B. pertussis</i> ,	<i>B. parapertussis</i>
cílová oblast:	IS 481	IS 1001

### ■ Senzitivita

PCR 93%      x      kultivace 15 %  
(U. Reischl at all, 2002)

### ■ Materiál – nasofaryngální výtěr, výtěr z krku, nasální výtěr, BAL (suchý dakronový tampon)

### ■ PCR – výtěžnost v prvním období infekce

## Terapie

### ■ ATB v katarálním stádiu

- zmírnění rozvoje bakteriální fáze nemoci
- zabránění vzniku plicních komplikací
- redukce akutní toxicity
- zabránění druhotné infekci

### ■ lékem volby jsou:

- makrolidy/erythromycin, azithromycin, clarythromycin, co-trimoxazol
- v časně fázi lze podávat hyperimunní imunoglobulín (u dětí mladších dvou let)

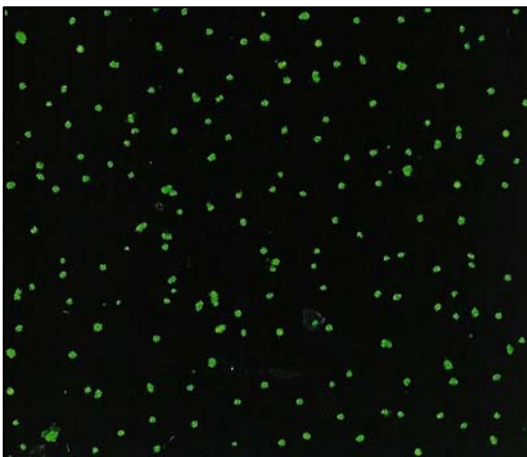


Foto: nepřímá imunofluorescence

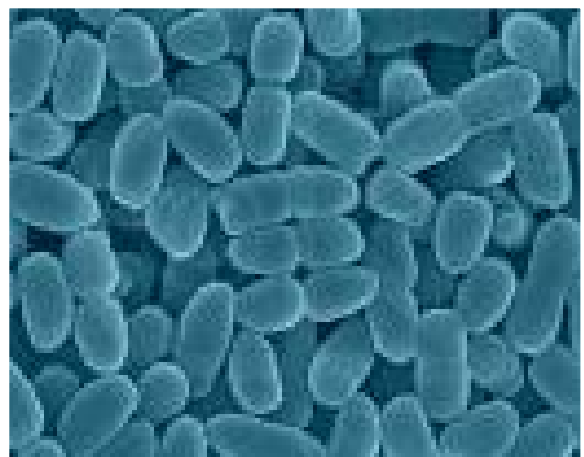


Foto: *Bordetella pertussis*

## Proč je třeba v ambulantních zdravotnických zařízeních dezinfikovat?

Erich Pazdziora, Kateřina Matějová

ZÚ se sídlem v Ostravě, Antibiotické středisko

Na tuto otázku je zdánlivě jednoduchá odpověď: protože to ukládá vyhláška 195/2005 Sb. a hrozí přenos původců nozokomiálních a profesionálních nákaz.

Podívejme se na celou věc poněkud z jiného pohledu.

Každé zdravotnické pracoviště má schválený provozní řád, který pamatuje na cílené používání dezinfekčních prostředků. Ambulantní zdravotnické pracoviště má svá specifika, kterými se liší od lůžkového zdravotnického zařízení. Pohyb osob a vlastní lékařské a ošetrovatelské výkony probíhají na podstatně menší ploše a rizikové manipulace nejsou dostatečně odděleny. Již při vstupu do čekárny praktického nebo odborného ambulantního lékaře nás zarazí zjevné křížení provozu. Přicházejí sem pacienti s respiračními infekcemi, zvláště v době epidemického šíření virových nákaz, pacienti na injekční aplikace léků, nemocní na převazy a vedle nich jsou pacienti žádající vyšetření nebo jen vystavení receptu.

Malý nedostatečně větraný prostor čekárny je vhodným prostředím pro přenos původců šířených vzduchem. Mikroorganismy jsou důležitou součástí aerosolu vnitřního prostředí. Jsou jednou z kontaminantů prostředí, která se může při přenosu významně uplatnit a vlastně jedinou živou složkou prostředí, která má proto schopnost se ve vnitřním prostředí za určitých podmínek nejen hromadit, ale i rozmnožovat. Částice velikosti pod 5 μm jsou respirabilní, schopné pronikat až do alveol plic. Představují vážný problém zejména pro pacienty s oslabeným imunitním systémem.

Uvědomujeme si dostatečně tento faktor přenosu při protiepidemických opatřeních? Předpisy – v našem případě vyhláška č. 6/2003 Sb. na toto riziko pamatuje a stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností staveb zdravotnických zařízení, ústavů sociální péče a dalších. Nepřípustný je viditelný nárůst plísní na zdech a povrchu pobytových místností. Požadavky na kvalitu vnitřního prostředí staveb se pokládají za splněné, nepřekročí-li koncentrace bakterií 500 kolonie tvořících jednotek (CFU) v 1 m<sup>3</sup> vzduchu a koncentrace plísní vyšší než 500 CFU v m<sup>3</sup> vzduchu. Podřizujeme tomu i způsob úklidu, větrání a povrchové dezinfekce?

Další problém nás napadne při měření krevního tlaku a EKG. Jakou roli mohou hrát při přenosu manžety tonometrů, fonendoskopy nebo gely při použití elektrod? Stačí čas k zaschnutí antiseptika a k jeho dezinfekčnímu účinku před vpichem při odběru krve? Uplatňujeme kontrolu, abychom si zpětnou vazbu ověřili dostatečnou účinností preventivních opatření?

Na odběr krve a dalšího biologického materiálu pamatuje vyhláška 195/2005 Sb. – požaduje takový prostor, který splňuje základní hygienické požadavky. Optimální je samostatný prostor pracovny zdravotní sestry. To mimo jiné znamená vybavení kvalitními čistitelnými manipulačními plochami. Běžná bakteriální kontaminace ploch je 10<sup>3</sup> CFU na cm<sup>2</sup>. Na místech, kde se manipuluje s biologickým materiálem je zatížení ploch až 10<sup>8</sup> CFU na

cm<sup>2</sup>. Obdobnou kontaminaci můžeme předpokládat u použitých zdravotnických prostředků, tj. nástrojů a pomůcek používaných při odběrech biologického materiálu. Navíc se dá očekávat kontaminace viry, bakteriálními spory a mikroskopickými vláknitými houbami.

Je zřejmé, že při takové práci je ochrana rukou personálu nutností.

Kontaminované ruce jsou ve zdravotnických zařízeních bezesporu velmi významným faktorem přenosu původců infekcí. Jak postupovat, abychom snížili jejich podíl, se dozvíme z Metodického opatření č. 6/2005 Věstníku MZ ČR: Hygienické zabezpečení rukou ve zdravotní péči. Stanoví zásady osobní hygieny, péče o ruce a jejich přípravu ke zdravotnickým úkonům při vyšetřování a ošetřování pacientů. Popisuje přesné postupy při mechanickém mytí, při hygienické a chirurgické dezinfekci rukou. Sjednocení postupů vede k šetrnému ošetřování rukou. Důkladné seznámení se s uvedeným opatřením přesvědčí každého zdravotnického pracovníka, který dosud lpěl jen na mytí rukou z obavy před podrážděním pokožky a vzniku alergií, že méně mytí a více hygienické dezinfekce je skutečnou ochranou před profesionálními i nozokomiálními nákazami i před poškozením pokožky rukou.

Musíme si uvědomit, že pokožka rukou je osídlena stálou, trvalou (rezidentní mikroflórou) a vedle ní také přenosnou a přechodnou (tranzientní) mikroflórou. Nepochybuje se o tom, že se především tranzientní mikroflóra uplatňuje při přenosu mikroorganismů mezi pacientem a zdravotníkem a naopak. Vždyť na ruce se dostala kontaktem při manipulaci s biologickým materiálem a kontaminovanými předměty. Také její převažující složení tomu napovídá, protože je často kopií biocenózy, kterou zjišťujeme v ordinaci pomocí stěrů nebo otisků. Převažují gramnegativní fermentující a nefermentující tyčinky (z čel. Enterobacteriaceae, pseudomonády, acinetobaktery, enterobaktery), streptokoky a kandidy. Jsou však přítomné i mykobakterie a viry (enteroviry, rotaviry, reoviry, paramyxoviry, viry hepatitid a další), které nejsme schopni svými odběrovými postupy zachytit.

Vedou se diskuse, zda stálé osídlení kůže má význam při přenosu infekcí. I na viditelně čistých rukou jsou dlouhodobě přítomné stafylokoky (koaguláza negativní) i Staphylococcus aureus včetně methicillin rezistentních kmenů, papillomaviry, herpesviry i nepatogenní sarcíny, korynebakterie, mikrokoky. Podle našich zkušeností i experimentů bude záležet na schopnosti jednotlivých druhů perzistovat.

Přežívání na pokožce se liší od délky přežívání na anorganickém povrchu. Jako příklad si můžeme uvést druhy několika rodů na rukou a na manipulačních plochách:

Mikroorganismus	Na rukou v minutách	Na manipulačních plochách
Acinetobacter sp.	více než 150	3 dny až 5 měsíců
Escherichia coli	6-90	2 dny až 16 měsíců
Klebsiella sp.	120	2 hod až 30 měsíců
Proteus vulgaris	více než 30	1-2 dny
Pseudomonas aeruginosa	30-180	6 hod až 16 měsíců
Serratia marcescens	více než 30	3 dny až 2 měsíce
Salmonella sp.	do 180	6 hod až 4,2 roků
Staphylococcus aureus	více než 150	4 týdny až 7 měsíců
S. aureus (MRSA)	není známo	4 týdny až 6 měsíců
Enterokoky (VRE)	až 60	5 dní až 4 měsíce
Kvasinky (Candida, Torulopsis)	60	1-150 dní
Virus chřipky	10-15	12-48 hod
Virus hepatitidy A	několik hodin	2 hod až 60 dní
Rotavirus	až 260	6-60 dní
Clostridium difficile	není známo	24 hod, spory až 5 měsíců

Z těchto údajů plyne, jak je významné průběžné odstraňování mikroorganismů z prostředí i z rukou. Nejde jen o riziko kumulace mikrobů v prostředí, nýbrž také riziko přenosu přežívajících agens na rukou do prostředí domova a reálné nebezpečí přenosu na členy vlastní rodiny.

Při přenosu je důležitý contamination rate vyjádřený v procentech. Představuje podíl zdravotnických pracovníků z celkového počtu, kteří jsou v kontaminovaném prostředí vůči kontaminaci exponováni a infikují se.

Věrohodných údajů není mnoho, ale pro nejvýznamnější mikroorganismy byly zjištěny:

Mikroorganismus	Contamination rate (v %)
Acinetobacter sp.	3-15
Escherichia coli	není známo (nz)
Klebsiella sp.	17
Jiné gramnegativní tyčinky	21-86,1
Proteus vulgaris	nz
Pseudomonas aeruginosa	1,3-25
Serratia marcescens	15,4-24
Salmonella sp.	nz
Staphylococcus aureus	10,5-78,3
S. aureus (MRSA)	16,9
Enterokoky (VRE)	41
Kvasinky (Candida, Torulopsis)	23-81
Virus chřipky	nz
Virus hepatitidy A	nz
Virus hepatitidy C	8-23,3
Rotavirus	19,5-78,6
Bacillus cereus	37
Clostridium difficile	14-59

Hodnoty nad 50% by nás měly vést k zamyšlení a k opatřením.

Podívejme se nyní na aktuální bakteriální infekce, které mohou ohrožovat pacienty i personál ambulancí a zdravotnických pracovišť. Od roku 2000 jsou to methicillin rezistentní kmeny *Staphylococcus aureus*, v posledních letech *Clostridium difficile* a již dříve *Escherichia coli* a další

gramnegativní tyčinky – producenti širokospektrých betalaktamáz (ESBL). Je třeba zdůraznit, že nejde jen o nemocniční kmeny, ale především o kmeny komunitní. Ty cirkulují mezi pacienty v nemocnicích i v LDN, obyvateli domovů důchodců a kolonizují zdravé osoby na pracovištích i v jejich rodinách.

Vedle značných mezidruhových rozdílů můžeme najít i některé společné znaky při šíření v populaci. Uvedení původci v komunitních podmínkách kolonizují nebo infikují osoby nebo zvířata, kontaminují potraviny a vodu. Vylučují se stolicí, odloučenými epiteliálními buňkami kůže a sliznic, exsudátem z ran i kapénkami a jsou schopny se šířit rukama, kontaminovanými povrchy, oděvy i úklidovými prostředky. Cesty přenosu jsou inhalace, ingesce, kontakt s kůží, sliznicí a s ránou.

Uvedme si podrobněji alespoň dva zástupce: *Staphylococcus aureus* a *Clostridium difficile*. Patří ke zcela odlišným skupinám, ale z hlediska dezinfekce nám mohou posloužit k pochopení otázky uvedené v názvu příspěvku.

*Staphylococcus aureus* je příčinou řady závažných infekcí. Již koncem čtyřicátých let se stávají první kmeny *S. aureus* rezistentními vůči penicilinu. K možnosti efektivní terapie těchto kmenů byla na přelomu padesátých a šedesátých let uvedena na trh skupina tzv. semisyntetických penicilinů s prvním zástupcem této skupiny – methicillinem. Dále se repertoár účinné terapie rozrostl o skupinu penicilinových antibiotik doplněných o inhibitor betalaktamázy, cefalosporiny a antibiotika s odlišným mechanismem účinku (makrolidy, linkosamidy). Roku 1961 byl však popsán první případ rezistence *S. aureus* vůči celé skupině betalaktamových a pak k řadě ostatních antibiotik způsobený alterací PBP-2a (penicillin-binding protein). Takto charakterizované kmeny jsou dále označovány akronymem MRSA. V dalších letech se tak možnost antibiotické terapie redukuje zejména u nemocničních kmenů MRSA. U komunitních kmenů MRSA jsou možnosti antibiotické terapie často širší, avšak s výraznou demografickou vazbou.

Z hlediska epidemiologického, genetického i z pohledu terapeutického je problematika methicillin rezistentního stafylokoka dále členěna na komunitní a nemocniční MRSA. Komunitní kmeny jsou celosvětově příčinou asi 30-37 % infekcí MRSA u hospitalizovaných pacientů a jsou charakterizovány na jedné straně vyšší virulencí v důsledku přítomnosti Pantanova-Valentinova leukocidinu oproti nemocničním MRSA. S komunitními kmeny se zdravotníci v ambulancích setkávají velmi často. Z anamnézy pacienta kolonizovaného komunitním kmenem plyne absence pobytu ve zdravotnickém zařízení v posledním roce, nepoužívání katetrů, negativní kultivace MRSA, chybí rizikové kontakty s dalšími pacienty apod. Pokud je pacient kolonizován methicillin rezistentním stafylokokem, pravděpodobnost, že kolonizace přejde v infekci v průběhu hospitalizace z

různých příčin se pohybuje až k 60%. *Staphylococcus aureus* citlivý na methicillin, tzv. MSSA, je součástí běžné kožní flóry v oblasti nosních průduchů u 40% zdravé populace, v jiných lokalizacích (axily, inguiny, perineum, intertriginózní prostory) až u 60% zdravé populace, stejně tak jako MRSA, kde se kolonizace u zdravé populace uvádí v rozmezí 1-3%. U nemocných s diabetes mellitus a syndromem diabetické nohy je MRSA stále častějším patogenem, podílejícím se v rámci polymikrobiální infekce na vývoji onemocnění. Ve srovnání s infekcí MSSA je popisována téměř dvojnásobná mortalita. Vzhledem k častým případům opakované infekce MRSA v ráně po přechodně antibiotickou léčbou docílené negativitě stěrů je v poslední době doporučována účinná dekolonizace takových pacientů. Doporučované postupy pro dekolonizaci vycházejí z předpokladu neefektivnosti antibiotické terapie na nosičství MRSA. Skládají se z koupelí celého těla v dezinfekčních přípravcích (ředěná antiseptika s PVP jodem Braunol, Betadine), nejudové preparáty (Octenisept, Skinsept Mucosa, chlorhexidin). Nosičství MRSA po dekolonizační terapii může být obnoveno. Rizika spočívají v samotné charakteristice patogena a jeho odolnosti, opakovaná kolonizace šatstvem, lůžkovinami či předměty denní potřeby není vzácná. Dekolonizace by měla být součástí profylaxe infekčních komplikací u nosiče před plánovanými chirurgickými zákroky.

V loňském roce se v Kanadě a v USA vyskytlo několik případů vyvolaných novým, vysoce virulentním kmenem bakterie *Clostridium difficile*, které byly spojeny s vysokou úmrtností. U pacientů léčených antibiotiky může tato bakterie způsobovat akutní průjem a těžký střevní zánět. Infekce vyžadují dlouhodobý pobyt v nemocnici a v případě nepříznivého vývoje onemocnění mohou být smrtelné. Původcem je náročná anaerobní grampozitivní tyčinková bakterie z rodu *Clostridium*. Ačkoli byla tato bakterie poprvé popsána již v roce 1935, její role patogenního původce průjmu a střevních zánětů spojených s léčbou antibiotiky zůstávala nerozpoznána až do druhé poloviny 70. let minulého století. Stejně jako u všech klostridií má patogen schopnost vytvářet endospory v nepříznivých okolních podmínkách. Endospory jsou mimořádně odolné vůči suchému okolnímu prostředí, teplu a chemickým vlivům. Za příznivých podmínek spory znovu vzklíčí a bakterie přecházejí do vegetativního stadia. Běžně se vyskytuje v půdě, vodních tocích a ve střevech zvířat i lidí. Bakterie v sobě přenáší až dvě třetiny zdravých dětí, aniž by se u nich rozvinuly typické příznaky onemocnění. U zdravých dospělých osob je kolonizace nižší (2-5%). Situace v nemocnicích je však odlišná. Kolonizováno je 10 až 25% pacientů. Kolonizace střevního traktu bakterií *C. difficile*

sama o sobě u zdravých osob nevede ke vzniku onemocnění. Za normálních okolností je růst patogenu omezován zdravou střevní flórou hostitele. Situace je však odlišná u pacientů léčených širokospektrými antibiotiky. Antibiotika nejen ovlivňují růst patogenních bakterií, ale poškozují také přirozenou střevní flóru. To napomáhá množení méně citlivých druhů bakterií, mezi které patří i *C. difficile*. Je totiž vysoce odolná vůči většině antibiotik. Patogen se proto při léčbě antibiotiky může ve střevech hostitele mimořádně dobře množit, přičemž současně dochází ke změně střevní mikroflóry. Zvýšená intenzita růstu patogenu je spojena se zvýšenou produkcí bakteriálních toxinů. Ty pak napadají střevní stěnu a nakonec způsobují vznik klinických projevů onemocnění. U téměř všech antibiotik, která se v současné době používají, byla prokázána souvislost se vznikem střevních infekcí spojených s přítomností bakterie *C. difficile*. Kromě toho se infekce mohou vyskytovat i u pacientů, kteří se podrobují chemoterapii při léčbě zhoubných nádorů a pacientů užívajících imunosupresivní přípravky. Schopnost bakterie *C. difficile* vytvářet spory, které jsou mimořádně odolné vůči okolnímu prostředí, usnadňuje přežití patogenu v okolí nemocných osob a přispívá k epidemickému šíření infekcí v nemocnicích, pečovatelských institucích i mimo ně. Pacienti postižení průjmem souvisejícím s infekcí způsobenou bakterií *C. difficile* vylučují nesmírné množství spor se stolicí. Přenos se pak děje fekálně orální cestou. Znečištěné ruce pacientů a ošetřovatelského personálu jsou zvláště důležité. Potenciálními vehikuly pro přenos patogenu jsou však také zdravotnické prostředky (například i stetoskopy), zařizovací a vybavovací předměty v ordinacích. V případě ošetřování pacienta s infekcí způsobenou sporulujícími mikroorganismy existují mimořádně náročné požadavky, pokud jde o hygienu přístrojů a povrchů, a to vzhledem k mimořádné odolnosti spor. Aby se zajistilo usmrcení bakterie *C. difficile*, je při dezinfekci nutno používat přípravky se sporicidními vlastnostmi. Ke skupinám přípravků, které tyto požadavky splňují, patří produkty na bázi aldehydů, aktivního kyslíku a některé sloučeniny chloru. Tyto látky zajišťují bezpečnou ochranu proti vegetativním formám bakterie *C. difficile*. V odpovídajícím dávkování a době působení dokážou usmrcovat spory na použitých zdravotnických prostředcích a plochách. Z důvodů poškození nelze používat sporicidní přípravky při dezinfekci rukou. Důkladná dezinfekce rukou je však důležitým a nezbytným hygienickým opatřením v souvislosti s profylaxí infekcí vyvolaných bakterií *C. difficile*. Prostřednictvím pečlivé dezinfekce rukou za použití přípravků na bázi alkoholu, který je šetrný k pokožce, lze účinně usmrcovat pouze vegetativní zárodky bakterie *C. difficile*. Přitom je důležité, aby se



přípravek pro dezinfekci rukou používal v dostatečném množství. Doporučuje se nejprve umytí rukou dezinfekční mycí emulzí, následně důkladné opláchnutí a po vysušení provedení hygienické dezinfekce rukou. Tímto způsobem se odstraní mnoho spor, které ulpívají na pokožce. Poněvadž prostřednictvím takto prováděné dezinfekce rukou nelze zcela vyloučit nebezpečí přenosu bakterie *C. difficile*, je v případě styku s infikovanými pacienty povinné používání jednorázových rukavic.

Z tabulky plyne, že můžeme očekávat dlouhodobé přežívání stafylokoků a klostridií v prostředí ambulancí v případě zanedbání zásad plynoucích z provozního řádu a dezinfekčního plánu.

Přípravky jsou v něm seřazeny podle pracovních úkonů a musí se pamatovat na všechny oblasti:

mytí rukou tekutým mýdlem s dezinfekčním účinkem, hygienická a chirurgická dezinfekce rukou, ošetření rukou po dezinfekci, antiseptika pokožky před porušením její integrity vpichem při odběrech, dezinfekce nástrojů a pomůcek, dezinfekce pro manipulační plochy, malé prostory a na přístroje postřikem, dezinfekce vodnými roztoky mytím a otíráním, dezinfekce v mycích a dezinfekčních zařízeních.

Vše potřebné najdeme na etiketách a v bezpečnostních listech:

- a) účinnou látku
- b) spektrum účinnosti
- c) používanou koncentraci nebo dávkování k dosažení účinku na uvedená agens
- d) dobu expozice
- e) název firmy, u které je možné dezinfekční prostředek objednat.

V minulém roce jsme si měli možnost ověřit, zda zdravotničtí pracovníci v ambulancích provozů respektují naznačené epidemiologické riziko.

Položili jsme si několik otázek:

- a) je spektrum používaných dezinfekčních prostředků dostatečné, aby je bylo možné střídát
- b) jsou používány k danému účelu prostředky s odpovídajícím rozsahem své účinnosti
- c) používají se ve zdravotnických zařízeních dezinfekční prostředky v koncentracích stanovených výrobcí
- d) jsou rozdíly v ředění roztoků v ordinacích a roztoků připravených v laboratoři z originálu
- e) jsou výrazné rozdíly v účinnosti zkoušeného dezinfekčního prostředku na grampozitivní koky a na gramnegativní tyčinky při době expozice 32 minut
- f) jak reagují používané dezinfekční prostředky na vysokou bílkovinnou zátěž při krátké době expozice?

Ordinace a ambulance lze považovat za prostředí s relativně vysokým a trvalým rizikem vzniku a šíření infekcí.

Základním uznávaným principem pro předcházení vzniku selekce odolných bakteriálních kmenů je střídání dezinfekčních prostředků podle jejich chemického složení. Potěšilo nás, že zdravotnická pracoviště tento požadavek respektují. K dezinfekci nástrojů i povrchů

jsou dezinfekční prostředky voleny správně, tj. s baktericidním a virucidním účinkem. Často jde o prostředky s širší účinností zahrnující mykobakteria a mikroskopické vláknité houby i některé skupiny odolných virů.

Dezinfekční prostředky jsou dostatečně účinné ve velmi nízkých koncentracích. Musí se však počítat s tím, že stejný prostředek působí při expozici 32 minut bez bílkovinné zátěže např. na pseudomonády ve 4,5 až 6,4x vyšší koncentraci nežli např. na stafylokoky. Kvalitní dezinfekční prostředky musí mít vysokou bezpečnostní rezervu. Požadavek je oprávněný, protože běžný rozptýl účinnosti testovaného prostředku na typový kmen bakteriálního druhu jsou dva až tři logaritmické řády.

Ukazuje se, že mezi nejčastěji používanými prostředky jsou značné rozdíly v bezpečnostní rezervě při používání předepsaných koncentrací. Analyzovali jsme všechny vyšetřené prostředky při době expozice 32 minut a kriticky zhodnotili používání některých z nich a doporučili je nahradit kombinovanými, z nichž některé jsou s obsahem enzymů. Potřebu jejich používání vyvolává dlouhodobé přežívání mikroorganismů v prostředí a na zdravotnických prostředcích.

Bílkovinná zátěž ovlivňuje účinek nejčastěji používaných prostředků (Incidur, Sekusept pulver, Sekusept forte, Desam GK a OX, Chirozan, Chiroseptol) tak, že za její přítomnosti je nutné použít 10x až 117x koncentrovanější roztok k usmrcení testovacích kmenů, nežli v prostředí bez biologického znečištění. Byly zjištěny i subjektivní chyby. Zdravotnická zařízení uváděla velmi často koncentrace vyšší nežli byly ve skutečnosti.

Při dezinfekci rukou a nástrojů nebude nikdo pochybovat o hlavní roli sestry při řízení a samotném výkonu dezinfekce. V ambulancích by neměla nastat situace, kdy je dezinfekce manipulačních a podlahových ploch bez přímého dohledu nebo kontroly zdravotnického pracovníka. Zjištění vyšších koncentrací dezinfekčních roztoků může svědčit o tom, že takové situace vznikají. Dezinfekce je z našeho pohledu velmi závažným výkonem, který nesnese improvizaci. Všude tam, kde je prováděn odběr biologického materiálu a invazivní výkony, dále na záchodech a v čekárnách ambulancí je potřebný úklid na vlhko a dezinfekce prostředky s účinností odpovídající skladbě pacientů (virucidní, mykobaktericidní apod.).

Vztah mezi zdravotnickým personálem a pacientem je v ambulancích v hlediska šíření nákaz těsný a oboustranný. Pacient může být pro zdravotníka zdrojem jeho profesionálního onemocnění, zdravotnický pracovník může být zdrojem a prostředí ambulance faktorem přímého i nepřímého přenosu aktuálních původců nákaz. Uvedené příklady šířících se infekcí i vlastní zkušenosti nás vedou k přesvědčení, že dřívější pohledy na infekční riziko v ambulancích zařízeních je třeba přehodnotit a respektovat aktuální epidemiologickou situaci.

## Nemoc z kočičího škrábnutí

### - první zkušenosti s průkazem protilátek proti *Bartonella henselae*

Mgr. Hana Bílková Fránková,

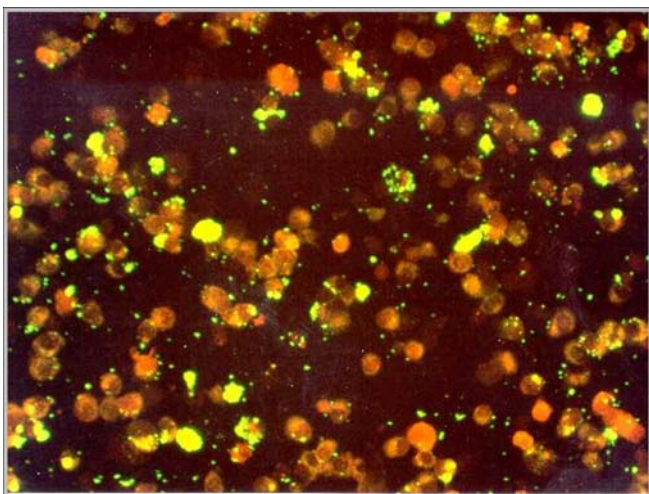
ZÚ se sídlem v Ostravě, Centrum mikrobiologie, parazitologie a imunologie

*Bartonella henselae* byla popsána teprve v posledním desetiletí minulého století a identifikována jako původce "nemoci z kočičího škrábnutí", postihující zejména lymfatický systém. Manifestovat se ale rovněž může jako zánět spojivek, mozkových blan či srdečního svalu. U pacientů s nedostatečnou imunitou může vyvolat závažnou bacilární angiomatosu. *Bartonella henselae* je gramnegativní, velmi pomalu a obtížně rostoucí tyčka, proto je prozatím, přes možnost zřízených reakcí, metodou volby nejčastěji průkaz protilátek.

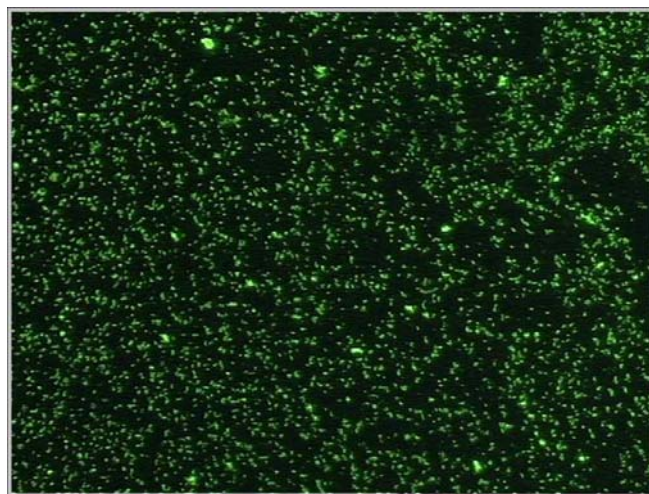
S nemocí z kočičího škrábnutí = CSD (Cat Scratch Disease) = bartonelózou, jsme se setkali velmi záhy po zavedení metody průkazu protilátek proti *Bartonella henselae*. Využili jsme komerčně dostupné diagnostické sety a spolupráce s laboratoří Bio Plus Brno, která nám dodala pozitivní vzorky pro verifikaci metody a se kterou jsme provedli mezilaboratorní porovnání se stoprocentní shodou. Ze tří diagnostických setů jsme zvolili metodu nepřímé imunofluorescence, kdy pro detekci IgG protilátek jsou v jamkách substrátového sklíčka navázány Vero buňky infikované *Bartonella henselae* a *Bartonella quintana*. Pro detekci IgM protilátek jsou použity nativní purifikované buňky *Bartonella henselae* a *Bartonella quintana*, zředěné ve žlutkovém váčku. Jsou-li ve vyšetřovaném vzorku specifické protilátky pak reagují s přítomným antigenem za vzniku vazby antigen - protilátka, která je vizualizovaná

vazbou s anti-lidskými protilátkami značenými fluoresceinem. Nález pozitivní reakce v základním ředění, které je pro IgG 1:64 a pro IgM 1:20, vyžaduje následnou titraci a vyhodnocení. Nezbytné je vyšetření dalšího vzorku v rozmezí dvou týdnů, vhodné je paralelní testování.

V průběhu 24 měsíců (2006 - 2007) jsme vyšetřili 104 pacientů, z nichž někteří byli vyšetřeni opakovaně (celkově 132 vyšetření). 83 (80%) pacientů bylo zcela negativních, u většiny však bylo provedeno pouze 1 vyšetření. U 10 (14%) pacientů jsme zjistili nízké (anamnestické) titry protilátek. U 6 % pacientů jsme zjistili vysoké či vzrůstající titry protilátek, u 2 z nich zároveň s průkazem přítomnosti IgM protilátek. Všichni tito pacienti přichází k vyšetření s uzlinovým syndromem, u všech je v domácnosti kočka, 3 pacienti jsou zároveň chovateli koček.



Obr. č. 1 Vero buňky infikované *Bartonella henselae*



Obr. č. 2 Nativní purifikované buňky *Bartonella henselae*

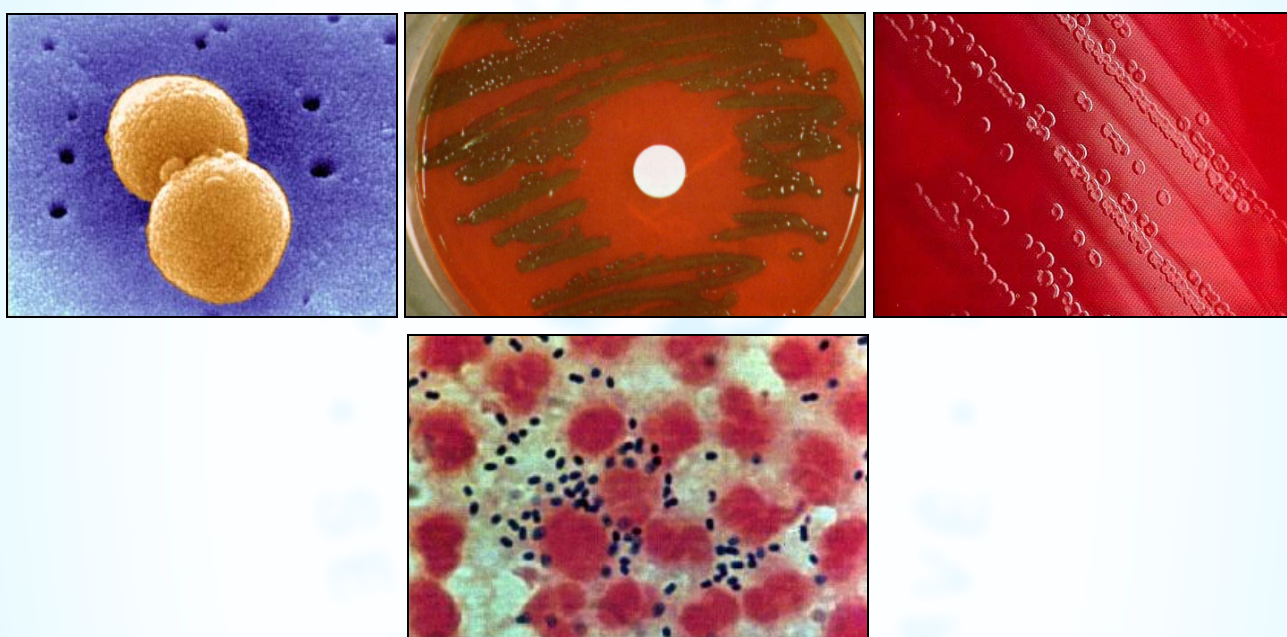
K vyšetření zasílejte srážlivou krev a výsledek vyšetření obdržíte nejpozději do jednoho týdne.  
Kontakt: tel. +420 596 491 683

---

## Nově zavedená metoda na bakteriologickém oddělení Havířov:

### Průkaz antigenu *Streptococcus pneumoniae* v moči

- vyšetření se provádí v případě podezření na pneumokokovou pneumonii
- výsledek vyšetření je znám v den dodání vzorku do laboratoře
- moč se odebírá podle stejných zásad jako na běžné bakteriologické kultivační vyšetření



#### **kontakt:**

ZÚ Ostrava, Odd. bakteriologie Havířov,  
RNDr. Jana Fránková – vedoucí oddělení  
více informací na **tel. 596 491 684**

Foto: zdroj internet

---

---

## ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V OSTRAVĚ

Partyzánské nám. 7, 702 00 Ostrava,  
Centrum mikrobiologie, parazitologie a imunologie

tel.: +420 596 200 111, e-mail: [podatelna@zuova.cz](mailto:podatelna@zuova.cz), [www.zuova.cz](http://www.zuova.cz)

*Redakční rada zpravodaje:*

Mgr. Hana Bílková Fránková, Mgr. Pavlína Lysková, MVDr. Romana Mašková, Miroslava Topinková