

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Veronika Lízalová

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: B0914P360004 Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví

Veronika Lízalová

Studijní obor: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví B0914P360004

**TRENDY VE VÝSKYTU VANKOMYCIN REZISTENTNÍCH
ENTEROKOKŮ V KLINICKÉM MATERIÁLU VE
FAKULTNÍ NEMOCNICI PLZEŇ**

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MUDr. Tamara Bergerová

PLZEŇ 2024

Na této straně se v tištěné verzi nachází zadání bakalářské práce.

Na této straně se v tištěné verzi nachází zadání bakalářské práce.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité prameny jsem uvedla v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 31. 1. 2024

.....

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Lízalová Veronika

Katedra: Záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Trendy ve výskytu vankomycin rezistentních enterokoků v klinickém materiálu ve Fakultní nemocnici Plzeň

Vedoucí práce: MUDr. Tamara Bergerová

Počet stran – číslované: 39

Počet stran – nečíslované: 21

Počet příloh: 1

Počet titulů použité literatury: 51

Klíčová slova: antibiotika, vankomycin, enterokoky, rezistence

Souhrn:

Tato bakalářská práce je zaměřena na problematiku výskytu rezistence k antibiotickým látkám u rodu *Enterococcus* ve Fakultní nemocnici Plzeň. V teoretické části je popsána charakteristika bakteriálního rodu *Enterococcus*, možná antibiotická léčba, dále se teoretická část věnuje problematice samotné rezistence k antibiotikům, jejího vzniku a přenosu. Praktická část sestává ze statistického zpracování dat o výskytu vankomycin rezistentních enterokoků v klinickém materiálu ve Fakultní nemocnici Plzeň v letech 2013-2023.

Abstract

Surname and name: Lízalová Veronika

Department: Department of Rescue Services, Diagnostic Fields and Public Health

Title of thesis: Trends in the incidence of vankomycin-resistant enterococci in clinical material at the University Hospital Pilsen

Consultant: MUDr. Tamara Bergerová

Number of pages – numbered: 39

Number of pages – unnumbered: 21

Number of appendices: 1

Number of literature items used: 51

Keywords: antibiotics, vancomycin, enterococci, resistance

Summary:

This bachelor thesis is focused on the problem of antibiotic resistance in the *Enterococcus* genus in the University Hospital Pilsen. The theoretical part describes the characteristics of the bacterial genus *Enterococcus*, possible antibiotic treatment, further the theoretical part is devoted to the problem of antibiotic resistance itself, its origin and transmission. The practical part consists of statistical processing of data on the incidence of vancomycin-resistant *Enterococcus* in clinical material in the University Hospital Pilsen between 2013 and 2023.

Předmluva

Vankomycin rezistentní enterokoky jsou aktuální a závažné téma, které vyžaduje neustálou pozornost a zdokonalování jak léčebných postupů, tak hygienických opatření. Trend ve výskytu VRE v současné době ustavičně narůstá a stává se stále více závažným problémem v klinickém prostředí. Cílem této bakalářské práce je poskytnout ucelený pohled na problematiku rezistentních enterokoků a přispět k jejímu hlubšímu pochopení.

Poděkování

Děkuji MUDr. Tamaře Bergerové za odborné vedení práce, poskytování cenných rad a materiálních podkladů a za trpělivost. Dále děkuji Fakultní nemocnici Plzeň za souhlas se zpracováním údajů z laboratorního informačního systému, což bylo nezbytné k vypracování této bakalářské práce. Nakonec bych chtěla poděkovat rodině, která při mně stála a podpořovala mě v průběhu celého mého studia.

OBSAH

SEZNAM GRAFŮ	11
SEZNAM OBRÁZKŮ	12
SEZNAM TABULEK	13
SEZNAM ZKRATEK	14
ÚVOD.....	16
TEORETICKÁ ČÁST	17
1 ROD <i>ENTEROCOCCUS</i>	17
1.1 Historie taxonomie.....	17
1.2 Charakteristika rodu <i>Enterococcus</i>	18
1.2.1 Základní charakteristika	18
1.2.2 Buněčná stěna	19
1.2.3 Antigenní vlastnosti.....	19
1.3 Výskyt.....	20
1.3.1 Komenzální enterokoky v lidském organismu	20
1.4 Patogeneze, patogenita a virulence enterokoků	20
1.4.1 Patogeneze	20
1.4.2 Patogenita	20
1.4.3 Faktory virulence	21
1.5 Diagnostika	22
1.5.1 Kultivace.....	22
1.5.2 Mikroskopie.....	23
1.5.3 Identifikační testy	23
1.5.4 MALDI-TOF MS	23
2 MOŽNOSTI LÉČBY ENTEROKOKOVÝCH INFEKČÍ	24
2.1 Glykopeptidová antibiotika.....	24
2.1.1 Vankomycin	24
2.1.2 Teikoplanin.....	25
2.2 Aminopeniciliny	26
2.2.1 Ampicilin.....	26
2.2.2 Amoxicilin.....	27
2.3 Linezolid	27
2.4 Glycylcykliny.....	28
2.4.1 Tigecyklin.....	28
2.5 Aminoglykosidová antibiotika.....	29
2.5.1 Gentamicin	29

3	VANKOMYCIN REZISTENTNÍ ENTEROKOKY	30
3.1	Mechanismy rezistence k vankomycinu	33
3.1.1	Transpozony	33
3.1.2	Plazmidy	33
3.2	Mechanismy získané rezistence	34
3.3	Testování citlivosti na ATB	35
3.3.1	Difúzní metody	36
3.3.2	Diluční metody	38
3.4	Klinický význam VRE	39
3.5	Nozokomiální infekce způsobené VRE	40
3.5.1	VRE endemitem nemocnic	40
3.5.2	Infekce močových cest	40
3.5.3	Bakteriémie	41
3.5.4	Infekční endokarditida	41
3.5.5	Nitrobřišní a pánevní infekce	41
3.5.6	Kolonizace GIT	41
3.5.7	Infekce CNS	42
3.5.8	Infekce kůže a kožní struktury (SSSI)	42
	PRAKTICKÁ ČÁST	43
4	CÍL A ÚKOL PRÁCE	43
4.1	Hlavní cíl	43
4.2	Dílčí cíle	43
5	VÝZKUMNÉ OTÁZKY	44
6	METODIKA PRÁCE	45
7	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	46
7.1	<i>Enterococcus faecalis</i>	47
7.2	<i>Enterococcus faecium</i>	48
	DISKUZE	51
	ZÁVĚR	54
	SEZNAM LITERATURY	16
	SEZNAM PŘÍLOH	21
	PŘÍLOHY	22
	Příloha A – Povolení o sběru dat ve FN Plzeň	22

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Celkový počet testovaných (a z toho rezistentních) izolátů kmene <i>E. faecalis</i> v letech 2013-2023	47
Graf 2: Celkový počet testovaných (a z toho rezistentních) izolátů kmene <i>E. faecium</i> v letech 2013-2023	48
Graf 3: Procentuální zastoupení VRE z celkového počtu izolátů v letech 2013-2023.....	49
Graf 4: Procentuální zastoupení VRE v hemokulturách ve FN Plzeň a v ČR v letech 2013-2023	49

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. č. 1: <i>E. faecalis</i> (vlevo) a <i>E. faecium</i> (vpravo) vykultivované na krevním agaru	22
Obr. č. 2: Snímek z mikroskopu kmene <i>E. faecalis</i> v bujónu (vlevo) a v hemokultuře (vpravo)	23
Obr. č. 3: Chemický strukturní vzorec vankomycinu.....	25
Obr. č. 4: Chemický strukturní vzorec teikoplaninu	26
Obr. č. 5: Chemický strukturní vzorec linezolidu	28
Obr. č. 6: Rezistence k vankomycinu u <i>Enterococcus faecalis</i> za rok 2022.....	30
Obr. č. 7: Graf vývoje rezistence k vankomycinu u <i>Enterococcus faecalis</i> v ČR v letech 2001-2022.....	31
Obr. č. 8: Rezistence k vankomycinu u <i>Enterococcus faecium</i> za rok 2013.....	31
Obr. č. 10: Graf vývoje rezistence k vankomycinu u <i>Enterococcus faecium</i> v ČR a okolních sousedních státech v letech 2001-2022	32
Obr. č. 9: Rezistence k vankomycinu u <i>Enterococcus faecium</i> za rok 2022.....	32
Obr. č. 11: Disková difúzní metoda použita u kmene <i>E. faecalis</i> (vlevo) a <i>E. faecium</i> (vpravo)	37
Obr. č. 12: Metoda gradientového testu u kmene <i>E. faecium</i> (vlevo – TEI C, vpravo – VAN R)	37
Obr. č. 13: Stanovení MIC u kmene <i>E. faecium</i> (vlevo – VAN R) a <i>E. faecalis</i> (vpravo – VAN C)	38
Obrázek č. 14: Porovnání vankomycin citlivého (C) kmene a kmene rezistentního (R) k vankomycinu u diluční agarové metody.....	39

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Celkový počet testovaných (a z toho rezistentních) izolátů kmene <i>E. faecalis</i> v letech 2013-2023	47
Tabulka 2: Celkový počet testovaných (a z toho rezistentních) izolátů kmene <i>E. faecium</i> v letech 2013-2023	48

SEZNAM ZKRATEK

ATB	Antibiotika
BS.....	Buněčná stěna
CNS.....	Centrální nervová soustava
GISA	<i>Staphylococcus aureus</i> intermediárně rezistentní na glyko-peptid
GIT.....	Gastrointestinální trakt
GRSA.....	Glykopeptid rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
G+	Gram-pozitivní
G-	Gram-negativní
hVISA	Heterogenní <i>Staphylococcus aureus</i> intermediárně rezistentní na vankomycin
i.m.	intramuskulárně
i.v.	intravenózně
JIP	Jednotka intenzivní péče
MIC.....	Minimální inhibiční koncentrace
MRSA	Methicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
PBPs.....	Penicillin-binding proteins
SOP	Standardní operační postup
SSSI	Skin and skin structure infections
TEI C.....	Teikoplanin citlivý
VAN C.....	Vankomycin citlivý
VAN R.....	Vankomycin rezistentní

VISA *Staphylococcus aureus* intermediárně rezistentní na vankomycin

VRE Vankomycin rezistentní enterokoky

VRSA..... Vankomycin rezistentní *Staphylococcus aureus*

ÚVOD

V dnešní době se setkáváme s rostoucí rezistencí na antimikrobiální látky, což představuje vážné globální ohrožení lidské populace, a to především pacientů ve zdravotnických zařízeních. Jedním z klíčových patogenů, který vykazuje rezistenci na ATB je rod *Enterococcus*, zejména tedy zástupci tohoto rodu, a to *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*. Ty mají schopnost vyvolat závažné infekce především v nemocničním prostředí a u imunosuprimovaných pacientů.

V důsledku jeho narůstající odolnosti vůči léčbě vankomycinem se stal tento bakteriální patogen předmětem značného zájmu, jelikož vankomycin je jedním z posledních rezervních antibiotik pro léčbu infekcí způsobených grampozitivními bakteriemi. V posledních letech došlo až k alarmujícímu nárůstu případů enterokoků rezistentních na vankomycin ve zdravotnických zařízeních po celém světě, což s sebou přináší značné obavy o efektivitu léčby a zvyšuje riziko šíření těchto rezistentních mikroorganismů.

Studium výskytu vankomycin rezistentních enterokoků ve zdravotnickém prostředí je klíčové k minimalizaci rizika pro pacienty. Porozumění trendům v rezistenci enterokoků k ATB umožní lépe nasměrovat preventivní opatření a zlepšit účinnost léčby, což je nezbytné k zachování účinnosti antimikrobiálních látek a pro ochranu veřejného zdraví.

TEORETICKÁ ČÁST

1 ROD *ENTEROCOCCUS*

1.1 Historie taxonomie

První zmínka o rodu *Enterococcus* se datuje do roku 1899, kdy jej poprvé popsal francouzský vědec Thiercelin. Ten poprvé použil název „entérocoque“ pro grampozitivní koky fekálního původu uspořádaných do dvojic nebo krátkých řetězků (1). Roku 1903 Thiercelin a Jouhaud použili jméno *Enterococcus*, avšak vědecká komunita toto pojmenování neakceptovala (2). O tři roky později byly tyto lidské střevní koky pojmenovány jako *Streptococcus faecalis* na základě jejich schopnosti seskupit se do dlouhých nebo krátkých řetězců, na čemž se podíleli Andrewes a Horder (1906), čímž je definovali do rodu *Streptococcus* (3). Jako další druh z rodu *Streptococcus* byl popsán *Streptococcus faecium*, dánským chemikem a bakteriologem Sigurdem Orla-Jensenem (1919), který tyto dva typy odlišil na základě fermentačních vzorců (4). Omezenější fermentační schopnosti vykazoval další druh, *Streptococcus durans*, jenž byl popsán zhruba o dvacet let později Shermanem a Wingem (1935), a který byl velice podobný *Streptococcus faecium* (5). James Morgan Sherman, americký profesor bakteriologie a mléčného průmyslu a prezident Americké společnosti pro mikrobiologii pro rok 1937, následně navrhl klasifikační schéma a rozdělil streptokoky do čtyř základních skupin (1937):

- pygoenní
- viridans
- mléčné
- enterokoky

Toto rozdělení bylo velice významným mezníkem v taxonomii streptokoků, a tedy i enterokoků. Sherman publikoval práci (1937), ve které utvořil tyto skupiny na základě serotypizace, jenž byla roku 1933 popsána R. C. Lancefieldovou a dále také pomocí testů pro hemolýzu, redukci lakmusového mléka, produkci amoniaku z peptonů a také například schopnosti streptokoků přežít v 60 °C po dobu 30 minut. Je nutno podotknout, že toto rozdělení se promítlo také do současné taxonomie streptokoků, a že řada testů využitá Shermanem v jeho práci se v taxonomii enterokoků využívá dodnes. Skupina „enterokoky“ zahrnovala *Streptococcus faecalis* (hemolýza negativní, proteolýza negativní), *Streptococcus faecalis* var. *liquefaciens* (hemolýza negativní, proteolýza pozitivní), *Streptococcus faecalis*

var. *hemolyticus* (hemolýza pozitivní, proteolýza negativní), dále *Streptococcus faecalis* var. *zymogenes* (hemolýza i proteolýza pozitivní) a *Streptococcus durans*. Je zajímavé, že *Streptococcus faecium*, jež byl dříve popsán výše zmiňovaným Orla-Jensenem, J. M. Sherman považoval za identický se *Streptococcus faecalis* (6) a teprve až v polovině 60. let byl oficiálně uznán jako samostatný druh (7) (8) (9). V 60. letech 20. století byly popsány pohyblivé enterokoky se schopností tvořit žlutý pigment a byl jim udělen název *Streptococcus faecium* var. *casseliflavus* (10) (11). S odstupem deseti let byl přidán další druh, *Streptococcus avium*, do skupiny enterokoků (12). Na základě fenotypových charakteristik druhů a buněčného uspořádání navrhl Kalina v roce 1970 vytvoření taxonu *Enterococcus* (13). Oficiálně byl však tento návrh přijat až v roce 1984, kdy byl poskytnut genetický důkaz, že *Streptococcus faecalis* a *Streptococcus faecium* byly dostatečně odlišné od ostatních druhů rodu *Streptococcus* (14). Na základě podobných genetických důkazů byly kmeny dříve pojmenované *S. avium*, *S. casseliflavus*, *S. durans* a *S. gallinarum* přerazeny do rodu *Enterococcus* (15). V roce 2002 byla vydána rozsáhlá publikace oznamující 23 různých druhů enterokoků (16).

1.2 Charakteristika rodu *Enterococcus*

1.2.1 Základní charakteristika

Rod *Enterococcus* se řadí do čeledi *Enterococcaceae*, řádu *Lactobacillales*, třídy *Bacilli* a kmene *Firmicutes*. Enterokoky jsou příbuzné laktokokům, streptokokům nebo laktobacilům a dalším bakteriím, které jsou schopny kvašení mléka (17). Lze je klasifikovat jako Gram-pozitivní kokovité až oválné bakterie, které se mohou vyskytovat jak jednotlivě nebo ve dvojicích, tak v krátkých řetězcích nebo shlucích. Nevytvářejí spory a nemají pouzdro. Ojedinele však mohou mít krátké bičíky, a tudíž být i pohyblivé. Mohou také produkovat bakteriociny, v případě enterokoků jde o enterociny, což jsou produkty, které jsou schopny ničit ostatní bakterie. Nejčastěji jsou to proteiny nebo kódované plasmidy. Ty působí na receptory citlivých bakterií, které poté zabíjejí různými způsoby (18).

Tyto koky jsou fakultativně anaerobní, tudíž jsou schopné přežít jak v prostředí s kyslíkem, tak v prostředí bez něj. U enterokoků se nevyskytuje enzym kataláza, proto nejsou schopné rozkládat peroxid vodíku na vodu a kyslík. Tato skutečnost lze zjistit jednoduchým katalázovým testem, kdy se k rozetřené kolonii bakterií přidá peroxid vodíku, ať už přímo na mediu nebo na sklíčku. Kataláza pozitivní bakterie začnou uvolňovat kyslík v podobě malých bublinek, což lze pozorovat makroskopicky. Některé druhy však mohou vykazovat pseudokatalázovou aktivitu, tedy udávat pozitivní výsledek, pokud je katalázový test prováděn u kultur kultivovaných na půdě obsahující krev. Mají homofermentativní

metabolismus – jsou schopny z jednoduchých sacharidů (především mono-, di- a oligosacharidů) vyrábět kyselinu mléčnou (18).

Jejich odolnost proti externím vlivům je opravdu vysoká. Velmi dobře přežívají velké koncentrace žlučových solí a kyselin, v relativně rozsáhlém rozmezí i změny pH a v neposlední řadě i velké změny teplot (10 až 60 °C) (18).

Co se týče kultivace, jsou enterokoky nenáročné bakterie. Dobře rostou na většině běžných médií, a to včetně krevního agaru, na kterém jsou jen ve výjimečných případech viridující nebo hemolytické (18). Na krevním agaru jsou jejich kolonie šedé až mléčně zbarvené. Jsou lesklé, hladké, kruhové, slabě vyklenuté a mají ucelený okraj. Jak je již výše zmíněno, některé druhy jsou schopny tvořit žlutý pigment. Jedná se konkrétně o *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus sulfureus* a *Enterococcus mundtii*. Tyto druhy mohou vykazovat α či β hemolýzu na krevním agaru nebo mohou být nehemolytické. Tvorba a druh hemolýzy však závisí na taxonu, a také na druhu krve, která je do média přidána. Teplotní optimum pro jejich růst je 35 °C, ale majorita druhů roste v intervalu 10-45 °C (19). Podle vztahu k teplotě můžeme říci, že enterokoky jsou mezofilní.

1.2.2 Buněčná stěna

Buněčná stěna enterokoků je grampozitivního typu a je tvořena třemi hlavními složkami. Peptidoglykanem, který přiléhá na cytoplazmatickou membránu, vrstvami polysacharidových řetězců, ve kterých se střídá N-acetylglukosamin a N-acetylmuramová kyselina (20). Téměř všechny zbytky této kyseliny jsou spojeny peptidickými můstky, což je důležité pro výběr antibiotik. Buněčná stěna je ještě tvořena řetězcí kyseliny teichoové, které procházejí skrze silnou vrstvu peptidoglykanu. Kyselina teichoová má mimo jiné funkci hlavního povrchového antigenu (21). V neposlední řadě je BS tvořena polysacharidy. Kromě těchto složek obsahuje také periferní a integrální proteiny.

1.2.3 Antigenní vlastnosti

Enterokoky jsou zařazeny do sérologické skupiny D, jelikož produkují antigen D. Ten je tvořen glycerolteichoovou kyselinou, která je zakotvena v cytoplazmatické membráně (18). Samotný antigen je uložen mezi cytoplazmatickou membránou a buněčnou stěnou. Enterokoky produkují také kromě antigenu D ještě antigeny K a O, které byly popsány u *E. faecalis*. Antigen K se rozkládá za zvýšených teplot, je tedy termolabilní, a vyskytuje se na povrchu bakterií. Antigen O je naopak termostabilní a je pevně vestavěn do buněčné stěny (9).

1.3 Výskyt

Enterokoky osidlují gastrointestinální systém obratlovců i bezobratlých, ale také půdu, vody i rostliny. Mohou se vyskytovat přirozeně jako součást fyziologické mikrobiální flóry v zažívacím ústrojí u lidí, nebo jako kontaminace v odtokových vodách či v půdě po použití přírodních hnojiv (22). Dále se mohou vyskytovat v mléčných, či masných výrobcích, kdy dochází ke kontaminaci již při prvotním zpracování těchto výrobků. Jsou také hojně využívány jako součást probiotik, což jsou látky, které udržují nebo obnovují rovnováhu mikrobiální flóry ve střevech. Z rodu *Enterococcus* je to právě *Enterococcus faecium*, který je nejčastěji v probiotikách zastoupen (18).

1.3.1 Komenzální enterokoky v lidském organismu

Enterokoky se pravidelně vyskytují jako součást střevní mikroflóry, kde tvoří nezbytnou a prospěšnou složku. Dále se vyskytují také ve vagíně a velmi zřídka i v horních dýchacích cestách. V lidském zažívacím traktu se většinou vyskytují druhy *E. faecium* a *E. faecalis*. Ostatní enterokoky však nevykazují patogenní vlastnosti do doby, než proniknou do jiných částí těla (18).

1.4 Patogeneze, patogenita a virulence enterokoků

1.4.1 Patogeneze

Enterokoky byly dříve považovány za neškodné komenzální bakterie střevní flóry, které byly schopny vyvolat maximálně cystitidu (23). Nicméně s postupem času se zařadily mezi typické podmíněné patogeny, jejichž kultivační objevy v odlišných oblastech představují spíše výsledek osidlování než aktivní infekce (24). Převážně jsou ohroženi polymorbidní dlouhodobě hospitalizovaní pacienti se sníženou obranyschopností, kteří mají trvale zavedený intravaskulární nebo močový katétr a pacienti léčení širokospektrými antibiotiky (23).

1.4.2 Patogenita

Onemocnění, které enterokoky vyvolávají mohou mít endogenní, exogenní i nozokomiální původ. Tyto infekce vyvolává převážně *E. faecalis* a méně často se na nich podílí i *E. faecium* (18). Mezi nejčastější infekce patří infekce močových cest, zejména u pacientů dlouhodobě katetrizovaných nebo u pacientů s anatomickými abnormalitami, dále pak infekce hlubokých operačních ran v břišní oblasti, infekce kostí v zóně umělých kloubů, infekce centrální nervové soustavy po implantaci spojek a u pacientů s traumatickým nebo nádorovým postižením enterokoky vyvolávají meningitidu. V neposlední řadě se enterokoky

podílejí i na poporodních endometritidách, na infekcích krevního řečiště u pacientů s intravaskulárními katétry nebo po injekční aplikaci drog, kdy při proniknutí enterokoků do krve vzniká enterokoková seps, na endokarditidách po operační náhradě srdečních chlopní či u pacientů se srdečními chorobami. Dále jsou původcem břišních a pánevních infekcí u pacientů po peritoneální dialýze, kdy se mohou tvořit navíc ještě abscesy. Méně často vyvolávají gynekologické záněty nebo infekci žlučových cest. Rizikovým faktorem vzniku infekcí je i léčba širokospektrými antibiotiky, která zvyšuje frekvenci těchto onemocnění zapříčiněných převážně nozokomiálními infekcemi, které jsou vyvolány multirezistentními kmeny enterokoků (18) (23).

1.4.3 Faktory virulence

Mezi nejvýznamnější faktory virulence enterokoků patří: povrchové adheziny, extracelulární superoxid, želatináza, hyaluronidáza a cytolysin (25).

Povrchové adheziny umožňují enterokokům přilnutí k hostitelské tkáni či umělým povrchům. Mezi nejznámější povrchové adheziny můžeme zařadit agregační substanci (AS) a enterokokové povrchové proteiny (Esp). Agregační substance podporuje přilnavost enterokoků k buňkám epitelu v gastrointestinálním a urogenitálním traktu a povrchové proteiny zvyšují schopnost adheze k umělým povrchům, jako jsou například močové katétry či chirurgické implantáty, a tvorbu bakteriálních biofilmů (25) (26).

Schopnost produkce extracelulárního superoxidu náleží převážně *E. faecalis* a méně tak *E. faecium*. Tento superoxid má za následek narušení buněk gastrointestinálního traktu a umožňuje tak enterokokům lépe pronikat do tkání a krevního oběhu (25) (27).

Proteolytický enzym želatináza působí na kolagenní složky tkání. Umožňuje hydrolyzu želatiny, hemoglobinu, kaseinu a jiných biologicky aktivních peptidů na jejich podsloučeniny, které procházejí buněčnou membránou a mohou být organismem využity (26).

Dalším z enzymů je hyaluronidáza, což je enzym ze třídy hydroláz. Taktéž jako extracelulární superoxid je produkce hyaluronidázy typičtější pro *E. faecalis*. Hydrolyticky rozkládá kyselinu hyaluronovou a je označována jako degradační enzym, který zvyšuje invazivitu bakterií tím, že rozkládá mukopolysacharidovou složku pojivové tkáně (28).

Cytolysin, jinak také zvaný hemolysin, je toxický pro široké spektrum buněk. Jedná se například o grampozitivní bakterie, eukaryotické buňky, jako jsou lidské, koňské i hovězí erytrocyty, dále polymorfonukleární leukocyty, či lidské buňky střevního epitelu. Je známo, že enterokoky, které produkují hemolysin, jsou schopny větší virulence, než enterokoky bez schopnosti produkce (26) (29).

1.5 Diagnostika

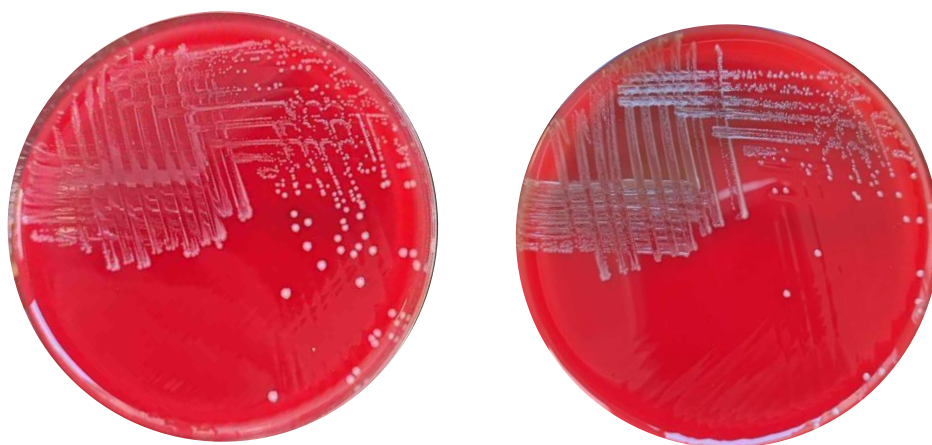
1.5.1 Kultivace

Základní půdou pro kultivaci enterokoků je krevní agar. Vyrábí se přidáním 5-10 % defibrinované, nejčastěji beraní, krve k živnému agaru. Na krevním agaru vytvářejí enterokoky šedavé kolonie, které mohou být obklopeny úzkou zónou α -hemolýzy, méně často pak β -hemolýzy nebo mohou být nehemolytické (23).

Dále se ke kultivaci enterokoků využívají speciální selektivně diagnostické půdy. Jednou z takových nejvíce používaných je Slanetz-Bartleyho agar s přidavkem azidu sodného. Výhoda azidu sodného spočívá v jeho toxicitě pro gramnegativní bakterie, čímž umožní růst pouze grampozitivním mikrobům. Další složkou této půdy je trifenyltetrazoliumchlorid, který je enterokoky rozložen na nerozpustný formazan. Ten barví kolonie enterokoků růžově červeně až červenohnědě. Jelikož při klasické kultivační teplotě mohou na půdě růst kolonie i jiných grampozitivních bakterií, je selektivita půdy pro růst enterokoků zvýšena inkubací při 45 °C (30).

Další často používanou selektivní půdou je žluč-eskulinový agar. Enterokoky hydrolyzují eskulin na eskuletin a glukózu, což se za přítomnosti citrátu železitého projeví vznikem hnědočerné sraženiny. V půdě je také přítomna žluč či její soli, které zamezují růstu většině grampozitivních bakterií. Enterokoky však žluč snášejí dobře a růst na této půdě jim problém nedělá. Půda se v přítomnosti kolonií enterokoků barví hnědočerně (30).

Obr. č. 1: *E. faecalis* (vlevo) a *E. faecium* (vpravo) vykultivované na krevním agaru

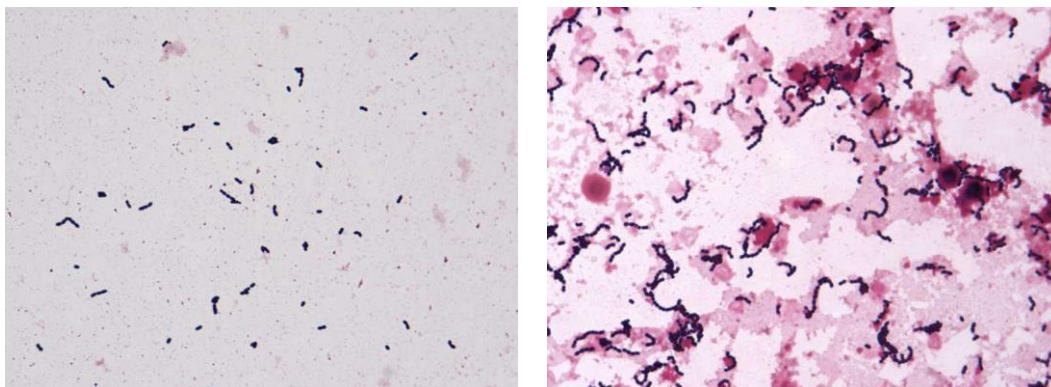


Zdroj: Ústav mikrobiologie FN Plzeň

1.5.2 Mikroskopie

Mikroskopický průkaz enterokoků nepatří ke stěžejním diagnostickým metodám, avšak někdy umožňuje předběžnou identifikaci těchto G+ koků, například v preparátu z pozitivních hemokultur, bronchoalveolárních laváží, tracheálních aspirátů, sput apod.

Obr. č. 2: Snímek z mikroskopu kmene *E. faecalis* v bujónu (vlevo) a v hemokultuře (vpravo)



Zdroj: Ústav mikrobiologie FN Plzeň; Foto: Olympus PROMICRA

1.5.3 Identifikační testy

Enterokoky lze identifikovat pomocí latexové aglutinace, díky které můžeme prokázat u zkoumaného kmene skupinově specifický antigen D. Průkazem tohoto antigenu je možno odlišit enterokoky od streptokoků. Antigen D se však může vyskytovat i u jiných rodů, a to například u rodů *Pediococcus* a *Leuconostoc*. Od těchto rodů odlišíme enterokoky průkazem PYRázy (pyrrolidonyl arylamidázy), neboli PYR-testem, a dále průkazem leucininaminopeptidázy, jinak také LAP-testem. Oba tyto testy jsou u enterokoků pozitivní (23).

1.5.4 MALDI-TOF MS

S postupem rozvoje identifikačních metod v bakteriologii se metoda MALDI-TOF MS dostala na přední příčku nejdůležitějších a nejvíce používaných diagnostických metod. Jedná se o spektrofotometrickou metodu, díky které je možno určit proteinový profil bakterií. Díky této metodě lze určit nejen rod bakterie, ale navíc i druh. Je přesnější a o mnoho rychlejší než klasické identifikační metody, a dokonce i levnější, jelikož se nemusí očkovat bakterie na tak velký počet kultivačních půd. Tato metoda umožňuje zkrátit cestu od odběru materiálu k určení patogena i na méně než 24 h (31).

2 MOŽNOSTI LÉČBY ENTEROKOKOVÝCH INFEKČÍ

2.1 Glykopeptidová antibiotika

Baktericidní účinek glykopeptidových antibiotik působí na spoustu grampozitivních bakterií, a to jak na aerobní, tak i na anaerobní. Tento druh antibiotik je hydrofilní, což znamená, že je schopen na sebe vázat molekuly vody anebo se ve vodě rozpouštět. Také dobře proniká do řady prokrvených tkání (32). Hlavním úkolem glykopeptidových antibiotik je inhibice tvorby peptidoglykanu obsaženého v buněčné stěně bakterií. Mechanismus účinku spočívá ve vazbě těchto antibiotik na koncovou část pentapeptidu, jenž je jednou ze základních stavebních složek bakteriálního peptidoglykanu. Jejich působení je úzkospektré, jelikož působí pouze na G⁺ bakterie (33).

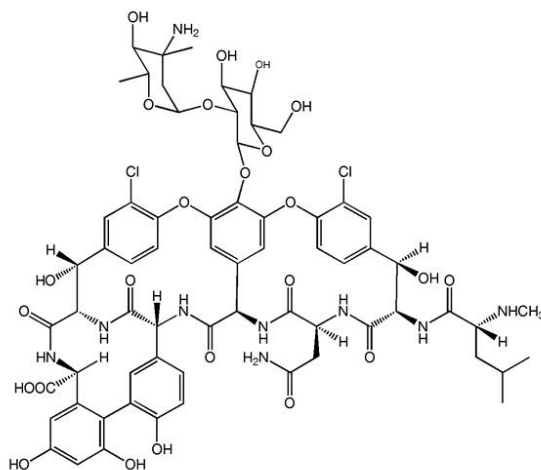
2.1.1 Vankomycin

Vankomycin je prvním nejznámějším zástupcem této skupiny antibiotik. Byl objeven v padesátých letech 20. století na Borneu jako produkt půdní bakterie *Streptomyces orientalis*. Tehdy se zjistilo, že je vankomycin vysoce účinný proti četným G⁺ bakteriím včetně zlatých stafylokoků, které byly v té době komplikovaně léčitelné, jelikož se začaly objevovat stafylokokové kmeny rezistentní na přirozené peniciliny, tetracykliny a makrolidy. Původ názvu tohoto antibiotika pochází z angličtiny, přesněji ze slova *vanquish* (zahubit), což mělo představovat hubící či zničující účinek právě na kmeny stafylokoků. Původní roztok vankomycinu obsahoval spoustu nečistot, které měly za následek řadu nežádoucích účinků. Mezi tyto nežádoucí účinky můžeme zařadit například nefrotoxicitu, ototoxicitu nebo anafylaktoidní reakci, která byla způsobena vyplavením velkého množství histaminu. Této reakci se přezdívá také *red man syndrom*, jelikož se projevuje zarudnutím kůže v oblasti obličeje, krku nebo celé horní poloviny těla (32).

V současné době se vankomycin používá při léčbě těžkých systémových infekcí, jako je například sepse, osteomyelitida, endokarditida aj. Také se poměrně rozšířilo orální podávání tohoto antibiotika jako střevní dekontaminace, což mělo mít vliv na omezení potenciálně nebezpečných střevních bakterií (33). Správné dávkování vankomycinu se ale jevílo jako komplikované, avšak za účelem dosažení dostatečného antimikrobiálního účinku a prevence před nežádoucími účinky se zavedlo monitorování sérové koncentrace vankomycinu, nejčastěji u pacientů z rizikových skupin. Do této skupiny řadíme např. pacienty s renální insuficiencí či pacienty s těžkými, život ohrožujícími infekcemi (32). Dnes se jedná

o již vyčištěný a poměrně bezpečný lék, avšak obavy z jeho toxicity se mezi lékaři objevují dodnes (33).

Obr. č. 3: Chemický strukturní vzorec vankomycinu



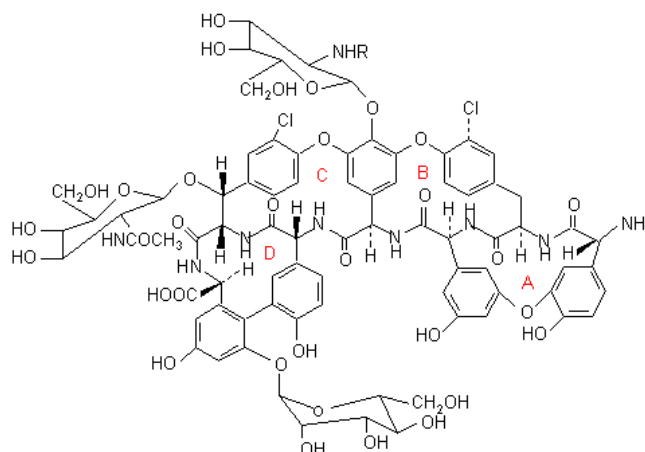
Zdroj: Použito ze stabilis.org, upraveno

2.1.2 Teikoplanin

Dalším zástupcem skupiny glykopeptidů je teikoplanin, který byl objeven v 70. letech minulého století, rovněž jako produkt půdní bakterie, avšak tentokrát se jednalo o bakterii *Actinoplanes teichomyceticus*. Název antibiotika tedy vznikl z rodového a druhového jména této bakterie (32). Teikoplanin má podobnou strukturu a využití jako vankomycin, avšak díky jeho chemické nehomogenosti nelze monitorovat hladiny léku v krvi. Od vankomycinu se dále liší dvakrát vyšší účinností proti enterokokům, streptokokům a pneumokokům. Naopak výrazně menší účinek má proti některým koaguláza-negativním stafylokokům.

Díky jeho dlouhému poločasu rozpadu lze toto antibiotikum podávat jednou denně, má však pomalejší nárůst účinku než vankomycin. Vyznačuje se také výrazně nižší pravděpodobností výskytu nežádoucích účinků. Výše zmíněné vlastnosti teikoplaninu vedou k jeho použití u dlouhodobě léčených infekcí při stabilizovaném stavu pacienta (např. infekční endokarditida či infekce cizích těles, které jsou obtížně odstranitelné). Dále byl jeho pozitivní účinek vyzkoušen při léčbě febrilní neutropenie v kombinaci s ATB proti gramnegativním bakteriím nebo také při infekcích urogenitálního traktu způsobených enterokoky (33).

Obr. č. 4: Chemický strukturální vzorec teikoplaninu



Zdroj: Použito z hplc.cz, upraveno

2.2 Aminopeniciliny

Aminopeniciliny jsou semisyntetická antibiotika, jež se po podání šíří v kompartmentu, který je podobný extracelulární tekutině, takže se používají zejména pro léčbu středně těžkých až těžkých infekcí vznikajících v dobře prokrvených tkáních a v oběhové soustavě a infekcí způsobených citlivými enterokoky, především *E. faecalis*. U *E. faecium* se vyskytuje přirozená rezistence na tato antibiotika. Nejsou tedy vhodné k léčbě povrchových infekcí, či infekcí sliznic. Efektivita léčby je závislá na čase, po který je antibiotikum přítomno v těle a jeho hladina se pohybuje nad hodnotou minimální inhibiční koncentrace. Lepší a účinnější efekt tedy bude mít, pokud tato antibiotika budeme podávat častěji v kratších intervalech než po větších dávkách (34).

Podání aminopenicilinů je bezpečné pro těhotné ženy. Jejich speciální podskupinou jsou potencionované aminopeniciliny, ve kterých jsou obsaženy inhibitory β -laktamáz (jedná se např. o amoxicilin + klavulanát = amoksiklav) (35). Nejčastějšími nežádoucími účinky jsou alergie a postantibiotická kolitida. Léčba těmito antibiotickými látkami je kontraindikována při infekční mononukleóze (34).

2.2.1 Ampicilin

Řadí se mezi běžně používaná antibiotika a jeho účinnou látkou je stejnojmenná složka ampicilin. Principem účinku je schopnost narušit metabolismus buněčné stěny bakterií, která hraje důležitou roli pro jejich přežívání. Řada bakterií je proti ampicilinu rezistentní, jelikož mají schopnost ho štěpit enzymem β -laktamázou. Tento nežádoucí účinek lze narušit podáním inhibitoru tohoto enzymu. Působí na řadu gram pozitivních i gram negativních

bakterií. Vykazuje široké spektrum účinku, takže je vhodný pro léčbu infekcí horních cest dýchacích, zánětů dutin a středního ucha, zápalů plic nebo močových infekcí. Toto antibiotikum je dostupné pouze pro parenterální podání, tudíž má využití spíše u hospitalizovaných pacientů. V kombinaci s aminoglykosidem se používá k léčbě endokarditidy způsobené enterokoky nebo streptokoky. Mezi nežádoucí účinky můžeme zařadit červenou vyrážku po podání při infekční mononukleóze (35).

2.2.2 Amoxicilin

Tento zástupce aminopenicilinů je analogem ampicilinu a je dostupný pro perorální i parenterální použití. Má širší spektrum účinku a jeho výhodou je absolutní absorpce při perorálním podání. Rezistence na toto antibiotikum je běžná, jako u výše zmiňovaného ampicilinu, pokud není podáno v kombinaci s inhibitory β -laktamáz. Vznik rezistence může být i z důvodu změn v proteinech, které váží penicilin (PBPs). Takový mechanismus rezistence můžeme pozorovat u *Streptococcus pneumoniae* (36).

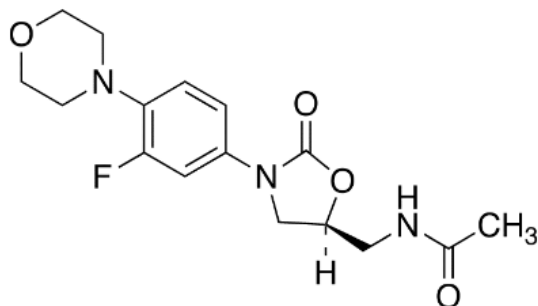
Nejčastěji je indikován k terapii nekomplikovaných infekcí močových cest, exacerbací chronické bronchitidy a zánětu středního ucha. Nežádoucími účinky tohoto léku jsou gastrointestinální nesnášenlivost, při které se objevuje nauzea, zvracení nebo průjem, postantibiotická kolitida, která vzniká narušením fyziologické střevní mikroflóry a vaginální dysmikrobie (34).

2.3 Linezolid

Jedná se o poměrně nové a jediné klinicky dostupné antibiotikum ze skupiny oxazolidinonů. Působí převážně bakteriostaticky a některé jeho antibiotické účinky mohou přetrvávat i po vysazení (37). Naopak musím zmínit i nežádoucí účinky, mezi které můžeme zařadit například alergické reakce, rozvoj laktátové acidózy nebo zvýšení hodnot u jaterních testů. Tyto nežádoucí účinky závisí na délce podávání linezolidu. Princip účinku spočívá v blokaci tvorby bílkovin v bakteriálních buňkách a následném snížení jejich schopnosti množení (35).

Velmi dobře působí na grampozitivní bakterie, jako jsou stafylokoky, enterokoky nebo streptokoky, zejména pokud jsou tyto mikroorganismy rezistentní vůči jinak vhodným antimikrobiálním látkám. Léčba tímto antibiotikem je vhodná u nozokomiálních a komunitních pneumonií nebo u komplikovaných infekcí kůže a měkkých tkání, které byly způsobeny G+ bakteriemi. Tento lék je možno podat perorálně či parenterálně (37).

Obr. č. 5: Chemický strukturní vzorec linezolidu



Zdroj: Použito z trc-canada.com, upraveno

2.4 Glycylcykliny

Glycylcykliny představují novou skupinu antibiotik s širokým spektrem účinku, které jsou analogem k tetracyklinům. Jejich účinnost in vivo je podobná tetracyklinům s tím rozdílem, že jsou velice účinné proti bakteriálním kmenům, které jsou na tetracykliny rezistentní (38).

2.4.1 Tigecyklin

Tato látka je prvním a prozatím jediným antibiotikem ze skupiny glycylcyklinů, která byla zavedena do klinické praxe. Jedná se o širokospektré antibiotikum, které je účinné na celou škálu klinicky významných bakterií, tzn. G+ i G- bakterie, ale také anaerobní a atypické bakterie včetně některých multirezistentních kmenů. Dobře působí například na kmeny methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) a vankomycin rezistentní *Enterococcus spp.* (VRE). Jeho chemická struktura je schopna překonat oba hlavní mechanismy rezistence k tetracyklinům, jimiž jsou eflux a změna vazebného místa na ribozomu. Prozatím nebyla pozorována zkřížená rezistence s jinými skupinami antibiotik (39).

Léčba tigecyklinem je nejčastěji indikována u komplikovaných infekcí kůže a měkkých tkání a komplikovaných intraabdominálních sepsí. Je také vhodnou alternativou pro pacienty s alergií na β -laktamová antibiotika. Tato antimikrobiální látka je určena k použití u pacientů starších 18 let a dávkování není nutno upravovat pro pacienty s mírným až středně těžkým poškozením jater, pro pacienty s renální insuficiencí nebo pro pacienty na hemodialýze. Tigecyklin je obecně dobře snášen. Mezi nejčastější nežádoucí účinky patří nevolnost, zvracení nebo průjem (39).

2.5 Aminoglykosidová antibiotika

Aminoglykosidová antibiotika je skupina přirozeně se vyskytujících nebo polosyntetických sloučenin, které vykazují baktericidní aktivitu. Jsou obzvláště účinná proti aerobním a gramnegativním bakteriím. Pouze v kombinaci s jinými antibiotickými látkami, nejčastěji β -laktamy, peniciliny či glykopeptidy, působí dobře i proti grampozitivním bakteriím. Podávají se výhradně parenterálně (i.v., i.m.), jelikož se při podání per os nevstřebávají. Po podání jsou přenášeny aktivním transportem (skrze vnitřní část membrány), který je závislý na kyslíku, a proto tato skupina antibiotik nepůsobí na anaerobní bakterie (40).

Indikací pro léčbu aminoglykosidovými antibiotiky bývají závažnější infekce, jako jsou infekce CNS, rozsáhlé septické stavy, pneumonie, endokarditidy aj. I tato antibiotika s sebou nesou možné nežádoucí účinky, jako je ototoxicita, neurotoxicita nebo nefrotoxicita (40).

2.5.1 Gentamicin

Nejčastěji používaným antibiotikem ze skupiny aminoglykosidů je gentamicin. U infekcí způsobených enterokoky se gentamicin nevyužívá k monoterapii, ale spíše se používá v kombinaci s jinými antibiotiky – β -laktamy, kdy tato kombinovaná léčba může být synergická, pokud zde nefiguruje rezistence na nějakou z těchto látek. Nejčastěji se v této kombinaci používá jako počáteční empirická léčba závažných infekcí (např. u novorozeneckých sepsí, infekcí močového měchýře nebo sepsí břišního původu atd.) (41). Také se může podávat lokálně, kdy je tento způsob podání uplatňován především v oftalmologii, otorhinolaryngologii a dermatologii (42). Hranice mezi účinnou a toxickou dávkou je velice tenká, proto se provádí monitorování sérové koncentrace.

3 VANKOMYCIN REZISTENTNÍ ENTEROKOKY

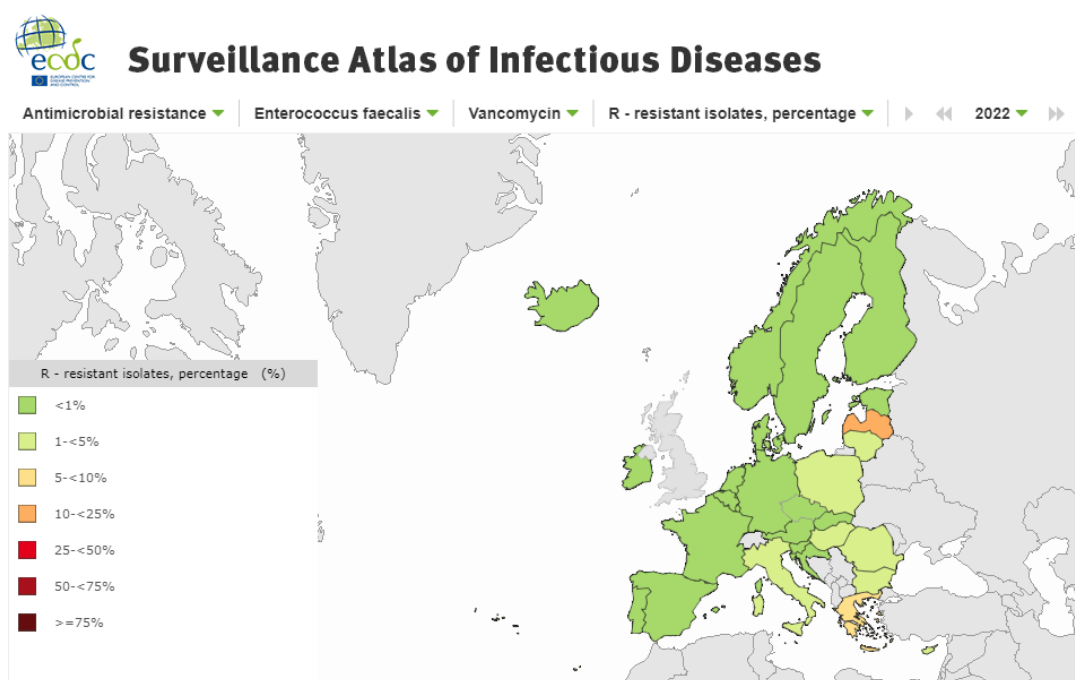
První zmínka o vankomycin rezistentních enterokokích pochází z roku 1986, kdy byly poprvé zachyceny na hematologických odděleních, transplantačních jednotkách, později i na anesteziologicko-resuscitačních odděleních nebo na dětských JIP, jelikož docházelo k nadměrné aplikaci vankomycinu a širokospektrých antibiotik, ke kterým mají enterokoky přirozenou rezistenci (43).

Těmito antibiotiky je narušována střevní mikroflóra a následkem toho dochází k pomnožení kmenů VRE. Pokud je sliznice střeva zánětlivě změněna chemoterapií, může docházet k jejich přestupu do krevního řečiště a orgánů, kde způsobují závažné infekce (43).

Surveillance

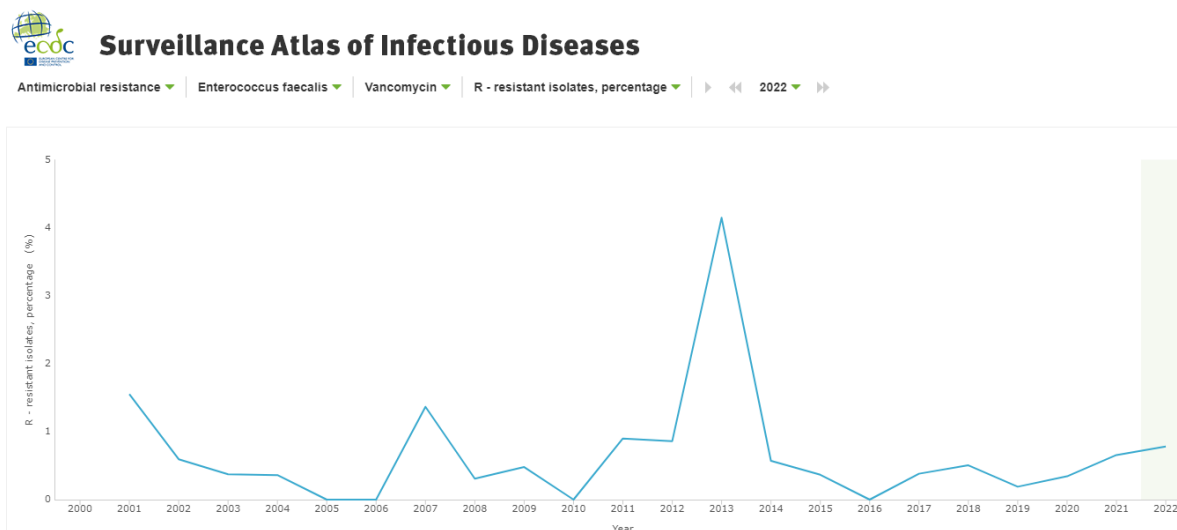
V rámci EARS-Net (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network; v překladu Evropská síť pro dohled nad antimikrobiální rezistencí) se provádí u enterokoků surveillance rezistence k antibiotikům u invazivních izolátů (hemokultura či likvor). Vybrané laboratoře zasílají do tohoto systému svá data o rezistenci. Česká republika se tohoto monitoringu účastní již od roku 2001.

Obr. č. 6: Rezistence k vankomycinu u *Enterococcus faecalis* za rok 2022



Zdroj: EARS-Net, upraveno

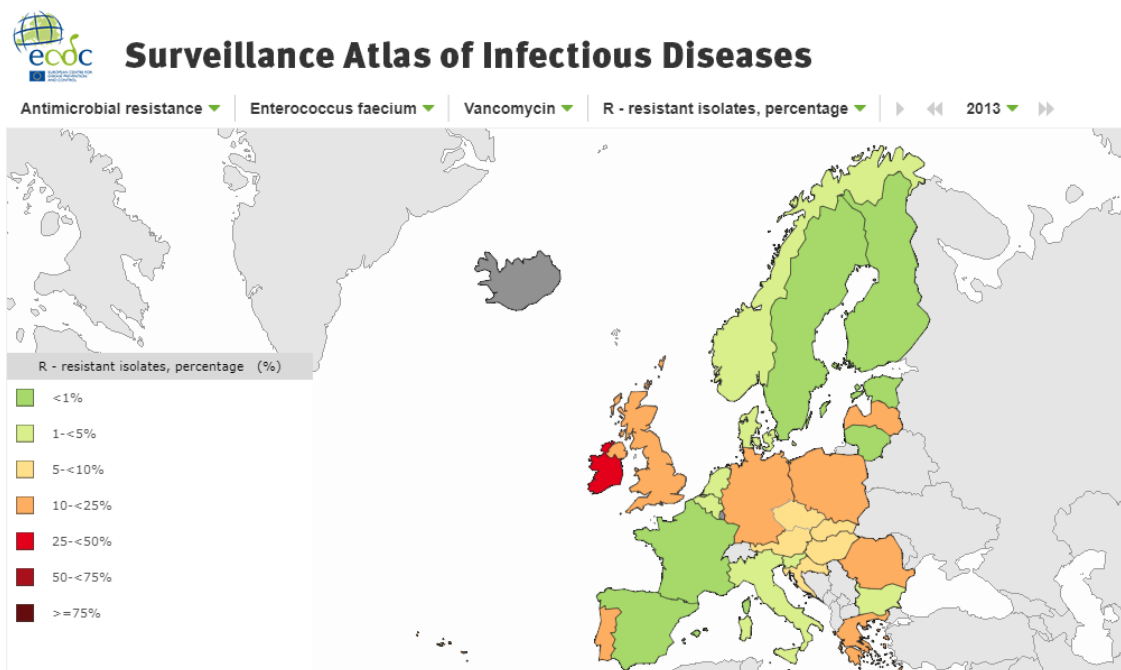
Obr. č. 7: Graf vývoje rezistence k vankomycinu u *Enterococcus faecalis* v ČR v letech 2001-2022



Zdroj: EARS-Net, upraveno

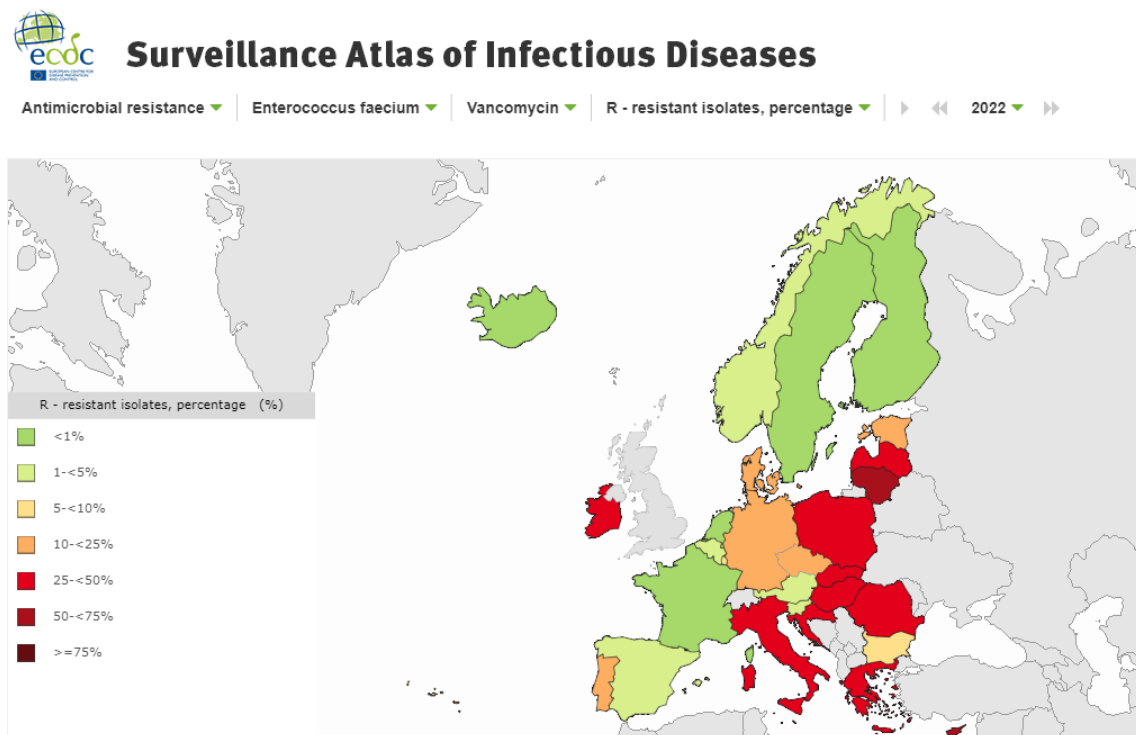
V současné době hladina výskytu rezistentních kmenů *E. faecalis* v ČR i Evropě nijak výrazně nenarůstá. *E. faecalis* je dosud z hlediska rezistence méně významný.

Obr. č. 8: Rezistence k vankomycinu u *Enterococcus faecium* za rok 2013



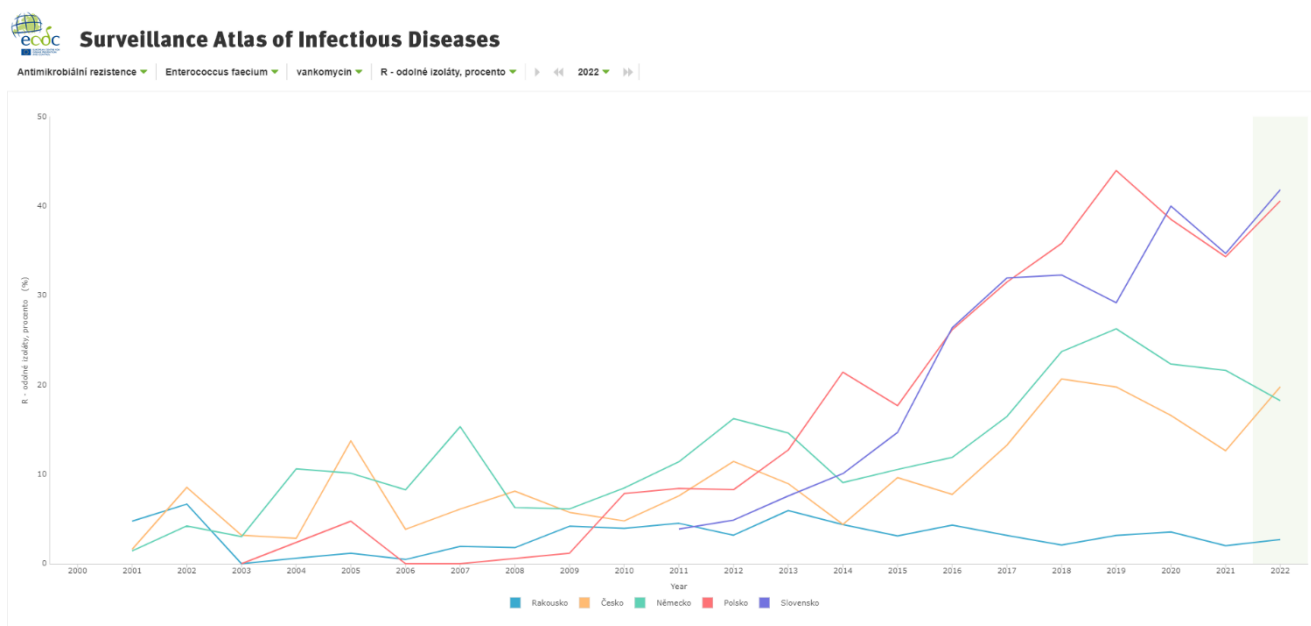
Zdroj: EARS-Net, upraveno

Obr. č. 10: Rezistence k vankomycinu u *Enterococcus faecium* za rok 2022



Zdroj: EARS-Net, upraveno

Obr. č. 9: Graf vývoje rezistence k vankomycinu u *Enterococcus faecium* v ČR a okolních sousedních státech v letech 2011-2022



Zdroj: EARS-Net, upraveno

Obrázky č. 8, 9 a 10 ukazují, jak hladina rezistence k vankomycinu klinicky významnějšího kmene *Enterococcus faecium* rapidně vzrostla v letech 2013-2022 nejen v České republice, ale i v celé střední Evropě.

3.1 Mechanismy rezistence k vankomycinu

Enterokoky, které jsou ať už citlivé nebo rezistentní k vankomycinu, jsou vybaveny nejen rezistencí přirozenou, ale také v dnešní době velice často rozšířenou rezistencí získanou. Jejich genom je velmi pružný, tudíž mohou rezistenci získat díky transpozonům či plazmidům a jejich přesunem z rezistentní bakterie na bakterii citlivou. Mimo jiné se tyto genetické informace rezistence mohou šířit nejen mezidruhově, ale i mezi různými kmeny bakterií (18).

3.1.1 Transpozony

Transpozony, jinak přezdívané „skákáající geny“, jsou malé úseky DNA, které se přemísťují z jednoho místa DNA na jiné. Takto se mohou přemísťovat buď uvnitř molekuly, nebo mezi různými molekulami DNA. Takový děj se jmenuje transpozice, jehož mechanismus není závislý na všeobecné rekombinaci. Transpozony hrají velice významnou roli při vzniku mutací, umožnění změn v uspořádání genomu nebo při přijímání nových genů, které pak šíří v populaci bakterií. Jsou rozděleny do několika základních skupin (18).

První a nejjednodušší skupinu tvoří tzv. inzerční sekvence a komplexní transpozony, na kterých jsou lokalizovány lékařsky důležité znaky, mezi které patří produkce adherentních antigenů a toxinů nebo rezistence na ATB (18).

Další skupinou jsou homologní transpozony, které jsou odpovědné za rezistenci na ampicilin. Třetí skupina zahrnuje bakteriofágy Mu (tzv. mutátor) a jim příbuzné temperované fágy. Zde působí jako transpozon celý genom bakteriofága (18).

Poslední třídou jsou úplně rozdílné konjugativní transpozony, které se vyskytují u G⁺ bakterií, a které jsou zastoupeny transpozonem Tn917. Jsou pokládány za jeden z nejvýznamnějších zdrojů šíření rezistence na ATB u G⁺ bakterií (18).

3.1.2 Plazmidy

Transpozony však nejsou jedinými mobilními elementy, které se podílejí na distribuci genů. Další významnou mobilní složkou jsou plazmidy. Díky plazmidům dokáží enterokoky přenášet geny vysokou rychlostí (44). Jsou to replikony, které jsou uloženy buď mimo chromozom, nebo jsou do něj zabudovány. Jejich replikace probíhá nezávisle na chromozomu bakterií. Obsahují jen malé množství genů a informace, které plazmidy kódují, nejsou nezbytně nutné pro život bakterií (18).

Většina plazmidů určuje také některé vlastnosti patogenních bakterií. Mezi takové vlastnosti můžeme zařadit např.: rezistenci na ATB, tvorbu struktur vyskytujících se na povrchu bakterií, zodpovědných za přilnavost a kolonizaci nebo produkci toxinů. Plazmidy, které určují rezistenci na antibiotika, nazýváme R-plazmidy (resistance faktor) (18). Přenos genů pro antibiotickou rezistenci nemusí probíhat pouze u jedinců rodu *Enterococcus*, nýbrž například i mezi rody *Enterococcus* a *Streptococcus*.

3.2 Mechanismy získané rezistence

Existují dva mechanismy získané rezistence, kdy se u obou případů jedná o změnu cílového místa.

Smyslem prvního typu mechanismu rezistence je záměna D-alaninu, jenž je koncovou částí prekurzoru pro peptidoglykan, za D-serin nebo D-laktát. Pokud je takto tato koncová část změněna, molekuly antibiotika se na ni nemohou vázat (33).

Do roku 2010 bylo objeveno celkem 6 druhů fenotypové rezistence, avšak v dnešní době je popsáno již 9 druhů tohoto způsobu rezistence. Tyto fenotypy se označují VanA až VanN, přičemž fenotyp VanA je ze všech fenotypů nejvíce rozšířen. V menší míře se vyskytuje u *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus durans*, ale nejčastěji je zastoupen druhem *Enterococcus faecium*. Tento typ rezistence je více rozšířen, jelikož gen, který kóduje syntézu D-laktátu, je umístěn na plazmidech a s ním jsou na plazmidech umístěny i regulátorové geny, které řídí jeho aktivitu. V době, kdy v prostředí antibiotikum není přítomno, syntéza D-laktátu nezatěžuje bakteriální buňku, tudíž je toto řešení pro bakterie velice výhodné (33).

Rezistence typu VanB je oproti typu VanA více selektivní. Bakteriální kmeny s typem VanB jsou sice k vankomycinu rezistentní, ale naopak jsou citlivé k teikoplaninu. Rozsah citlivosti k teikoplaninu se u rozdílných izolovaných kmenů může lišit, jelikož rezistence typu VanB není homogenní. Tento typ fenotypu se vyskytuje převážně u *E. faecalis* a více než plazmidy, je kódován chromozomálními geny. Z tohoto důvodu se také nešíří v takové míře, jako typ VanA (33).

Méně častou rezistenci typu VanC můžeme najít u kmenů *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus flavescens* a u *Enterococcus gallinarum*. Zde je podstatou vzniku rezistence výměna koncového D-alaninu za D-serin. Schopnost glykopeptidových antibiotik navázat se k tomuto změněnému pentapeptidu je pouze snižena, ne zcela nemožná. Geny, které kódují tento typ rezistence, se nacházejí pouze v chromozomu bakterií, tudíž se za běžných podmínek nepřenášejí (33).

Ostatní typy rezistence, které nebyly výše zmíněny (VanD až VanN), jsou vzácné a nebyl u nich prokázán horizontální přenos (33).

*„Rezistence založená na výměně D-alaninu za D-laktát nebo D-serin se vyskytuje především u enterokoků. Kmeny enterokoků s touto výbavou se nazývají **VRE (vancomycin-resistant enterococci)**. Předpokládá se, že rezistence typu VanA byla z enterokoků přenesena na *Staphylococcus aureus*. Tak vznikl fenotyp označovaný **VRSA (vancomycin-resistant S. aureus)** nebo **GRSA (glycopeptide-resistant S. aureus)**.“* (Beneš J., 2018, s. 216)

Druhý typ rezistence získané se vyznačuje ztluštěním peptidoglykanového obalu. Čím větší je tloušťka obalu, tím více se mění seskupení peptidoglykanu. Mezi peptidoglykanovými vlákny dochází ke snížení hustoty příčných vazeb a převažuje větší počet volných konců pentapeptidu, které obsahují skupinu D-alanin-D-alanin. Glykopeptidové molekuly špatně procházejí ztluštělou vrstvou peptidoglykanu, a také jim tato struktura odhaluje více cílových skupin D-alanin-D-alanin, na které se glykopeptidy váží. Tento druh rezistence je postupný a je jí zúčastněno mnoho genů. Dochází zde spíše ke snížení míry citlivosti než k úplné rezistenci (33).

*„Rezistence založená na změně uspořádání peptidoglykanové vrstvy byla popsána především u *Staphylococcus aureus*. Kmeny s touto rezistencí se označují **VISA (vancomycin-intermediate S. aureus)** nebo **GISA (glycopeptide-intermediate S. aureus)**.*

*Výskyt intermediární rezistence je často vázán jen na některé klony uvnitř bakteriální populace, takže tato populace jako celek vykazuje heterorezistenci. **Heterorezistentní kmeny (hVISA)** stafylokoků se při standardním testování chovají jako citlivé, ale obsahují malé a obtížně prokazatelné subpopulace semirezistentních buněk. Při působení selekčního tlaku se tyto semirezistentní buňky rozrostou na úkor původní populace.“* (Beneš J., 2018, s. 216)

3.3 Testování citlivosti na ATB

Rutinně se testy citlivosti provádějí pro terapeutické účely i pro účely epidemiologické (screening).

Léčba nemocí a infekcí způsobených bakteriemi je de facto závislá na využití antibiotik. V dnešní době existuje mnoho druhů ATB, a proto se v mikrobiologii zavedly metody, díky kterým zjistíme nejvíce vhodný a účinný typ antibiotika.

Antibiotika se využívají v tzv. sestavách, které jsou voleny podle typu zpracovávaného materiálu (např. moč, výtěr či sputum) a podle druhu vykultivované bakterie.

Výsledkem testu citlivosti bakterií k ATB látkám je antibiogram, který je důležitý při výběru vhodného antibiotika na léčbu konkrétního pacienta.

Metody testování citlivosti k ATB můžeme rozdělit na dvě skupiny, a to:

1. Difúzní metody
2. Diluční metody

3.3.1 Difúzní metody

Jedná se o metody kvalitativní i kvantitativní, tudíž jimi můžeme určit, jestli je bakterie citlivá nebo rezistentní k jistému ATB, či k jaké koncentraci. Základem je inhibiční zóna, která se vytvoří po kontaktu antibiotika s testovaným bakteriálním kmenem (45). Čím více je bakterie citlivá k danému ATB, tím větší zóna inhibice se vytvoří.

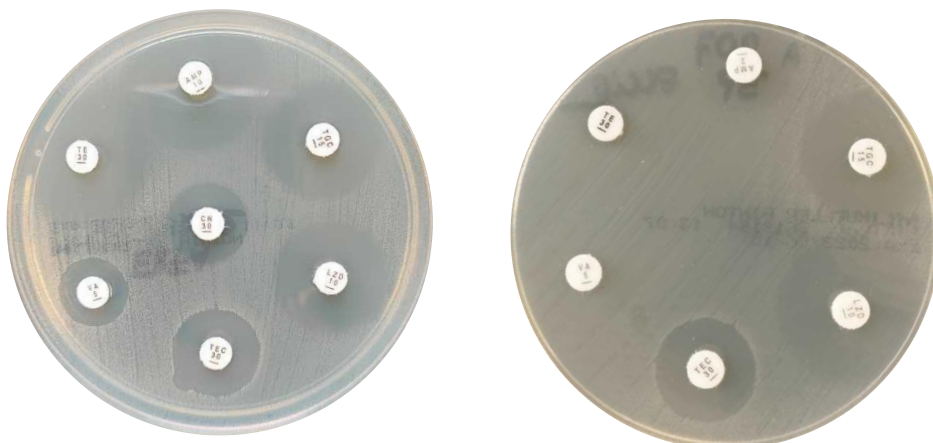
Disková difúzní metoda

Tato metoda se provádí přípravou suspenze z čistého bakteriálního izolátu, který chceme testovat. Podle SOP (standardního operačního postupu) je zde nutno dodržet stanovenou hodnotu zákalu suspenze. V tomto případě jde o hodnotu 0,5 McFarlanda. Sterilním tampónem naočkujeme suspenzi na celý povrch agarové plotny. Při této metodě se nejvíce využívá půda Müller-Hintonova. Pomocí speciálních raznic narazíme sestavu papírových disků, napuštěných danou koncentrací testovaných antibiotik, na agar a necháme inkubovat 24 h při kultivační teplotě 37 °C. Po inkubaci se vytvoří inhibiční zóny, které následně lékař odečítá podle tabulek hraničních hodnot.

Výsledek:

- a) Testovaný kmen je rezistentní k antibiotiku: tzn., že antibiotikum, které difunduje z papírového disku do okolí, nezastaví růst bakterie a nevytvoří se tak zóna inhibice, nebo je menší než referenční rozmezí v tabulkách hraničních hodnot.
- b) Testovaný kmen je citlivý k antibiotiku: tzn., že antibiotikum, které difunduje z papírového disku do okolí, zastaví růst bakterie a dojde k vytvoření inhibiční zóny, která je stejná či větší než referenční rozmezí v tabulkách hraničních hodnot.

Obr. č. 11: Disková difúzní metoda použita u kmene *E. faecalis* (vlevo) a *E. faecium* (vpravo)



Zdroj: Ústav mikrobiologie FN Plzeň

Gradientový test

Tato kvantitativní metoda nám umožňuje určit vhodnou koncentraci ATB účinnou proti testovanému bakteriálnímu kmenu. Jedná se o určení minimální inhibiční koncentrace (MIC), což je taková koncentrace ATB, která je schopna zastavit bakteriální růst. Postup pro tuto metodu je víceméně stejný, jako u diskové difúzní metody, s tím rozdílem, že se zde využívá speciální proužek napuštěný vzrůstajícími koncentracemi ATB. Proužek je opatřen stupnicí, která umožňuje orientaci při zjišťování citlivosti.

Výsledek:

- Pokud je bakterie citlivá na antibiotikum, vytvoří se kolem proužku kapkovitá zóna inhibice. V místě, které protíná proužek, lékař odečítá danou MIC.

Obr. č. 12: Metoda gradientového testu u kmene *E. faecium* (vlevo – TEI C, vpravo – VAN R)



Zdroj: Ústav mikrobiologie FN Plzeň

3.3.2 Diluční metody

Tyto metody jsou pouze kvantitativní, tudíž slouží k určení minimální inhibiční koncentrace (MIC). Jsou mnohem více přesné než metody difúzní.

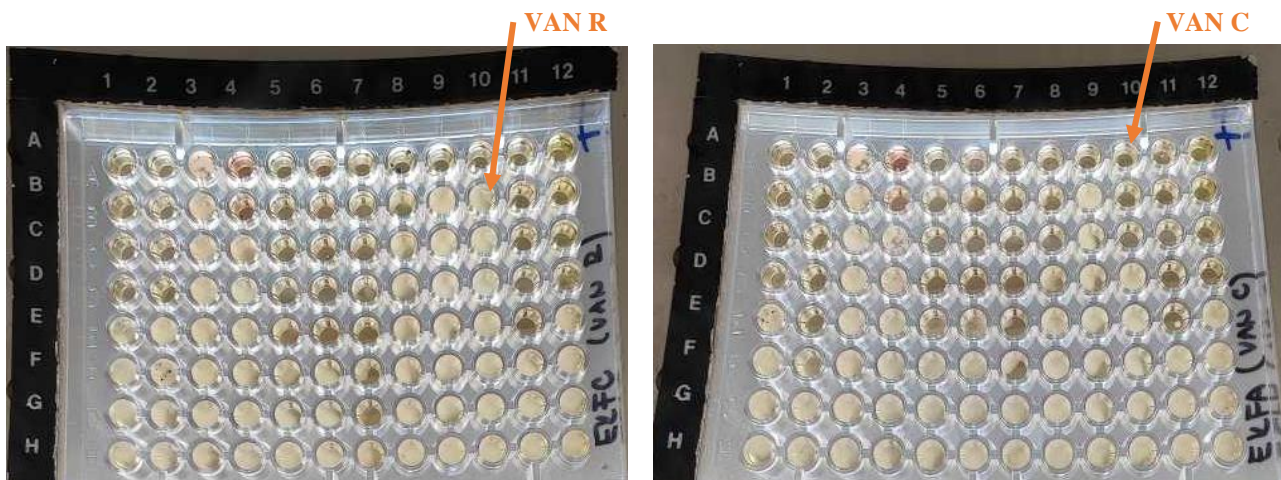
Stanovení MIC

Pro tuto metodu se využívá speciální destička, která obsahuje 96 jamek. V jamkách jsou již komerčně naředěná antibiotika geometrickou řadou. Vodorovné řady jsou označeny čísly 1-12, jenž udávají počet zkoumaných druhů antibiotik. Svislé sloupce jsou označeny písmeny A-H, a ta udávají postupné naředění antibiotika. Tedy A-nejméně naředěné a H-nejvíce naředěné. Do každé jamky mikrotitrační destičky se přidá určité množství tekutého bujónu, který zde nahrazuje tuhou kultivační půdu (agar). Tak, jako ve výše zmíněných metodách, se i zde připraví suspenze z čistého bakteriálního izolátu, který je třeba testovat. Suspenze se naočkuje do jamek a destička se nechá kultivovat 24 h při 37 °C.

Výsledek:

- Pokud je zkoumaný bakteriální kmen rezistentní k antibiotiku, v jamce dojde k vytvoření zákalu. Pokud se testovaný kmen projeví jako citlivý k ATB, jamka zůstane čirá, bez zákalu. V takové jamce dochází k zastavení bakteriálního růstu a je hodnocena jako minimální inhibiční koncentrace (MIC).

Obr. č. 13: Stanovení MIC u kmene *E. faecium* (vlevo – VAN R) a *E. faecalis* (vpravo – VAN C)



Zdroj: Ústav mikrobiologie FN Plzeň

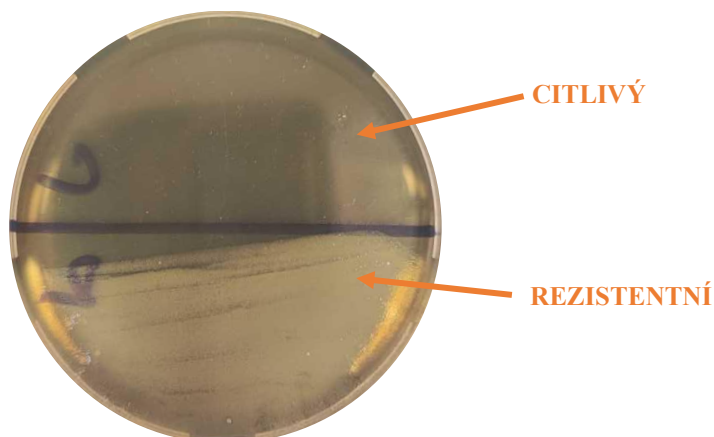
Agarová metoda pro screening

Agarová metoda pro screening se využívá pro cílený screening vankomycinové rezistence. Zde se jedná o výjimku a jde o kvalitativní metodu, která většinou slouží pro potvrzení rezistence. Agar v této kultivační půdě obsahuje určitou koncentraci vankomycinu, která po kultivaci umožňuje případnou rezistenci odhalit. Suspenze z čistého bakteriálního izolátu se sterilním tamponem nanese na povrch agarů a nechá se kultivovat 24 h při 37 °C.

Výsledek:

- Rezistence k vankomycinu se projeví nárůstem kolonií zkoumaného bakteriálního kmene na agaru. V případě citlivosti kolonie kmene zkoumané bakterie nenarostou vůbec.

Obrázek č. 14: Porovnání vankomycin citlivého (C) kmene a kmene rezistentního (R) k vankomycinu u diluční agarové metody



Zdroj: Ústav mikrobiologie FN Plzeň

3.4 Klinický význam VRE

Enterokoky se řadí mezi oportunní patogeny s nízkou virulencí, o čemž svědčí fakt, že jsou fyziologicky přítomny v trávicím traktu lidí i zvířat. Avšak pokud dojde k jejich přemnožení, způsobují převážně nozokomiální nákazy u dlouhodobě hospitalizovaných pacientů, kteří mají sníženou funkci imunitního systému a jsou léčeni širokospektrými antibiotiky. Tuto skutečnost komplikuje právě rezistence k antibiotikům. Selektce a šíření VRE probíhá mezi imunosuprimovanými pacienty, přičemž největší podíl na šíření těchto infekčních agens mají podle všeho ruce nemocničního personálu. Jejich výskyt je variabilní mezi jednotlivými pracovišti a je úzce spjat s masivním nadužíváním antibiotik (46).

Doporučuje se provádět aktivní vyhledávání VRE ve stolici, exsudátech a moči u těžce nemocných pacientů. Pacienty s rezistentními enterokoky je nutno izolovat, aby se

předešlo nozokomiálnímu šíření těchto kmenů, jelikož infekce způsobené VRE jsou zatíženy nejen mortalitou pacientů, ale i vysokými náklady na léčbu (46).

3.5 Nozokomiální infekce způsobené VRE

V posledních letech se nozokomiální infekce způsobené VRE staly velkým a závažným problémem. Tyto infekce jsou velice rozšířené zejména v nemocnicích na jednotkách intenzivní péče. Jejich přítomnost se viditelně zvyšuje při výskytu základních rizikových faktorů, kterými jsou diabetes, renální dysfunkce, neutropenie, užívání širokospektrých antibiotik (zejména cefalosporinů a vankomycinu) nebo pobyt v přítomnosti jiného pacienta, který byl kolonizován nebo infikován VRE (47). Nozokomiální infekce způsobené enterokoky rezistentními na antibiotika jsou spojovány s vyšší úrovní morbidit, mortality a většími náklady na péči, ve srovnání s nozokomiálními infekcemi způsobené enterokoky citlivými na antimikrobiální látky (48).

3.5.1 VRE endemitem nemocnic

Vankomycin rezistentní enterokok se velmi lehce může stát endemickým mikroblem ve zdravotnickém zařízení prostřednictvím několika kroků. Vhodné prostředí, ve kterém se mohou objevit a rozmnožit rezistentní kmeny, vytváří užívání širokospektrých antibiotik. Takový mikroorganismus pak můžeme nalézt u pacienta přijatého do nemocnice, který v okamžiku kolonizace nebo infekce rezistentním kmenem může snadno kontaminovat jiného pacienta nebo nemocniční prostředí. Tento řetězec kontaminace pak pokračuje u zdravotnického personálu, který se infikuje dotykem samotného pacienta nebo předmětů v pacientově okolí. Nejčastěji pak dochází k přenosu VRE mezi pacienty kontaminovanými rukama, oděvem a vybavením zdravotnických pracovníků. Pacienti jsou pak vystaveni zvýšenému riziku rozvoje infekce, pokud dojde k jejich kolonizaci VRE (48). Proto je třeba aktivně vyhledávat rezistentní kmeny a dbát zvýšené opatrnosti a hygieny při manipulaci s pacienty infikovanými a kolonizovanými těmito mikroorganismy.

3.5.2 Infekce močových cest

Enterokoky zapříčiňují vznik nekomplikovaných i komplikovaných infekcí močových cest. Některé druhy enterokoků mají totiž schopnost vytvářet biofilmy. Biofilm je struktura tvořená bakteriemi, jenž slouží k jejich ochraně, komunikaci a přilnutí k povrchu. Tyto struktury snadno a pevně přilnou k biotickým i abiotickým povrchům a jsou obtížně odstranitelné. Nejčastěji se jedná o povrchy močových katétrů. Enterokokové biofilmy, které se na močových katétrech tvoří, jsou velice odolné proti síle močení, imunitní reakci, a dokonce i vůči antibiotikům. Tato skutečnost pak vede k rozvoji chronických infekcí (47).

3.5.3 Bakteriémie

Infekce krevního řečiště způsobuje mnoho gram pozitivních bakterií a jedno z míst zaujímají právě enterokoky. Mezi nejčastější rizikové faktory rozvoje bakteriémie patří například kolonizace střev, dlouhodobé užívání ATB, transplantace kostní dřeně, výše zmíněné zavedené močové katétry nebo parenterální výživa. U bakteriémie, jenž je způsobena vankomycin rezistentními enterokoky, je vyšší pravděpodobnost mortality vlivem značné míry rezistence na antimikrobiální látky (47).

3.5.4 Infekční endokarditida

Enterokoky zaujímají druhou příčku v seznamu bakterií, které způsobují infekční endokarditidu. Zdrojem zánětu endokardu, který je způsoben vankomycin rezistentním *E. faecalis*, může být infekce genitourinárního nebo gastrointestinálního traktu, transplantace jater nebo infekce poškozené aortální či mitrální chlopně, kdežto infekční endokarditida způsobená vankomycin rezistentním *E. faecium* je propojena s infekcí trikuspidální chlopně. Mezi nejčastější stigmata tohoto onemocnění patří například horečka nebo srdeční šelest, mezi méně časté se řadí třeba Oslerovy skvrny nebo petechie. Toto onemocnění postihuje častěji muže než ženy a vykytuje se převážně u starších osob. Při současných medicínských postupech zaujímá mortalita enterokokové endokarditidy zhruba 20 % (47).

3.5.5 Nitrobřišní a pánevní infekce

Mezi běžné infekce v těchto tělních oblastech patří zejména abscesy, rány nebo zánět pobřišnice (jinak také peritonitida). Tyto infekce bývají často polymikrobiální, to znamená, že jsou přítomny i jiné bakterie než enterokoky. Zejména se jedná o gramnegativní a anaerobní kmeny bakterií. Kmeny, které tyto oblasti infikují, obvykle pochází ze střevní mikroflóry pacienta. U pacientů, kteří podstupují chronickou peritoneální dialýzu nebo u pacientů s cirhózou jater, jsou enterokoky schopny vyvolat monomikrobiální infekci (47).

3.5.6 Kolonizace GIT

Infekce, které jsou způsobeny enterokoky, a které souvisejí s gastrointestinálním traktem, jsou oportunní infekce. Vyskytují se nejčastěji při kolorektálních operacích a kolorektálním karcinomu. Pacient může být osídlen VRE bez příznaků, avšak pokud dojde k narušení střevní mikroflóry antibiotiky, může vést kolonizace rezistentními enterokoky k bakteriémii (47).

U lidí existují proteiny Reg, které jsou součástí lektinů typu C. Poprvé byly objeveny v regenerujících se ostrůvcích, a proto se o nich mluví jako o regenerujících proteinech odvozených z ostrůvků. Členové rodiny Reg byli rozděleni do čtyř podtypů (I, II, III a IV).

Protein Reg3 má silný baktericidní účinek na grampozitivní bakterie, a proto hraje klíčovou roli v imunitní odpovědi vyvolané střevními patogeny. Je vylučován v tenkém střevě Panethovými buňkami, které se specializují na obranu střeva před mikroby (49). Léčba antibiotiky výrazně snižuje řízení Reg3, a proto se zvyšuje riziko rozvoje infekce rezistentními kmeny. Pro tyto situace však byly navrženy terapeutické postupy k zabránění kolonizace střev rezistentními enterokoky. Jejich provedení spočívá v zavedení probiotických *E. faecalis*, které jsou feromonem zvaným cOB1 aktivované k zabíjení *E. faecalis* rezistentních na ATB. Reaktivace proteinu Reg3 je zajištěna zavedením obligátně anaerobních komenzálních bakterií rodu *Barnesiella*, které zabráňují osídlení střevního traktu *E. faecium* a následné bakteriémií (47).

3.5.7 Infekce CNS

Infekce cévní nervové soustavy způsobené VRE se objevují jen zřídka, ale postihují zejména starší pacienty, kteří mají základní zdravotní problémy, jako jsou například malignity v oblasti CNS nebo plicní a srdeční komplikace. Z velké části jsou tyto infekce způsobené VR *E. faecium* méně často pak VR *E. faecalis*. Mezi symptomy těchto infekcí můžeme zařadit horečku, psychickou dezorientaci, ložiskový deficit CNS a petechiální vyrážku. Při vyšetření mozkomíšního moku se ukazuje pleocytóza, což je zvýšený počet celulárních elementů, nízká hladina glukózy a zvýšená hladina bílkovin (47).

3.5.8 Infekce kůže a kožní struktury (SSSI)

V tomto případě se jedná o polymikrobiální infekce, kterých jsou enterokoky součástí, tudíž zde nehrají patogenní roli. Obvykle jsou enterokoky izolovány z dekubitů a diabetických vředů na noze. Velmi zřídka způsobují osteomyelitidu, septickou artritidu nebo abscesy měkkých tkání (49).

PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL A ÚKOL PRÁCE

4.1 Hlavní cíl

Hlavním cílem mé bakalářské práce bylo statistické retrospektivní zpracování výskytu vankomycin rezistentních enterokoků v klinickém materiálu ve Fakultní nemocnici Plzeň v letech 2013 až 2023.

4.2 Dílčí cíle

1. Seznámit se s problematikou výskytu a nárůstu vankomycin rezistentních enterokoků.
2. Seznámit se s diagnostickými metodami pro detekci vankomycin rezistentních enterokoků.
3. Vypracovat statistické šetření výskytu vankomycin rezistentních enterokoků v klinickém materiálu ve Fakultní nemocnici Plzeň v letech 2013 až 2023.

5 VÝZKUMNÉ OTÁZKY

Pro zpracování této bakalářské práce byly stanoveny tyto výzkumné otázky:

Výzkumná otázka 1: Došlo k výraznému nárůstu vankomycin rezistentních enterokoků za sledované období?

Výzkumná otázka 2: Jaké je zastoupení rezistence k vankomycinu ve Fakultní nemocnici Plzeň ve srovnání s Českou republikou?

Výzkumná otázka 3: Jaké je zastoupení rezistence k vankomycinu v České republice ve srovnání s Evropou?

Výzkumná otázka 4: Jsou vankomycin rezistentní enterokoky výhradně problémem hematologických pacientů?

Výzkumná otázka 5: Jaké je zastoupení rezistentních kmenů *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* v invazivních izolátech ve Fakultní nemocnici Plzeň?

6 METODIKA PRÁCE

Do statistiky byly zařazeny kmeny *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* izolované z hemokultur. Byl sledován vývoj VRE od pacientů z celé Fakultní nemocnice Plzeň za období 2013-2023. U těchto kmenů byly hodnoceny výsledky citlivosti provedené diskovou difúzní metodou a mikrodiluční metodou. Od každého pacienta byl analyzován 1 izolát za 3 měsíce (za 1 kvartál), z důvodu vyvarování opakujícím se izolátům. Pro statistické zpracování byla použita data z laboratorního informačního systému (LIS), která byla následně vyhodnocena a zpracována.

V roce 2023 bylo dokumentováno 151 pacientů s vankomycin rezistentními kmeny *Enterococcus faecium*, přičemž procentuální zastoupení hemokultur s těmito rezistentními kmeny tvoří 5,3 %.

Veškeré údaje z laboratorního informačního systému byly zpracovány se souhlasem Útvaru náměstkyně pro ošetrovatelskou péči Fakultní nemocnice Plzeň.

7 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zde jsou zahrnuty veškeré výsledky ze statistického zpracování dat výskytu vankomycin rezistentních enterokoků ve Fakultní nemocnici Plzeň za období 2013-2023.

V letech 2013-2023 bylo ve FN Plzeň vyšetřeno celkem 556 kmenů *Enterococcus faecalis* a 432 kmenů *Enterococcus faecium* z hemokultur, tedy kmeny z invazivních infekcí. U všech těchto kmenů byla vyšetřena citlivost k antibiotikům diskovou difúzní metodou a mikrodiluční kvantitaivní metodou.

Práce je zaměřena na enterokoky rezistentní k vankomycinu. Výsledky citlivosti k ostatním antibiotikům (ampicilin, linezolid, gentamicin) nebyly předmětem sledování. Rovněž není hodnoceno zastoupení věkových skupin ani počty mužů a žen.

Za zmínku stojí vyšší počty enterokoků izolovaných z hemokultur v roce 2021, a to jak u kmene *E. faecium*, tak u kmene *E. faecalis*.

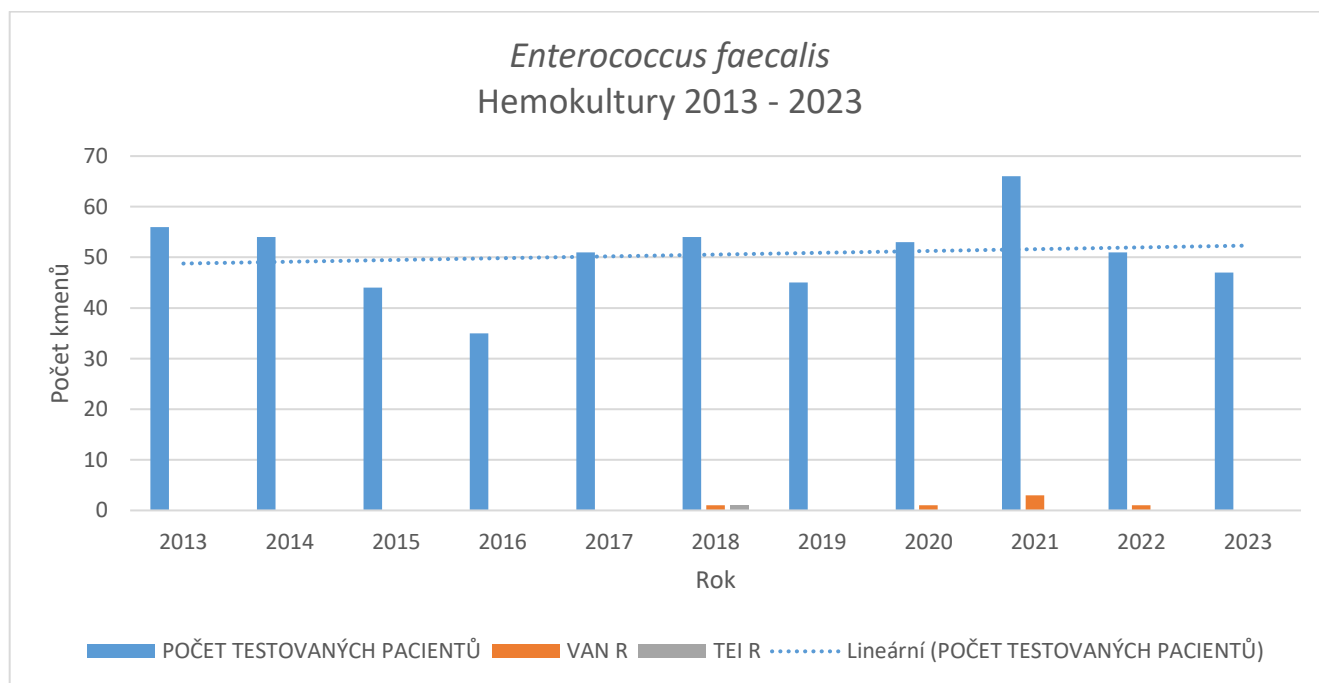
7.1 *Enterococcus faecalis*

Tabulka 1: Celkový počet testovaných (a z toho rezistentních) izolátů kmene *E. faecalis* v letech 2013-2023

<i>Enterococcus faecalis</i> z hemokultur			
ROK	POČET TESTOVANÝCH PACIENTŮ	VAN R	TEI R
2013	56	0	0
2014	54	0	0
2015	44	0	0
2016	35	0	0
2017	51	0	0
2018	54	1	1
2019	45	0	0
2020	53	1	0
2021	66	3	0
2022	51	1	0
2023	47	0	0

Zdroj: Vlastní zpracování dat z LIS FN Plzeň

Graf 1: Celkový počet testovaných (a z toho rezistentních) izolátů kmene *E. faecalis* v letech 2013-2023



Zdroj: Vlastní zpracování dat z LIS FN Plzeň

Kmeny *E. faecalis* vykazovaly dobrou citlivost k testovaným antibiotikům a rezistence k vankomycinu byla ojedinělá. Pouze v roce 2021 jsme zaznamenali 3 kmeny VRE, tj. 4,5 % z celkového počtu izolátů. Citlivost k teikoplaninu byla u nich zachovaná. Rezistenci k teikoplaninu jsme zaznamenali jen 1x (typ VAN A). V ostatních letech byla rezistence k vankomycinu prakticky nulová. Kmeny byly izolovány převážně u pacientů přijatých s infekcemi komunitního původu (infekce močových cest – urosepse, endokarditidy, infekce žlučových cest apod.).

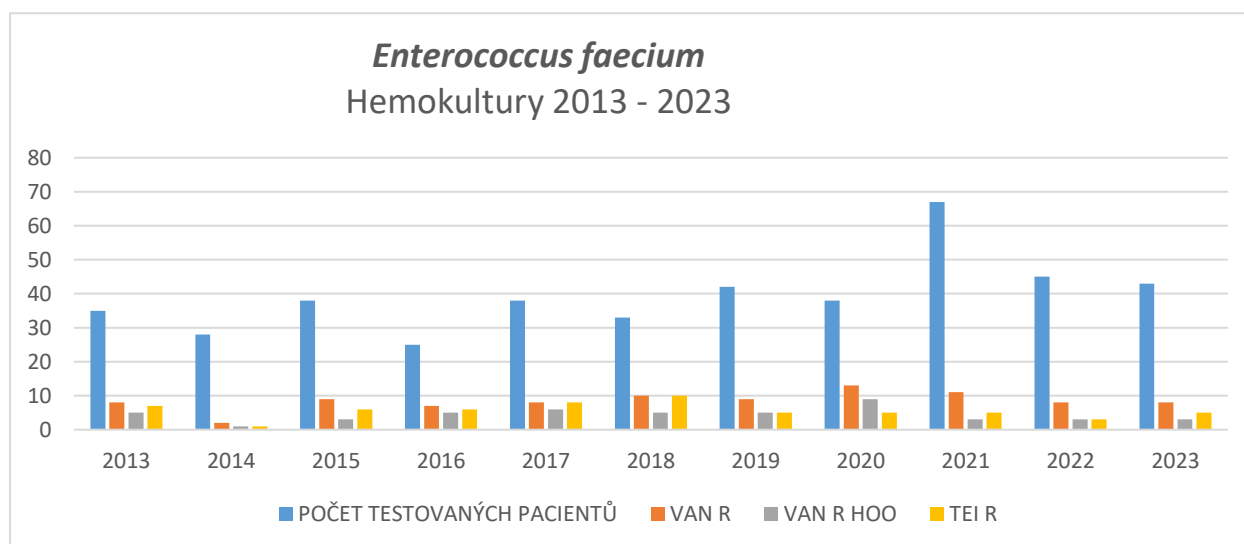
7.2 *Enterococcus faecium*

Tabulka 2: Celkový počet testovaných (a z toho rezistentních) izolátů kmene *E. faecium* v letech 2013-2023

<i>Enterococcus faecium</i> z hemokultur				
ROK	POČET TESTOVANÝCH PACIENTŮ	VAN R	VAN R HOO	TEI R
2013	35	8	5	7
2014	28	2	1	1
2015	38	9	3	6
2016	25	7	5	6
2017	38	8	6	8
2018	33	10	5	10
2019	42	9	5	5
2020	38	13	9	5
2021	67	11	3	5
2022	45	8	3	3
2023	43	8	3	5

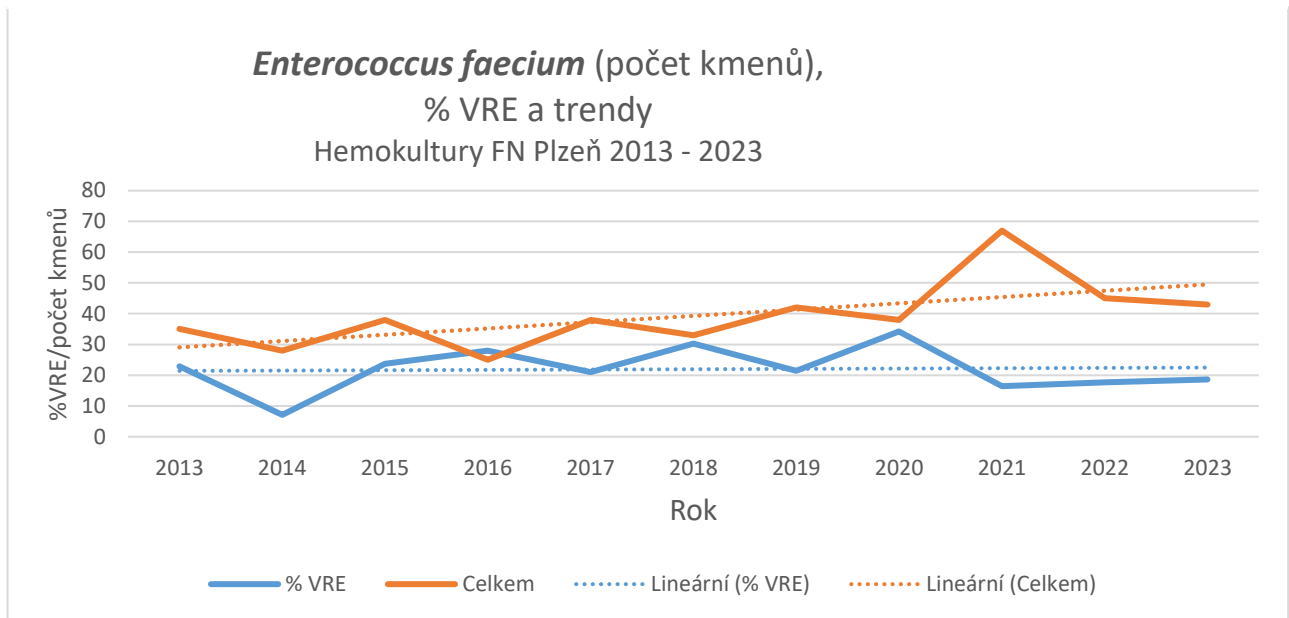
Zdroj: Vlastní zpracování dat z LIS FN Plzeň

Graf 2: Celkový počet testovaných (a z toho rezistentních) izolátů kmene *E. faecium* v letech 2013-2023



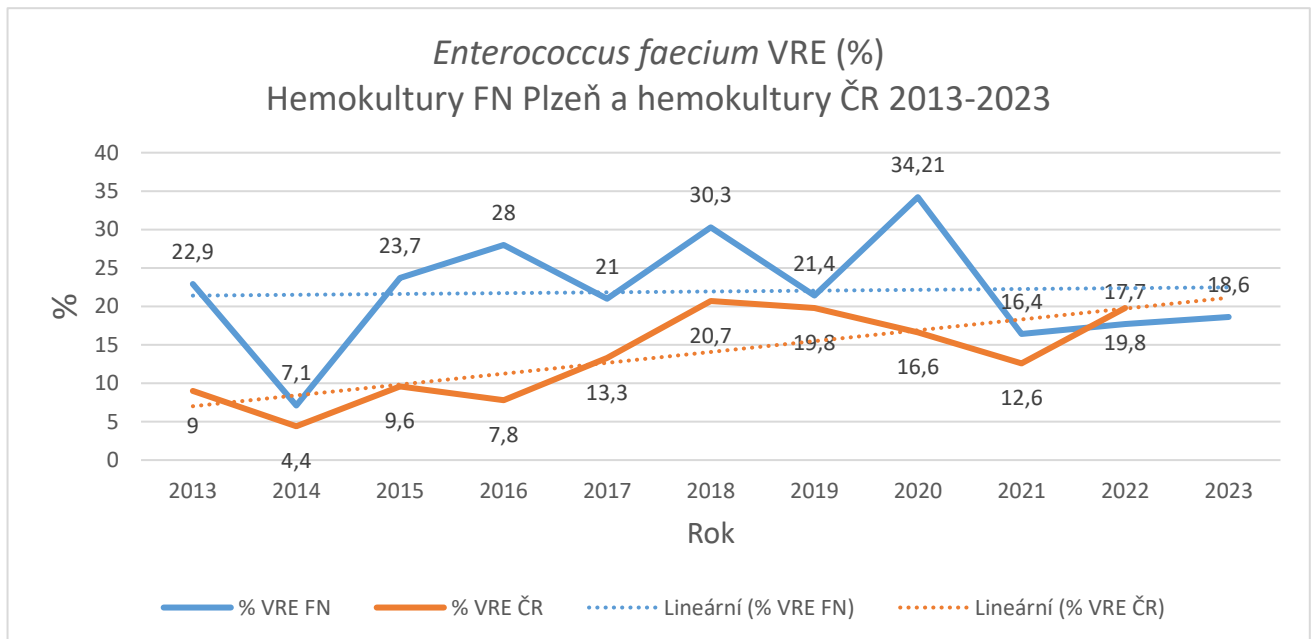
Zdroj: Vlastní zpracování dat z LIS FN Plzeň

Graf 3: Procentuální zastoupení VRE z celkového počtu izolátů v letech 2013-2023



Zdroj: Vlastní zpracování dat z LIS FN Plzeň

Graf 4: Procentuální zastoupení VRE v hemokulturách ve FN Plzeň a v ČR v letech 2013-2023



Zdroj: Vlastní zpracování dat z LIS FN Plzeň a EARS-Net

Kmeny *E. faecium* byly významně rezistentnější, a to již od roku 2013, kdy jsme zaznamenali 22 % VRE a s maximem v roce 2020 s 34 %. Většina kmenů vykazovala i rezistenci k teikoplaninu (typ VAN A). Kmeny *E. faecium* byly izolovány u hospitalizovaných pacientů jako původci nozokomiálních infekcí a na VRE měly významný podíl izoláty od hematoonkologicky (HOO) nemocných (viz **Tabulka 2**). Z ostatních oborů se jednalo převážně o chirurgicky nebo gastroenterologicky nemocné.

Zaznamenali jsme vzestupný trend v celkovém počtu izolovaných kmenů *E. faecium* z krve, zatímco trend v % VRE je v současné době nevýrazný.

DISKUZE

Cílem této bakalářské práce bylo věnovat pozornost problematice spojené s výskytem rezistence k vankomycinu u kmenů *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* ve Fakultní nemocnici Plzeň a statisticky zpracovat nashromážděná data za období 2013-2023.

Výskyt vankomycin rezistentních enterokoků je globálním problémem, kterému je nutno věnovat pozornost a dodržovat správné hygienické opatření. Rezistentní kmeny enterokoků jsou častými patogeny ve zdravotnických zařízeních, a to zejména na lůžkových odděleních či chirurgických sálech, způsobující nozokomiální infekce. Hlavní příčinou přenosu těchto oportunních patogenů bývá nedostatečné dodržení hygienických opatření a dále nadužívání antibiotik, proti kterým si pak bakterie tvoří rezistence, dokonce jsou pak i schopny mezidruhového předání genetické informace o rezistenci. Jelikož se VRE řadí mezi oportunní patogeny, znamená to, že může dojít ke kolonizaci, ale ne k rozvinutí infekce. Tento kolonizovaný jedinec, tedy nosič, může tyto patogeny dále předávat jiným jedincům, u kterých se infekce může projevit.

Studie z roku 2019 poukazuje na trendy výskytu VRE ve čtyřech vybraných nemocnicích v České republice v letech 2016-2018. Zde byly hodnoceny klinické izoláty z různých anatomických lokalit. Souhrnně bylo prokázáno celkem 220 případů VRE ve sledovaném období, přičemž v jedné nemocnici bylo zjištěno v roce 2016 7 izolátů s pozitivním nálezem VRE v klinických vzorcích a v roce 2018 už se jednalo o 47 nových případů VRE. Studie také zmiňuje, že nejčastěji se první nálezy vankomycin rezistentních enterokoků objevují ve vzorcích z drenáží, ran a v moči. Méně často pak ve vzorcích z dýchacích cest a vzácně ve vzorcích z gastrointestinálního traktu (mimo stolice), ve výpotcích, punktátech a nejméně v krvi. (50)

Podle dat o vankomycin rezistentních enterokokích z EARS-Net od okolních středoevropských zemí můžeme říci, že situace v rezistenci je podobná, nebo dokonce i horší než v České republice. Zejména v sousedních státech byl prokázán nejvyšší nárůst VRE v Polsku a na Slovensku. Německo a Česká republika se drží v pomyslném středu a ze všech sousedních států se vyjímá Rakousko, kde je výskyt VRE prozatím pouze sporadický (51).

Tato bakalářská práce byla zaměřena na výskyt VRE v krvi, tedy v hemokulturách. Jak bylo výše zmíněno, v krvi se vankomycin rezistentní enterokoky vyskytují prokazatelně méně často než v ostatních klinických izolátech. Mnohem více invazivní a čteněji rezistentní

z obou sledovaných druhů je *Enterococcus faecium*. Po statistickém zpracování dat za sledované období a vyhodnocení výsledků můžeme říci, že Fakultní nemocnice Plzeň se pohybuje spíše na horní hranici výskytu rezistence. Rezistence je také ovlivněna hematoonkologickými pacienty, kteří jsou ve vysokém riziku enterokokové infekce z důvodu imunosuprese a antibiotické terapie. Podle EARS-Net je na tom FN Plzeň s výskytem rezistence hůře než průměr České republiky.

Pro tuto bakalářskou práci byly stanoveny následující výzkumné otázky, které byly popsány v kapitole 3 a 7 pomocí grafických znázornění:

1. Došlo k výraznému nárůstu vankomycin rezistentních enterokoků za sledované období?

Z **Grafu 1 a 2** je vidět, že k výraznému nárůstu za sledované období nedošlo. U *Enterococcus faecalis* je výskyt rezistentního kmene úplně zanedbatelný. Faktem je, že již na počátku sledovaného období, tedy v roce 2013, byl počet rezistentních enterokoků u *Enterococcus faecium* poměrně vysoký a výskyt VRE se v průběhu let výrazně nezměnil. K patrnému nárůstu došlo u celkového počtu testovaných pacientů u obou kmenů, a to v roce 2021.

2. Jaké je zastoupení rezistence k vankomycinu ve Fakultní nemocnici Plzeň ve srovnání s Českou republikou?

Z **Grafu 4** vyplývá, že ve Fakultní nemocnici Plzeň je výskyt VRE o poznání vyšší, než je průměr České republiky podle dat z EARS-Net. Bohužel nemáme údaje z roku 2023 co se týče zastoupení rezistence v ČR, jelikož EARS-Net zpřístupňuje výsledky zpětně. Data za rok 2023 tedy budou dostupné na konci roku 2024.

3. Jaké je zastoupení rezistence k vankomycinu v České republice ve srovnání s Evropou?

Obrázek č. 6 ukazuje zastoupení rezistentního druhu *Enterococcus faecalis*, kde je patrné, že jeho výskyt je opět jak v České republice, tak v celé střední Evropě téměř zanedbatelný, až na Lotyšsko, které se pohybuje v procentuálním zastoupení od 10 do 25 %. **Obrázek č. 9** ukazuje zastoupení rezistentního druhu *Enterococcus faecium* a zde už je vidět o mnoho větší nárůst rezistence u většiny států. Česká republika se se zastoupením tohoto rezistentního druhu drží někde uprostřed. Nejsme na tom nejlépe, ale ani nijak závažně špatně. Za zmínku stojí výskyt rezistentního druhu *E. faecium* v Litvě, jelikož tam se procenta rezistence pohybují v enormních hodnotách, a to od 50 do 75 %.

4. Jsou vankomycin rezistentní enterokoky výhradně problémem hematoonkologických pacientů?

Jak ukazuje **Tabulka 2**, vankomycin rezistentní enterokoky nejsou již výhradně problémem jen hematoonkologických pacientů. Nacházíme je i u pacientů interních a chirurgických oddělení. Nicméně hematoonkologičtí pacienti mají na rezistenci invazivních izolátů výrazný podíl v souvislosti s vyšším rizikem v důsledku imunoprese a širokospektré ATB terapie.

5. Jaké je zastoupení rezistentních kmenů *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* v invazivních izolátech ve Fakultní nemocnici Plzeň?

Z **Tabulky 1** vyplývá opravdu nízký výskyt vankomycin rezistentních kmenů u *E. faecalis* v invazivních izolátech. Nejvyšší počet rezistentních izolátů byl v roce 2021, kdy byly zaevidovány 3 pozitivní výsledky rezistence k vankomycinu u *E. faecalis* v hemokulturách. V roce 2023 nebyly evidovány pozitivní výsledky u tohoto druhu.

Tabulka 2 ukazuje výskyt vankomycin rezistentních kmenů druhu *E. faecium*, kdy je zřetelný rozdíl v počtu rezistentních izolátů oproti druhu *E. faecalis*. Nejvyšší počet evidovaných rezistentních izolátů byl v roce 2020, přičemž za zmínku stojí již vysoký počet v roce 2013. V roce 2021 byl evidován výrazný nárůst počtu testovaných izolátů druhu *E. faecium*, ale s nižším zastoupením VRE. Po srovnání výsledků rezistencí u obou bakteriálních kmenů lze prokazatelně říci, že *Enterococcus faecium* je v hemokulturách zastoupen viditelně více než *Enterococcus faecalis*.

ZÁVĚR

Rezistence na antimikrobiální látky je opravdovým a globálním problémem, který je nutné řešit. Je potřeba rozšířit povědomí o rezistenci mezi veškerý zdravotnický personál a dodržovat hygienická preventivní opatření, která zaujímají významné postavení v boji proti rezistenci, jelikož mají podíl na snižování či zabránění procesu šíření a přenosu rezistentních kmenů. Současně je třeba dbát na rozumné používání antibiotik.

Za sledované období od roku 2013 do roku 2023 bylo ve Fakultní nemocnici Plzeň vyšetřeno celkem 556 kmenů *Enterococcus faecalis*, přičemž bylo odhaleno 6 izolátů rezistentních na vankomycin. Dále bylo vyšetřeno 432 kmenů *Enterococcus faecium* a z toho 93 izolátů bylo pozitivně testováno na rezistenci k vankomycinu, přičemž z těchto 93 izolátů bylo 48 rezistentních izolátů od hematoonkologických pacientů. Ze statistického zpracování je patrné, že rezistence se výrazně častěji objevuje u *Enterococcus faecium* a hematoonkologičtí pacienti mají na rezistenci velký podíl.

Závěrem můžeme podotknout, že tato bakalářská práce upozornila a poukázala na nebezpečí rezistence na antimikrobiální léčiva. Každé předepsání antibiotických látek by se mělo předem pečlivě zvážit a dostatečně prokonzultovat s odborníky, poněvadž pokud se na rezistenci nebude brát dostatečný zřetel, lze předpokládat, že počet rezistentních kmenů bude stále více přibývat a rychlost vývoje nových antimikrobiálních látek ani zdaleka nedosahuje rychlosti nárůstu rezistentních kmenů.

SEZNAM LITERATURY

1. **Thiercelin ME, Jouhaud L.** Sur un diplococque saprophyte de l'intestin susceptible de devenir pathogene. *CR Soc. Biol.* 1899, 5, stránky 269-271.
2. **Thiercelin M.E., Jouhaud L.** Reprodrukce de l'entérocoque; taches centrales; granulace peripheriques et microblastes. *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et de ses Filiales.* 1903, 55, stránky 686-688.
3. **Adrewes FW, Horder TJ.** A study of the streptococci pathogenic for man. *Lancet.* 1906, Sv. 168, stránky 852-855.
4. **Orla-Jensen, Sigurd.** The lactic acid bacteria. *Memoirs of the Academy of the Royal Society of Denmark.* 1919, Sv. 85, stránky 81-197.
5. **Sherman JM, Wing HU.** An unnoted hemolytic Streptococcus associated with milk products. *Journal of Dairy Science.* 1935, Sv. 18, 10, stránky 657-660.
6. **Sherman JM.** The streptococci. *Bacteriological Reviews.* 1937, Sv. 1, stránky 3-97.
7. **Barnes EM.** Tetrazolium reduction as a means of differentiating Streptococcus faecalis from Streptococcus faecium. *Journal of General Microbiology.* 1956, Sv. 14, 1, stránky 57-68.
8. **Breed, R. S., Murray, E. G., & Smith, N. R.** *Bergey's manual of determinative bacteriology.* Baltimore : The Williams and Wilkins Company., 1957, Sv. 7.
9. **Deibel RH.** The group D streptococci. *Bacteriological Reviews.* 1964, Sv. 28, 3, stránky 330-366.
10. **Graudal H.** The classification of motile streptococci within the enterococcus group. *Acta Pathologica Microbiota Scandinavica.* 1957, Sv. 41, stránky 403-410.
11. **Mundt JO.** Enterococci. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Baltimore : Williams & Wilkins Company, 1986, stránky 1063-1065.
12. **Nowlan SS., Deibel RH.** Group Q streptococci. I. Ecology., serology, physiology, and relationship to established enterococci. *Journal of Bacteriology.* 1967, Sv. 94, stránky 291-296.

13. **Kalina AP.** The position of enterococci in the system of microorganisms. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, I Immunobiologii.* 1970, Sv. 47, stránky 20-21.
14. **Schleifer KH., Kilpper-Balz R.** Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 1984, Sv. 34, stránky 31-34.
15. **Collins MD., Jones D., Farrow JA., Kilpper-Balz R., Schleifer KH.** *Enterococcus avium* nom. rev, comb. nov; *E. casseliflavus* nom. rev; *E. durans* nom. rev, comb. nov; *E. gallinarum* comb. nov; and *E. malodoratus* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Biology.* 1984, Sv. 34, stránky 220-223.
16. **Facklam, RR., Carvalho, MG., & Teixeira, LM.** *Enterococcus.* [autor knihy] D. B. Clewell, P. Courvalin, G. M. Dunny, B. E. Murray, & L. B. Rice M. S. Gilmore. *The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance.* Washington DC : ASM Press., 2002, stránky 1-54.
17. **Němec M, Matoulková D.** *Základy obecné mikrobiologie.* Brno : Masarykova univerzita, 2015. str. 255. ISBN 978-80-210-7923-6.
18. **Julák J.** *Úvod do lékařské bakteriologie.* Praha : Karolinum, 2006. ISBN 978-80-246-1270-6.
19. **Facklam RR., Sahn DF., Teixeira LM.** *Enterococcus.* [autor knihy] Baron EJ., Pfaller MA., Tenover FC., Tenover FC., Tenover RH. (eds.) Murray PR. *Manual of Clinical Microbiology.* Washington DC : ASM Press, 1999, stránky 197-305.
20. **Coyette J., Hancock LE.** *Enterococcal Cell Wall.* [autor knihy] Clewell DB., Courvalin P., Dunny GM., Murray BE., Rice LB. (eds.) Gilmore MS. *The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance.* Washington DC : ASM Press, 2002, stránky 177-218.
21. **Bednář M., Fraňková V., Schindler J., Souček A., Vávra J.** *Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie, virologie, parazitologie.* Praha : Marvil, 1996. ISBN 8023802976.
22. **Lebreton F., Willems RJL., Gilmore MS.** *Enterococcus Diversity, Origins in Nature, and Gut Colonization.* [autor knihy] M. S. Gilmore (Eds.) et. al. *Enterococci: From*

Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection. Boston : Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014, stránky 1-59.

23. **Votava M.** *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Brno : Neptun, 2010. ISBN 978-80-86850-04-7.

24. **Cookson BD., Macrae MB, et. al.** Guideline of the control of glycopeptide-resistant enterococci in hospitals. *Journal of Hospital Infections*. 2006, Sv. 62, stránky 6-21.

25. **Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N.** Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2003, Sv. 60, stránky 2622-2636.

26. **Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS.** Virulence of enterococci. *Clin. Microbiol. Rev.* 1994, Sv. 7, stránky 462-478.

27. **Huycke MM, Sahn DF, Gilmore SM.** Multiple-Drug Resistant Enterococci: The Nature of the Problem and an Agenda for the Future. *Emerging Infectious Diseases*. 1998, Sv. 2, stránky 239-249.

28. **Hynes WL., Walton SL.** Hyaluronidases of Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiology Letters*. 2000, Sv. 183, stránky 201-207.

29. **Cox CR., Coburn PS., Gilmore MS.** Enterococcal cytolysin: a novel two component peptide system that serves as a bacterial defense against eukaryotic and prokaryotic cells. *Current protein & peptide science*. 2005, Sv. 6, 1, stránky 77-84.

30. **Votava M.** *Kultivační půdy v lékařské mikrobiologii*. 1999. ISBN 80-238-5058-X.

31. **Dingle TC., Butler-Wu SM.** Maldi-tof mass spectrometry for microorganism identification. *Clinics in laboratory medicine*. 2013, Sv. 33, stránky 589-609.

32. **Štefan M.** *Antibiotika v klinické praxi*. 2019. ISBN 978-80-7492-397-5.

33. **Beneš J.** *Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití*. Praha : Grada Publishing, a.s., 2018. ISBN 978-80-271-0636-3.

34. —. *Vlastnosti a dávkování aminopenicilinových antibiotik*. [Online] 2009. Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanky/vlastnosti-a-davkovani/>.

35. **Štefánek J.** Antibiotika - charakteristika hlavních skupin ATB a jejich hlavní indikační priority. [Online] 2011. [Citace: 11. 2 2024.] Dostupné z: <https://www.stefajir.cz/terapie-07>.
36. **Eucast.** Amoxicilin: Rationale for the EUCAST clinical breakpoints. [Online] 2010. [Citace: 15. 1 2024.] Dostupné z: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Rationale_documents/Amoxicillin_rationale_Nov2010_v_1.0.pdf.
37. —. Linezolid: Rationale for the EUCAST clinical breakpoints. [Online] 2005. [Citace: 15. 1 2024.] Dostupné z: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Rationale_documents/Linezolidrationale1.0.pdf.
38. —. Tigecycline: Rationale for EUCAST Clinical Breakpoints. [Online] 2023. [Citace: 15. 1 2024.] Dostupné z: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Rationale_documents/Tigecycline_Rationale_Document_v3.0_20230404.pdf.
39. **Vojtová V., Urbánek K.,** Glycylcykliny – nová skupina antibiotik. [Online] 2008. [Citace: 11. 1 2024.] Dostupné z: <https://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2008/03/06.pdf>.
40. **Gonzales LS. 3rd, Spencer JP.** Aminoglycosides: a practical review. *American family physician.* 1998, Sv. 58, stránky 1811-1820.
41. **Eucast.** Gentamicin: Rationale for EUCAST Clinical Breakpoints. [Online] 2023. [Citace: 15. 1 2024.] Dostupné z: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Rationale_documents/Gentamicin_Rationale_Document_v_3.0_20240104.pdf.
42. **Hašek J.** Nové léčivé látky v magistraliter receptuře XVIII – gentamicin-sulfát. *Česká a slovenská farmacie.* 2012, Sv. 8, stránky 130-133.
43. **Vágnerová I., Kolář M.** Možnosti terapie infekcí způsobených vankomycin-rezistentními enterokoky. *Klinická farmakologie a farmacie.* 2003, Sv. 17, stránky 170-173.
44. **Devriese LA., Collins MD., Wirth R.** The Genus Enterococcus. [autor knihy] Trüper HG., Dworkin M., Harder W., Schleifer KH. Balows A. *The Prokaryotes: a Handbook on*

the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications. 1992, stránky 1465-1481.

45. **Schindler J.** *Mikrobiologie pro studenty zdravotnických oborů*. Praha : Grada Publishing, a.s., 2010. ISBN 978-80-247-3170-4.

46. **Šrámová H. a kol.** *Nozokomiální nákazy*. Praha : Maxdorf s.r.o., 2013. ISBN 978-80-7345-286-5.

47. **Bhardwaj, Sonia Bhonchal.** Enterokoky: důležitý nozokomiální patogen. [Online] 2019. [Citace: 14. 2 2024.] Dostupné z: <https://www.intechopen.com/chapters/70494>.

48. **Salgado, Cassandra D.** Riziko rozvoje infekce krevního řečiště *Enterococcus* rezistentní na vankomycin u kolonizovaných pacientů. [Online] 2008. [Citace: 24. 2 2024.] Dostupné z: [https://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553\(08\)00795-5/fulltext#%20](https://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553(08)00795-5/fulltext#%20).

49. **Shin JH., Seeley RJ.,** Reg3 Proteins as Gut Hormones? *Endocrinology*. 2019, Sv. 160, stránky 1506-1514.

50. **Kubele J., Hedlová D., Bareková L., Němcová D., Jindrák V.,** Zpráva o vzestupu výskytu enterokoků rezistentních k vankomycinu v nemocnicích. *Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie*. 2019, Sv. 28, stránky 364-369.

51. **EARS-Net.** Surveillance Atlas Of Infectious Diseases. [Online] 2024. [Citace: 23. 3 2024.] Dostupné z: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>.

SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha A – Povolení o sběru dat ve FN Plzeň

PŘÍLOHY

Příloha A – Povolení o sběru dat ve FN Plzeň



FAKULTNÍ NEMOCNICE PLZEŇ

Útvar náměstka pro vnější vztahy a spolupráci s LF

Edvarda Beneše 13, 305 99 Plzeň - Bory
Jatek Svobody 80, 304 66 Plzeň - Lochotín
IČO 20968806 tel.: 377 401 111, 377 163 111

Vážená paní

Veronika Lízalová

Studentka oboru Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví

Fakulta zdravotnických studií, Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Západočeská univerzita v Plzni

Povolení sběru informací ve FN Plzeň

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro vnější vztahy a spolupráci s LF Fakultní nemocnice Plzeň **uděluji souhlas** se sběrem a zpracováním anonymizovaných dat / výsledků laboratorních metod, používaných v Ústavu mikrobiologie (MIKRO) FN Plzeň. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „Trendy ve výskytu Vankomycin rezistentních enterokoků v klinickém materiálu ve Fakultní nemocnici v Plzni“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Vrchní zdravotní laborantka MIKRO souhlasí s Vaším postupem.
- Osobně povedete svoje šetření.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, ochrany dat pacientů a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb.,** o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, které budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe a pod přímým vedením oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je paní **Bergerová Tamara, MUDr., lékařka MIKRO FN Plzeň.**

Po zpracování Vámi zjištěných údajů poskytnete zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

Mgr. Bc. Světluše Chabrová

Manažerka pro vzdělávání nelékařů

Útvar náměstkyně pro vnější vztahy a spolupráci s LF

Fakultní nemocnice Plzeň

Edvarda Beneše 1128/13, 305 99 Plzeň

Tel: 377 401 663

E-mail: chabrovass@fnplzen.cz

18. 10. 2022