



MASARYKOVA UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE



Původci pneumonií

Diplomová práce

Kristýna Klajblová

Bibliografický záznam

Autor:	Bc. Kristýna Klajblová Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Ústav experimentální biologie
Název práce:	Původci pneumonií
Studijní program:	Biologie
Studijní obor:	Obecná biologie
Vedoucí práce:	MUDr. Lenka Černožorská, Ph.D.
Akademický rok:	2012
Počet stran:	83
Klíčová slova:	komunitní pneumonie, nozokomiální pneumonie, <i>Streptococcus pneumoniae</i> , enterobakterie, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , citlivost k antibiotikům

Bibliographic Entry

Author: Bc. Kristýna Klajblová
Faculty of Science, Masaryk University
Department of Experimental Biology

Title of Thesis: Bacterial agens causing pneumonia

Degree Programme: Biology

Field of Study: General Biology

Supervisor: MUDr. Lenka Černohorská, Ph.D.

Academic Year: 2012

Number of Pages: 83

Keywords: Community-acquired pneumonia, Hospital-acquired pneumonia, *Streptococcus pneumoniae*, Enterobakteria, *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic sensitivity

Abstrakt

Pneumonie je zánětlivé onemocnění plic, označované také jako zápal plic. Jedná se o velmi časté onemocnění, které může skončit i smrtí pacienta. Pneumonie postihuje osoby všech věkových kategorií, nejvíce jsou však ohroženy děti, lidé starší 60 let, jedinci s oslabenou funkcí imunitního systému a lidé vystavující se určitým rizikovým faktorům. Pneumonie je možné dělit dle několika kritérií. V současné době má největší význam dělení z epidemiologického hlediska na pneumonie komunitní, získané v běžném životním prostředí, a pneumonie nozokomiální, získané během pobytu ve zdravotnickém zařízení. Původcem infekční pneumonie může být celá řada mikroorganismů, čítající bakterie, viry, mykotické organismy i parazity. Jako typický původce komunitní pneumonie je uváděn *Streptococcus pneumoniae*. V případech nozokomiálních pneumonií to jsou nemocniční kmeny *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a zástupci enterobakterií. Cílem této práce je charakterizace mikroorganismů izolovaných z klinického materiálu, jejich identifikace a provedení testu citlivosti k příslušným antibiotikům.

Abstract

Pneumonia is defined as inflammation of lung tissue. It is a common and potentially lethal condition. Although the disease can occur in healthy adult people, it is the most severe for babies, people over 60 years of age, people with impaired immune system or people with certain risk factors. Pneumonia can be classified in several ways. Currently the most important classification of pneumonia is the epidemiological classification, dividing pneumonia to community-acquired pneumonia and nosocomial pneumonia. Community-acquired pneumonia (CAP) refers to pneumonia acquired outside of hospitals or extended-care facilities. Nosocomial pneumonia (hospital-acquired, HAP) is defined as pneumonia that occurs after hospital admission. Pneumonia can be caused by bacteria, viruses, fungi, or parasites. Typical bacterial pathogen that causes the CAP includes *Streptococcus pneumoniae*. The most common cause of the HAP are nosocomial strains of species *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* or representatives of the *Enterobacteriaceae* family. This diploma thesis focused on characterization of microorganism isolated from clinical materials, identification of these agents and antibiotic sensitivity testing.



Vysoká škola: Masarykova univerzita
Pracoviště: Ústav experimentální biologie

Fakulta: přírodovědecká
Akademický rok: 2009/2010



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Magisterský studijní program: Biologie

Studijní obor: Obecná biologie, zaměření Mikrobiologie

Student(ka): **Kristýna Klajblová**

Vedoucí diplomové práce Vám ve smyslu zákona vlády ČR č. 111/1998 Sb., čl. o státních závěrečných zkouškách a státních rigorózních zkouškách, určuje tuto diplomovou práci:

Název tématu: **Původci pneumonií**

Název tématu anglicky: **Bacterial agents causing pneumonia**

Vedoucí diplomové práce: MUDr. Lenka Černohorská, Ph.D.

Zásady pro vypracování

Anotace: V současné době se pneumonie dělí na nozokomiální a komunitní. Mají rozdílné původce. Cílem práce je zmapovat původce pneumonií ve FN u sv. Anny v Brně v ročním časovém horizontu, porovnat původce a jejich citlivosti, závislost na pohlaví či věku. V rámci záchytu se budou sbírat rozličné materiály pocházející z dýchacích cest pacientů jako je sputum, výtěr z krku, tracheální aspirát aj. Lze porovnat i výtěžnost z jednotlivých materiálů.

Časový harmonogram řešení (postup):

- 2009 - uvedení do problematiky, studium doporučené literatury
- 2009-2010 sběr vzorků, testování ATB citlivosti, sběr údajů o pacientech, diagnózách a jejich třídění.
- 2010 souběžné zpracování informací formou tabulek či grafů
- 2010 nařícení vhodných vzorků, práce se statistikou
- 2011 konečné zpracování práce do předepsané podoby

Rozsah diplomové práce: 50 stran

Rozsah grafických příloh: dle potřeby, max 20 obrázků

Doporučená literatura:

1. Práce prochází napříč bakteriálním spektrem, předpokládá se samostatná práce s literaturou a webovými zdroji
2. Hrabák J., Vaniš V., Bergerová T., Urbášková P.: Průkaz beta-laktamáz širokého spektra a typu AmpC u enterobakterií. Zprávy CEM, 2007, 16, 31-36.
3. Urbášková P.: Cokoliv týkající se ATB rezistence.
4. Votava M. a kol. Lékařská mikrobiologie speciální.

Datum zadání diplomové práce: 6.11.2009

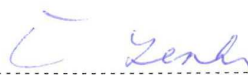
Termín odevzdání diplomové práce: 2011

Termín odevzdání diplomové práce dle harmonogramu příslušného akademického roku.

V Brně dne 6.11.2009.



podpis studenta



podpis vedoucího diplomové práce



ředitel ústavu

Poděkování

Ráda bych poděkovala MUDr. Lence Černohorské, Ph.D. za odborné vedení, vstřícnost a ochotu v průběhu vypracovávání této diplomové práce. Zároveň bych chtěla poděkovat zaměstnancům Mikrobiologického ústavu FN u sv. Anny v Brně za příjemné pracovní prostředí.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci vypracovala samostatně s využitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány.

Brno 15. května 2012

.....
jméno a příjmení

Obsah

1 ÚVOD	10
1.1 Pohled do historie	10
1.2 Definice zánětů plic	11
1.3 Klasifikace pneumonií.....	12
1.3.1 Hlediska dělení pneumonií	12
1.3.2 Komunitní pneumonie	13
1.3.3 Nozokomiální pneumonie.....	16
1.3.4 Pneumonie u imunokompromitovaných pacientů	18
1.3.5 Obranné mechanismy proti infekci.....	20
1.3.6 Patogeneze a patofyziologie pneumonie	23
1.3.7 Rizikové faktory	24
1.4 Přehled nejčastějších původců pneumonií.....	25
1.4.1 Bakterie.....	25
1.4.2 Viry	35
1.4.3 Mikromycety	38
1.4.4 Ostatní eukaryotické organismy	39
1.5 Diagnostika.....	40
1.5.1 Anamnéza, fyzikální a laboratorní vyšetření.....	40
1.5.2 Mikrobiologická diagnostika.....	41
1.6 Léčba a prevence pneumonií	44
1.6.1 Léčba pneumonií	44
1.6.2 Prevence pneumonií	46
2 CÍL PRÁCE.....	47
3 MATERIÁL A METODY.....	48
1.7 Použité mikroorganismy.....	48
1.8 Kultivační média a roztoky.....	48
1.9 Antibiotika, antimykotika a růstové faktory.....	49
1.10 Přístroje a ostatní pomůcky	51
1.11 Metody.....	51
1.11.1 Identifikace streptokoků	51
1.11.2 Identifikace stafylokoků	52
1.11.3 Identifikace enterobakterií.....	52
1.11.4 Identifikace gramnegativních nefermentujících bakterií.....	53
1.11.5 Identifikace hemofilů.....	54

1.11.6	Identifikace enterokoků	54
1.11.7	Identifikace kvasinek	54
1.11.8	Testování citlivosti kmenů k antibiotikům	55
1.11.9	Průkaz tvorby ESBL a beta-laktamas typu AmpC	56
1.11.10	Sběr dat	58
2	VÝSLEDKY	59
2.1	Charakteristika souboru izolátů	59
2.2	Výsledky identifikace mikroorganismů	63
2.3	Výsledky testování citlivosti k antimikrobiálním látkám	66
3	DISKUSE	72
3.1	Soubor izolátů	72
3.2	Identifikované mikroorganismy	73
3.3	Testování citlivosti k antibiotikům	75
4	ZÁVĚR	78
	Seznam použité literatury	79

1 ÚVOD

1.1 Pohled do historie

Zánět plic je onemocnění, které člověka provází po celou dobu jeho existence. Již v paleolitu a mezolitu se vedle úrazů, vrozených a degenerativních vad objevují pneumonie a bronchopneumonie jako častá příčina úmrtí v souvislosti s podchlazením.

V období starého Egypta se podle výzkumů vyskytovaly z plicních onemocnění zejména tuberkulóza, antrakóza a pneumokonióza. V léčbě se uplatňovaly rostlinné přípravky s obsahem farmakologicky účinné substance, lidové léky, např. cibule, ale také rituály, amulety a iracionální součásti receptů jako např. oslí kopyta či havraní obratle (Říhová 2005).

Jako první v historii odmítl tuto magickou léčbu řecký lékař Hippokratés. Součástí jeho empirického přístupu bylo klást velký důraz na správné stanovení diagnózy. Toho bylo možné dosáhnout pouze důkladným pozorováním a pečlivou anamnézou (Říhová 2005). Právě v Hippokratových spisech se poprvé setkáváme s popisem možných symptomů provázejících pneumonii. Jedná se o akutní vzestup teploty, kašel, bolesti na jedné nebo obou stranách hrudníku při expektoraci a odlišný charakter vykašlávaného sputa. O šest set let později doplnil anatomický popis nemoci lékař a filosof Claudius Galénos z Pergamu (Ševčík a kol. 2004).

Od antiky do konce období středověku nedošlo k žádnému vývoji v poznání a postupech léčby pneumonií. Zvrat přinesla až doba renesanční, ve které se přírodní vědy a medicína dočkaly prudkého rozvoje. Mezi nejvýznamnější pokroky této doby můžeme zařadit zkonstruování prvního mikroskopu či objev plicního oběhu. V následujících desetiletích docházelo postupně k dalšímu obohacování vědomostí týkajících se pneumonií, vyšetřování nemocných a jejich léčby (Ševčík a kol. 2004).

Významným mezníkem je bezesporu objev mikrobů jako původců infekčních onemocnění, o které se v šedesátých a sedmdesátých letech 19. století zasloužili biologové a lékaři Louis Pasteur a Robert Koch. Nastal rozvoj bakteriologie a s ním izolace mnohých bakteriálních původců onemocnění (Karlen 1997). Na počátku 20. století byly odhaleny jako infekční agens také viry. Následoval objev chemoterapeutik a v roce 1928 objev penicilinu Alexanderem

Flemingem. Zavedením klinické aplikace penicilinu v roce 1941 byla odstartována éra antibiotik (Votava 2005).

Od 80. let 20. století se začala pozornost zaměřovat také na problematiku pneumonií u imunokompromitovaných pacientů, jejichž počet stoupá nejen s výskytem osob s rozvinutým AIDS, ale zejména s rozvojem transplantací, chemoterapií a imunosupresivních léčeb (Ševčík a kol. 2004). V poslední době se stává znepokojujícím problémem stále se zvyšující počet nozokomiálních infekcí a stoupající rezistence k některým antibiotikům.

1.2 Definice zánětů plic

Zánět plic neboli pneumonie patří mezi nejčastější plicní onemocnění. Zároveň je také nejzávažnější ze všech respiračních infekcí. Nemusí jej však vždy zapříčinit pouze infekce. Některé záněty plic mohou být neinfekčního původu, označují se jako pneumonitidy a jejich výskyt není zdaleka tak častý jako u infekčních onemocnění. Jedná se například o onemocnění inhalační, nejčastěji profesního původu, hypersenzitivní a iatrogenní (Kašák a Koblížek 2008).

Definice pneumonie se podle jednotlivých autorů mírně liší. Nejčastěji ji však lze označit jako akutní zánětlivé onemocnění, které postihuje plicní alveoly, respirační bronchioly a plicní intersticiium (Kolek 2003). Z klinického hlediska je pak za pneumonii pokládáno onemocnění, u kterého je přítomen čerstvý infiltrát na skiagramu hrudníku a alespoň dva příznaky nebo nálezy typické pro infekci dolních dýchacích cest, jako jsou teplota, kašel, dušnost, poslechový nález a další (Kolek a Kašák 2010).

Výskyt pneumonií je celosvětový. S vysokou úmrtností, která dosahuje 3 až 5 milionů lidí ročně, se jedná o třetí nejčastější příčinu úmrtí na světě. Nejvíce ohroženou skupinou jsou malé děti a osoby starší 50 let, přičemž pneumonie u osob starších 65 je považována za vysoce rizikové onemocnění. Ke vzniku pneumonie také významně přispívá kouření, nadměrná konzumace alkoholu, drogová závislost, pobyt v sociálních zařízeních a také oslabení organismu základním onemocněním (Kolek a Kašák 2010).

1.3 Klasifikace pneumonií

1.3.1 Hlediska dělení pneumonií

Existuje několik hledisek, podle nichž můžeme pneumonie dělit do různých skupin. Dělení podle etiologie na pneumonie infekční a neinfekční již bylo zmíněno výše. Infekční pneumonie mohou způsobovat prakticky všechny typy biologických infekčních agens. Známe tedy infekční pneumonie bakteriální, virové, mykotické, protozoární i metazoární (Kolek 2003).

Na základě patologicko-anatomických poznatků a rentgenového nálezu rozlišujeme zasažení celého plicního laloku, tzv. pneumonii lobární, postižení jednoho nebo více plicních segmentů, tzv. pneumonii segmentální či lobulární a pneumonii intersticiální. Pokud se infekce nachází zejména v průduškách a přestupuje na příslušné alveoly plicního laloku, označujeme tento stav jako bronchopneumonii (Havlík a kol. 2002).

Pro určení místa péče a způsobu léčby má význam klasifikace pneumonií podle závažnosti, kdy se hodnotí závažnost onemocnění spolu se stavem pacienta a jeho rizikovými faktory. Hospitalizace na jednotce intenzivní péče bude vyžadována u těžké pneumonie, se středně těžkou pneumonií bude pacient pravděpodobně umístěn na standardním nemocničním oddělení, zatímco pacient s lehkou formou pneumonie může být ve většině případů léčen pouze ambulantně (Kašák a Koblížek 2008).

Zánět plic bývá velmi častou komplikací jiného onemocnění. Stav, kdy se zánět plic začne rozvíjet u pacientů s jiným základním onemocněním, označujeme jako sekundární pneumonii. Jedná-li se o izolované plicní onemocnění jinak zdravého pacienta, bude klasifikováno jako pneumonie primární (Ševčík a kol. 2004).

Podle časového průběhu můžeme rozeznávat záněty plic akutní se sklonem k remisi, recidivující a chronické. Recidivujícími pneumoniemi mají tendenci trpět pacienti s morfológickou změnou, např. aspirovaným cizím tělesem, maligním nádorem, stenózou průdušky apod. V těchto případech se pneumonie zpravidla vyskytuje opakovaně pouze na jednom postiženém místě. Pacienti trpící recidivující pneumonií bez dalšího poškození dýchacího systému mívají postiženy různé oblasti plic, tato pneumonie je tzv. migrující. Při chronické pneumonii k remisi nedochází, mohou být patrná určitá zlepšení stavu,

s normalizací laboratorních výsledků a remisí na skiagramu hrudníku se však nesetkáme (Kašák a Koblížek 2008).

V některých pramenech a zejména v praxi se stále ještě používá dnes již nedoporučované dělení zánětů plic podle klinického průběhu. Pneumonie byly rozděleny na pneumonie typické, vyvolané typickým agens, a pneumonie atypické, vyvolané atypickým agens. Každou skupinu lze charakterizovat příslušným souborem příznaků. Pneumonie vyvolané typickým agens se většinou projevují náhlým počátkem onemocnění, vysokou teplotou, pleurální bolestí, produktivním kašlem s expektorací hnisavého nebo rezavého sputa, patologickým poslechovým nálezem na hrudníku, známkami lobární nebo segmentální konsolidace na skiagramu hrudníku a leukocytózou. Mezi vyvolávajícími mikroorganismy nejčastěji nalézáme druhy *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*. Pneumonie atypické jsou ve většině případů charakteristické záměnou s chřipkovým onemocněním na počátku infekce, mírně zvýšenou teplotou, bolestmi svalů, malátností, rýmou, suchým kašlem, nepatologickým poslechovým nálezem na hrudníku a oboustranným nálezem imponujícím jako intersticiální pneumonie na skiagramu hrudníku. Za vznik atypické pneumonie nejčastěji odpovídají druhy *Mycoplasma pneumoniae* a *Chlamydophila pneumoniae*. Bohužel klinický obraz onemocnění nebývá zdaleka tak jednoznačný, jak uvádí starší literatura. Navíc se čím dál častěji setkáváme s pneumoniemi smíšenými, tedy vyvolanými typickým i atypickým agens současně. Proto se od dělení podle klinického průběhu spíše ustupuje a do popředí se dostává klasifikace epidemiologická (Ševčík a kol. 2004).

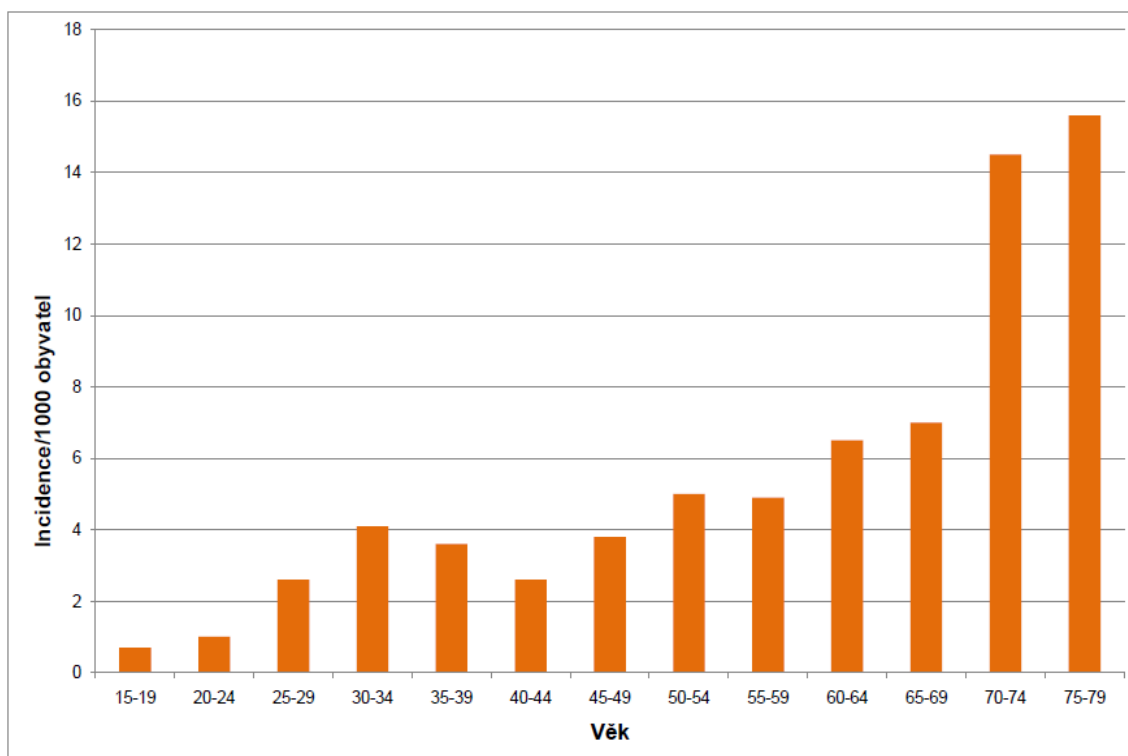
Ačkolí existuje mnoho hledisek dělení pneumonií, největší význam má v dnešní době zejména pro klinickou praxi epidemiologická klasifikace. Na jejím základě rozlišujeme pneumonie komunitní, vznikající v běžném prostředí, a pneumonie nozokomiální, získané po přijetí pacienta do nemocnice nebo jiného zdravotnického zařízení.

1.3.2 Komunitní pneumonie

Komunitní pneumonie je onemocnění získané v běžném životním prostředí. Pacient je infikován mimo nemocnici, jiné zdravotnické zařízení či zařízení sociální péče. Za pacienta s komunitním onemocněním považujeme takového, který v předchozích 14 dnech nebyl hospitalizován ani umístěn v některém z výše uvedených zařízení, případně mu byla

diagnostikována pneumonie do 2 dnů od přijetí (Ševčík a kol. 2004). V anglosaské literatuře se setkáme s označením *community acquired pneumonia - CAP* (Kolek a Kašák 2010).

V České republice onemocní ročně okolo 80 až 150 tisíc pacientů, z toho 15 - 25 % případů vyžaduje hospitalizaci. Úmrtím pacienta u nás končí přibližně 3 % onemocnění ročně. Incidence pneumonií je závislá na věku. Výskyt onemocnění výrazně vzrůstá u pacientů starších 75 let. S touto věkovou hranicí se rovněž zhoršuje závažnost pneumonií, prodlužuje se doba léčby a roste mortalita. Příčinou jsou strukturální i funkční změny v organismu a poruchy zdraví související s vysokým věkem. Objevují se dehydratace či malnutrice z důvodu sníženého příjmu potravy a tekutin, sociální a psychické problémy (Bartoš a Koblížek 2010). Incidence komunitní pneumonie v závislosti na věku byla sledována v rámci dlouhodobé studie ve Velké Británii. Výsledky této studie znázorňuje Obr. 1.



Obr. 1. Incidence komunitní pneumonie v závislosti na věku. Zpracováno podle Wilkinson a Woodhead (2004).

Spektrum původců komunitních pneumonií je poměrně široké. Záleží na mnoha faktorech, zejména na ročním období, věku, zdravotním stavu a sociálním zařazení pacienta. V mnoha případech se dokonce infekční agens nepodaří prokázat vůbec. Pneumonie u jinak zdravých pacientů je způsobena převážně bakteriálními původci, mykotický a virový původ onemocnění mimo období epidemií je diagnostikován zřídka. Četnost virových nákaz se

odvíjí dle aktuální epidemiologické situace. Uvádí se, že až za 60 % komunitních pneumonií je zodpovědný patogen *Streptococcus pneumoniae*, následují *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae* a *Chlamydophila pneumoniae*. V případech, kdy se nedaří původce určit, se považuje za důležitější zhodnocení epidemiologických faktorů, posouzení klinického obrazu a zvážení predisponujících faktorů svědčících pro určitou etiologii, než opakovaná snaha o identifikaci infekčního agens (Musil a kol. 2005). V Tabulce 1 je zachycen podíl jednotlivých patogenů komunitní pneumonie izolovaných v dlouhodobé studii ve Velké Británii, přibližně však odpovídá i situaci v ostatních evropských zemích.

Tabulka 1. Přehled izolovaných původců komunitní pneumonie ve Velké Británii.

Původce komunitní pneumonie	Výskyt původce vzhledem k celkovému počtu izolátů
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	35 %
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	15 %
<i>Haemophilus influenzae</i>	10 %
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	10 %
Influenza virus	10 %
<i>Legionella</i> spp.	5 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	5 %
<i>Chlamydophila psittaci</i>	3 %
jiné viry	3 %
<i>Coxiella burnetii</i>	2 %
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 %
enterobakterie	1 %

Zpracováno podle Wilkinson a Woodhead (2004).

V diagnostice komunitních pneumonií se můžeme setkat i s dalšími původci schopnými vyvolat zánětlivé onemocnění, případně jej imitovat na rentgenovém zobrazení. Výskyt těchto infekcí je spíše vzácný, a proto základním krokem k správné identifikaci původce je zpravidla pečlivě provedená anamnéza. Velmi často se jedná o pacienty, kteří si nákazu dovezli ze zahraničí, kde byli vystaveni původcům, kteří se běžně v Evropě nevyskytují. Mezi takové nákazy řadíme např. brucelózu, zoonózu způsobenou zejména druhu *Brucella abortus* a *Brucella melitensis*, získanou při pobytech ve Středomoří. Přenos probíhá kontaktem s domácími či divokými přežvýkavci, možný je ale i přenos alimentární či aerogenní. Brucelóza postihuje různé orgány hostitele včetně plic a neléčená přechází do chronické formy, která může vést až k invaliditě (Hubálek a Rudolf 2007). Z oblasti jihovýchodní Asie

k nám může být zavlečena zoonóza způsobená bakterií *Burkholderia pseudomallei* způsobující melioidózu neboli pseudomalleus. Onemocnění probíhá často bezpříznakově, pokud se však projeví, má charakter subakutní pneumonie s lymfadenopatií a může zpočátku připomínat mykobakteriózu. Rychlá a přesná diagnostika je v těchto případech velmi důležitá, jelikož burkholderie vykazují atypickou citlivost k antimikrobiálním látkám a neléčené infekce končí smrtí v 95 % (Votava a kol. 2003). Setkáváme se také s exotickými nákazami virového původu. Po kontaktu s potravou či půdou kontaminovanou močí hlodavců vzniká nebezpečí hantavirové infekce. Hantavirový plicní syndrom (HPS) se kromě zánětu plic projevuje vysokou horečkou, zimnicí, bolestí hlavy, svalů a kloubů, nevolností a průjmem. Letalita sahá až k 45 % (Sedlák a Tomšíčková 2006). Poměrně novou infekcí, avšak o to závažnější, je nákaza koronavirem zapříčiňujícím syndrom akutního respiračního selhání (SARS). Závažnost nespočívá pouze ve velmi vysoké infekciozitě, ale také v možnosti využití viru jako biologické zbraně (Prymula a Špliňo 2006).

Někdy však i důkladná anamnéza selhává, a to většinou v případech, kdy si pacient možnost infekce neuvědomuje, např. při vdechnutí infekčního prachu. Typická nákaza, která se přenáší právě inhalací kontaminovaného prachu, je Q-horečka způsobená druhem *Coxiella burnetii*. Bakterie vzdušnou cestou infikuje alveolární makrofágy a způsobuje intersticiální pneumonii (Beneš 2009).

Přesné epidemiologické údaje týkající se komunitních pneumonií v České republice i v zahraničí nejsou k dispozici, protože onemocnění nepodléhá povinnému hlášení. Údaje jsou proto pouze odhadovány na základě nejrůznějších studií.

1.3.3 Nozokomiální pneumonie

Nozokomiální pneumonie je onemocnění získané během pobytu ve zdravotnickém zařízení. S nejvyšším výskytem tohoto onemocnění se setkáváme na jednotkách intenzivní péče a anesteziologicko-resuscitačních odděleních, kde kromě běžných zdrojů nálezů jsou pacienti ohroženi nákazou prostřednictvím podpůrného ventilačního zařízení (Ševčík a kol. 2004). Nozokomiální pneumonii je možné diagnostikovat, pokud se první příznaky onemocnění objevily nejdříve po 48 hodinách od začátku hospitalizace. Stejně tak může být nakažen zdánlivě zdravý pacient při propuštění z nemocniční péče. Nozokomiální pneumonii proto diagnostikujeme také, dojde-li k manifestaci onemocnění do 14 dnů od ukončení hospitalizace. Nozokomiální záněty plic označujeme termínem *hospital acquired pneumonia* -

HAP a můžeme je dále rozdělovat na časné a pozdní. Časná nozokomiální pneumonie vzniká v období do 4 dnů od přijetí do zdravotnického zařízení a je z velké části způsobována endogenní mikroaspirací primární mikroflóry. Postupem času se zvyšuje podíl exogenních inhalačních nákaz přenesených z ostatních pacientů nebo ošetřujícího personálu a nákaz z ostatních možných zdrojů infekce. Příznaky pneumonie přicházející po více než 4 dnech hospitalizace svědčí pro nozokomiální pneumonii pozdního typu (Kolek a Kašák 2010).

Zdroje nákazy mohou být různé. Kolonizace může vycházet z pacientovy vlastní mikroflóry, která do dolních dýchacích cest vniká při aspiraci z gastrointestinálního traktu. A to zejména u dlouhodobě ležících pacientů, jejichž obranné nástroje respiračního traktu jsou oslabeny. Při dlouhodobějším pobytu v nemocnici se však dostávají do popředí mikroby pocházející z vnějšího prostředí. Zdrojem takové infekce pak bývá jiný pacient, zdravotnický personál, prach a zejména kontaminované inhalační přístroje. Právě nozokomiální pneumonie způsobené kolonizací endotracheálních trubic, narkotizačních přístrojů, nebulizátorů, zvlhčovačů, klimatizačních aparatur a podobných zařízení tvoří skupinu označovanou jako ventilátorová pneumonie, v angličtině *ventilator/ventilation associated pneumonia - VAP* (Zadák a Havel 2007). Nákaza je současně nejčastěji se vyskytující nozokomiální infekcí u mechanicky ventilovaných pacientů. Uvádí se, že ventilátorová pneumonie postihuje 10 až 70 % pacientů s podporou dýchání (Ševčík a kol. 2004).

Mortalita onemocnění je vysoká. Kromě plicní ventilace má vliv také věk pacienta, délka jeho pobytu v nemocnici, zdravotní stav, výskyt předchozích infekcí a charakter léčby (Přšová a Jelínek 2004). Letalita nozokomiální pneumonie se pohybuje mezi 25 a 41 %, u pneumonie ventilátorové však může sahat až k 76 % (Ševčík a kol. 2004).

Výskyt konkrétních původců se zpravidla odvíjí od epidemiologické situace oddělení. Obecně lze říci, že časné pneumonie bývají vyvolány spíše patogeny komunitního původu, které se nacházejí na sliznici respiračního traktu. Nejčastěji se jedná o druhy *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* a *Legionella pneumophila*. Občas se mohou jako patogeny uplatnit také některé respirační viry, např. virus chřipky A a RS-virus. S prodlužující se délkou hospitalizace, léčbou antibiotiky či trváním intubace se zvyšuje podíl původců čeledi *Enterobacteriaceae*, převážně rody *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus* či *Serratia*. Teprve u dlouhodobě hospitalizovaných nemocných, včetně pacientů s podporou dýchání a pacientů dlouhodobě vystavených antibiotické léčbě, dochází k nárůstu infekcí způsobených bakteriemi *Pseudomonas*

aeruginosa či *Acinetobacter baumannii*, které patří zejména pro svou polyrezistenci k antibiotikům k nejnebezpečnějším. Hodnocení nálezu kvasinek či koaguláza negativních stafylokoků jako původců pneumonie je sporné. Pokud se nejedná o imunokompromitovaného pacienta, je tento nález považován za kontaminaci vzorku či přirozenou mikroflóru nemocného (Ševčík a kol. 2004). Přehled nejčastěji izolovaných původců nozokomiálních pneumonií v několika evropských zemích ukazuje Tabulka 2. Data byla sesbírána během studie v roce 2007 a zahrnují vyhodnocení celkem 9 412 izolátů.

Tabulka 2. Přehled nejčastěji izolovaných původců nozokomiální pneumonie v roce 2007.

Původce nozokomiální pneumonie	Výskyt původce vzhledem k celkovému počtu izolátů
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	11,3 %
<i>Escherichia coli</i>	8,9 %
<i>Klebsiella</i> spp.	8,3 %
<i>Candida</i> spp.	7,7 %
<i>Enterobacter</i> spp.	7,5 %
MRSA	5,7 %
<i>Acinetobacter</i> spp.	4,2 %
<i>Haemophilus</i> spp.	3,6 %
<i>Stenotrophomonas</i> spp.	3,5 %
<i>Serratia</i> spp.	3,2 %
<i>Proteus</i> spp.	2,6 %
<i>Enterococcus</i> spp.	2,6 %
Koaguláza negativní stafylokoky	2,5 %
<i>Streptococcus</i> spp.	2,2 %
<i>Citrobacter</i> spp.	1,8 %

Zpracováno podle Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe (2009).

1.3.4 Pneumonie u imunokompromitovaných pacientů

Zvláštní skupinou pacientů ohrožených infekcí plic jsou pacienti postižení jakýmkoliv typem imunodeficiency. Ta může být vrozená, tzn. primární, nebo získaná, tzn. sekundární. Primární imunodeficiency rozumíme poruchu genové exprese při tvorbě proteinů účastnících se procesů v rámci imunitního systému. Příčina sekundární imunodeficiency může být různá, velmi často jí je infekce virem HIV, iatrogenní zásahy jako operace, ozařování,

imunosupresivní terapie po orgánových transplantacích a cytostatická léčba. V rozvojových zemích pak hraje velkou roli ve snížení obranyschopnosti organismu podvýživa (Bartůňková 2002).

U pacientů se sekundární imunodeficiencí se velmi často objevují infekce způsobené intracelulárně se množícími agens. V prvních měsících po získání defektu buněčné imunity, např. po cytotoxické chemoterapii nebo po transplantaci, patří mezi nejčastější původce infekce běžné bakterie a kvasinky rodu *Candida*. Často mají tyto mikroorganismy vztah k chirurgickému zákroku nebo jinému ošetření. Bakteriální pneumonie se objevují u 10 – 25 % pacientů po transplantaci jater, ledvin a srdce, u 25 – 50 % pacientů po transplantaci kostní dřeně a u téměř 60 % pacientů po transplantaci plic (Musil a kol. 2005).

Typické intracelulární patogeny se dostávají do popředí od druhého do šestého měsíce po zákroku. Nejčastějšími původci jsou v tomto případě cytomegalovirus a mykotické organismy. Cytomegalovirová infekce se vyznačuje vznikem intersticiální pneumonitidy a poškozením dalších orgánů. Pokud se jedná o transplantovaného pacienta, dochází často k poškození transplantovaného štěpu a prohloubení vnímavosti vůči oportunním infekcím. Z mykotických infekcí jsou u imunokompromitovaných pacientů nejčastěji nacházeny *Pneumocystis jiroveci* a plísně rodu *Aspergillus*. Výjimkou nejsou ani infekce legionelami či *Cryptococcus neoformans* z vnějšího prostředí. V České republice způsobují mykotické organismy komplikaci ve formě infekční pneumonie až u 25 % všech onkologicky nemocných (Klener a Homolka 2001).

S patologickými pulmonálními projevy se ve velké míře setkáváme také u pacientů nakažených virem HIV. S respirační infekcí má zkušenost přibližně 70 % nemocných AIDS (Ševčík a kol. 2004). Pro stádium rozvinutého onemocnění je typická pneumocystóza nebo mykobakteriíza. Pneumocystová pneumonie způsobená *Pneumocystis jiroveci* se vyskytuje ve 20 – 40 % případů a je spojena s těžšími a pokročilejšími stadii AIDS. V současné době incidence pneumocystové pneumonie klesá z důvodu užívání moderní antiretrovirové léčby a účinné chemoprolaxe (Kašák a Koblížek 2008). Naopak u více než poloviny pacientů se setkáváme s tuberkulózní mykobakteriízou nebo mykobakteriízou způsobenou komplexem *Mycobacterium avium – intracellulare*. Ten je příčinou minimálně 73 % netuberkulózních mykobakterií u HIV infikovaných pacientů (Ševčík a kol. 2004).

Právě z důvodu výrazně odlišného mikrobiologického spektra, ve kterém se uplatňují většinou oportunní patogeny, je pneumonie u imunokompromitovaných osob vyčleňována samostatně.

1.3.5 Obranné mechanismy proti infekci

Plíce jako součást respiračního systému zajišťují výměnu dýchacích plynů mezi okolím a buňkami. Ztráta plicních funkcí vede během několika minut k ireverzibilním změnám a smrti. Plícemi zdravého člověka projde každou minutu 5-8 litrů vzduchu (Kittnar a kol. 2011). Ačkoliv tato hodnota odpovídá denně několika tisícům litrů vzduchu s obsahem nejrůznějších mikroorganismů a škodlivých látek, jsou plíce orgánem relativně sterilním. Jsou chráněny unikátními obrannými mechanismy, z nichž každý plní svou specifickou funkci. Již v nosní sliznici dochází k záchytu velkého množství částic na jejím bohatě členěném povrchu. Touto počáteční mechanickou bariérou, kterou systém vytváří, zajišťuje nosní sliznice navíc ohřátí a zvlhčení vdechovaného vzduchu. V dalších částech dýchacích cest, v nosohltanu, průdušnici a bronších, se uplatňují fyziologické mechanismy. Jsou to pohyb řasinek respiračního epitelu, tvorba hlenu glykoproteinového a proteoglykanového původu a obranné reflexy, např. kašel či kýchání, které společně zajišťují tzv. mukociliární transport nečistot mimo respirační trakt (Ševčík a kol. 2004). Obranný systém plic je však mnohem složitější. Zahrnuje dále přirozenou imunitu, která je představována plicními makrofágy a polymorfonukleárními leukocyty. Jejím cílem je vyčistit povrch dýchacích cest a plicních alveolů od patogenních mikroorganismů. K definitivní eradikaci virů, opouzdřených bakterií a mikroorganismů schopných přežít a množení uvnitř plicních sklípků pak slouží specifická imunita. Všechny složky se vzájemně doplňují a vytváří složitý obranný komplex (Krejsek a Kopecký 2004).

Mezi látky zaujímající v protibakteriální obraně plic zásadní význam patří tzv. defenziny. Jedná se o kationické peptidy s obsahem šesti cysteinů spojených třemi disulfidickými můstky. Účinkují na bakterie, včetně mykobakterií, některé obalené viry a houby tak, že poškozují biomembrány permeabilizací nebo tvorbou pórů. Zatím bylo identifikováno 6 α -defenzinů, z toho 4 mají význam pro vznik plicního zánětu. Vytvářejí se zejména v neutrofilních granulocytech a jejich koncentrace stoupá typicky právě při pneumoniích. Na základě analýzy lidského genomu se předpokládá existence 25 β -defenzinů. V buňkách respiračního epitelu byly zatím prokázány pouze 2 β -defenziny (Dhople a kol. 2006). Kromě přímých antimikrobiálních účinků defenziny dále modulují imunitní odpověď nepřímo vazbou na složky komplementu, stimulují produkci některých interleukinů a zesilují expresi

adhezních molekul na polymorfonukleárních leukocytech (Krejsek a Kopecký 2004). Defenziny jsou inhibovány vysokou koncentrací solí, což by se mohlo stát problémem např. u nemocných s cystickou fibrózou, kdy v plicích stoupá koncentrace NaCl. Vliv koncentrace solí na funkci defenzinů však nebyl potvrzen (Brennan 2008).

Dalšími významnými peptidickými látkami, které zasahují do obrany plic, jsou katecidiny a kolektiny. (Krejsek a Kopecký 2004). Kolektiny neboli *surfactant proteins* nacházíme ve variantách SP-A, SP-B, SP-C a SP-D na povrchu plic, kde se jejich podjednotky nesoucí lektinovou doménu váží na sacharidové struktury nejen bakterií, hub a virů, ale také pylových zrn a jiných alergenů. Dochází tak k aglutinaci patogenů či alergenů a zesílení fagocytózy. Kolektiny SP-A a SP-D navíc interagují s mnohými imunitními buňkami a modulují jejich funkci (Kishore a kol. 2006).

Svou obrannou roli hraje také enzym lysozym produkovaný plicními makrofágy, polymorfonukleáry a serózními buňkami. Jeho molekula je tvořena jedním polypeptidovým řetězcem bez obsahu koenzymů a iontů. Katalyzuje hydrolýzu vazeb β -1,4 N-acetylmuramové kyseliny a N-acetylglukosaminu bakteriální stěny, účinek je tedy zaměřen převážně na gram-pozitivní bakterie (Murray 1998). Za zmínku stojí také látky jako laktoferin, transferin či fibronectin, které mají při obraně plic nemenší význam (Krejsek a Kopecký 2004).

Velice důležitou složkou v plicních tekutinách jsou specifické protilátky třídy IgA a IgG. Protilátky třídy IgA, izolované z plic, řadíme mezi sekreční imunoglobuliny. Na sliznicích se vyskytují častěji v polymerní formě, která umožňuje aktivní průnik transcytózou z plazmatických slizničních buněk, ve kterých protilátky třídy IgA vznikají, přes epitelové buňky na konkrétní místo sliznice. Jejich výhodou je obtížná štěpitelnost sekrečními proteázami, jsou proto schopny na sliznici setrvat a bránit bakteriální adhezenci na slizniční povrch a tím i průniku antigenů do vnitřního prostředí organismu. Dalšími schopnostmi jsou reakce s některými baktericidními látkami, např. laktoferinem, a jejich přenos na povrch bakterií, vyvolání opsonizačního efektu či zesílení fagocytózy (Špičák a Panzner 2004). Významná je také schopnost protilátek třídy IgA neutralizovat viry. Proces spočívá v navázání virových proteinů na protilátku uvnitř infikované buňky, čímž dojde k přerušení replikace viru (Mazanec a kol. 1996). Protilátky třídy IgG mezi slizniční buňky pronikají pasivně. Jejich funkce jsou podobné jako u protilátek třídy IgA, spočívají tedy v neutralizaci toxinů, působení jako opsonizační činidla a zesílení fagocytózy. Základním rozdílem mezi

uvedenými třídami protilátek je schopnost protilátek třídy IgG aktivovat komplement (Krejsek a Kopecký 2004).

Působení humorálních složek obrany plic úzce souvisí s působením buněk specifické i nespecifické imunity. Alveolární makrofágy jsou fixované makrofágy v plicní tkáni a na počátku infekce tvoří základní obrannou linii. Působí jako fagocyty, pohlcují a usmrcují přítomné mikroorganismy, produkují cytokiny za účelem upozornění imunitního systému na infekci tkáně. V pokročilém stádiu pak exprimují na svém povrchu struktury potřebné k rozpoznání T-lymfocyty, aktivaci a další spolupráci s nimi. Stávají se tak antigen prezentujícími buňkami (Kontseková a Kontsek 2004).

Polymorfonukleární leukocyty neboli neutrofilní granulocyty se vyskytují převážně v krevním řečišti. Uvádí se, že až 40 % jejich populace koluje v plicním krevním oběhu. Za fyziologických podmínek se v alveolárním prostoru nacházejí jen výjimečně (Krejsek a Kopecký 2004). Na svém povrchu nesou selektiny, kterými jsou přitahovány k endotelovému povrchu, a podél kterého se valí. Po stimulaci bakteriálními strukturami se adhezivními molekulami, tzv. integriny, naváží na cévní stěnu a následně se protáhnou stěnou kapiláry dějem označovaným jako diapedéza dovnitř alveolu (Ganong 2005). V obraně plic se uplatňují svou významnou fagocytární aktivitou zejména v prvních fázích infekce, navíc jsou zdrojem důležitých působků, především cytokinů. Zaměřují se nejen na bakterie, ale také na plísň, virem napadené buňky či buňky nádorové a jsou tak klíčovým prvkem pro eradikaci plicní infekce. Nevýhodou neutrofilů je neschopnost fagocytózu opakovat. Po prvním setkání a pohlcení infekčního agens hynou apoptózou (Šterzl 2005).

K likvidaci mikroorganismů jako jsou rody *Nocardia*, *Legionella*, *Mycobacterium* apod., které jsou schopné přežít nebo se i množit uvnitř alveolárního prostoru a které navíc odolávají účinku alveolárních makrofágů, slouží T-lymfocyty. Jejich mechanismus účinku a zejména spolupráce s ostatními komponentami imunitního systému jsou velmi komplikované a přesahují rámec této práce. V souvislosti s tématem však stojí za zmínku interakce aktivovaných T-lymfocytů a alveolárních makrofágů, jejichž funkce T-lymfocyty moduluje. Při tomto ději vzniká mononukleární infiltrát, zvaný granulom. Uvnitř granulomu se vytváří prostředí vhodné pro likvidaci mikrobiálních agens. Za určitých podmínek se ale může stát komplikací v obraně organismu, a to v případech, kdy vede k poškozování hostitelské tkáně nebo se v jeho nitru vytvoří infekční fokus způsobující následnou reaktivaci infekce (Krejsek a Kopecký 2004).

1.3.6 Patogeneze a patofyziologie pneumonie

Vznik a rozvoj pneumonie se liší dle jednotlivých původců onemocnění. V případě komunitních pneumonií dochází k nákaze nejčastěji kapénkovou infekcí. Projevy respirační infekce se objevují většinou náhle. Pacient trpí suchým kašlem, který později může přecházet v produktivní, vykašlává hnisavé nebo narůžovělé sputum a objevuje se u něj horečka nad 38 °C. U vážných stavů je přítomna třesavka a rychle vzniká dechová tíseň. Klinický obraz se může lišit v závislosti na věku, polymorbiditě a dehydrataci pacienta (Klener 2006).

K rozvoji nozokomiální pneumonie dochází při poruše jednoho nebo více obranných mechanismů dýchacího systému. Nejčastěji vstupuje agens do plic aspirací z orofaryngu nebo inhalací infekčního aerosolu. K aspiraci obsahu orofaryngu dochází běžně ve spánku u velké části populace zdravých jedinců. Toto množství však významně stoupá při utlumeném vědomí nebo při použití plicní ventilace. Vznikem infekce jsou tak nejvíce ohroženi pacienti v pooperačním stavu a pacienti dlouhodobě ventilovaní. Stejně tak roste u ventilovaných pacientů riziko inhalace infekčního aerosolu. Pokud pacient ventiluje spontánně a má zachovány funkce obranných mechanismů horních dýchacích cest a mukociliárního transportního systému, spočívá riziko inhalace agens v použití kontaminovaných pomůcek při anestezii či dechové rehabilitaci (Ševčík a kol. 2004). Pneumonie se rozvíjí během několika dní. Objevuje se dušnost a cyanóza, těžké případy mohou vyústit v syndrom akutní dechové tísně (Klener 2006).

Zvláštní skupinu tvoří imunokompromitovaní jedinci, u kterých se setkáváme s odlišným průběhem onemocnění. Hlavními zdroji endogenní infekce jsou trávicí trakt, chronické fokální infekce a infekce zavlečené z tělního povrchu. Exogenní infekce pak získá imunokompromitovaný pacient od ošetřujícího personálu a ostatních pacientů, vzduchem, vodou či stravou. Snazší průnik infekčního agens umožňuje porucha imunologické odpovědi, k rozvoji pneumonie pak napomáhají neinfekční postižení plicní tkáně způsobené nádory, ale také léky a léčebnými zákroky, porušení přirozené mikroflóry a celková snížená obranyschopnost organismu. V infekcích pacientů s oslabenou imunitou se velmi často uplatňují oportunní patogeny. Průběh onemocnění proto bývá variabilní v závislosti na druhu infekčního agens a stavu pacienta (Ševčík a kol. 2004).

1.3.7 Rizikové faktory

Za rizikové faktory vzniku pneumonie jsou v případě komunitních pacientů považovány kouření a nadměrné pití alkoholu, věk pacienta přesahující 65 let, podvýživa nebo naopak obezita a složení orofaryngeální mikroflóry. K infekci mohou významně přispět také onemocnění, kterými pacient trpí, např. obstrukční plicní nemoc, diabetes mellitus, neurologické postižení či městnavé srdeční selhávání. Mezi sociálně-ekonomické faktory vzniku pneumonie rozhodně patří také umístění v sociálních ústavech a domovech důchodců a obecně nižší sociálně-ekonomické zařazení pacienta.

Rizikové faktory vzniku nozokomiální pneumonie úzce souvisí s pobytem v nemocničním zařízení, léčbou a lékařskými zákroky. Za významný rizikový faktor je považována samotná délka hospitalizace, dále podávání léků, zejména antibiotik, imunosupresivní terapie, chirurgické zákroky v dutině hrudní a břišní, dodržování aseptických postupů ošetřujícím personálem a samozřejmě užití veškerých respiračních přístrojů, pomůcek a ventilačních zařízení používaných v péči o dýchací trakt (Maďar a kol. 2006). K běžně užívaným pomůckám patří tracheální kanyla. Její přítomnost sama o sobě podlamuje obranyschopnost dýchacího traktu vůči infekci, zvyšuje riziko zánětu a stává se zdrojem infekčního agens ve formě biofilmu pokrývajícího povrch kanyly krátce po jejím zavedení. Riziko lze eliminovat použitím pomůcek z nově vyvíjených materiálů omezujících přilnutí bakterií na povrch kanyly a tvorbu biofilmu. Nejčastěji užívanou podpůrnou léčbou, která představuje zároveň jedno z největších rizik vzniku nozokomiální pneumonie, je umělá plicní ventilace. Bariéra vstupu cizích těles do dolních cest dýchacích je porušena hned na počátku zavedením tracheální rourky, přičemž dochází k poškození sliznice faryngu, včetně funkce řasinkového epitelu. Při zavádění může dojít také k infekci plic zavlečenou orofaryngeální mikroflórou. Patogeny však mohou do plic vnikat i později, a to mikroaspiracemi podél zavedené rourky nebo během pravidelného odsávání. Samotné ventilátory většinou neposkytují podmínky vhodné k množení patogenů, navíc jsou vybaveny účinnými bakteriálními filtry. V tomto ohledu představují mnohem větší riziko kontaminované tekutiny v nebulizátorech používaných k inhalační léčbě. Předcházet nákaze je možné užitím vhodných sterilizačních postupů u přístrojů, jejich pravidelný technický servis a výměna bakteriálních filtrů. Dalšími možnostmi předcházení nákazy jsou používání sterilních jednorázových pomůcek jak při intubaci, tak při následném odsávání a v neposlední řadě přísné dodržování aseptických podmínek při manipulaci s uměle ventilovaným pacientem (Ševčík a kol. 2004).

V případě imunokompromitovaných pacientů se k běžným rizikovým faktorům souvisejícím s pobytem v nemocnici přidávají také porušení složení přirozené mikroflóry, malnutrice, porucha imunologické odpovědi a časté neinfekční postižení plicního parenchymu (Basic Concepts of Infection Control 2011).

1.4 Přehled nejčastějších původců pneumonií

1.4.1 Bakterie

1.4.1.1 Rod *Streptococcus*

Streptokoky jsou bakteriálním rodem čítajícím velké množství lékařsky důležitých mikrobiálních druhů. Jedním z nich je *Streptococcus pneumoniae* neboli pneumokok, klasický a nejčastější původce pneumonie, tak jej charakterizuje mimo jiné i lékařský slovník (Vokurka a Hugo 2007). *S. pneumoniae* se řadí mezi non-beta-hemolytické streptokoky, je grampozitivní, opouzdřený, lancetovitého tvaru, vyskytující se v preparátu v typických dvojicích či krátkých řetězcích, jak znázorňuje Obr. 2 (Votava a kol. 2003).



Obr. 2. *Streptococcus pneumoniae*. Upraveno podle Prokaryotické skupiny Laboratoře Buněčné Signalizace: <http://www.biomed.cas.cz/mbu/lab127/en/prokaryot/projects/pneumococcus.html>

Pneumokok je celosvětově rozšířen. U části populace je součástí přirozené mikroflóry nosohltanu, kde se uplatňuje jako příležitostný patogen při porušení obranyschopnosti svého hostitele. Kromě pneumonie může být původcem také zánětů středního ucha, sinusitid, závažných meningitid či ojediněle akutních endokarditid. Jak již bylo uvedeno, je pneumokok nejčastějším bakteriálním původcem komunitní pneumonie. Projevy infekce mohou být různorodé, odvíjejí se od věku pacienta i rozsahu zasažené tkáně. Nejčastějším klinickým

obrazem pneumokokového zánětu plic je horečka, zimnice, třesavka, schvácenost, kašel, dušnost a pleurální bolest. Komplikace mohou mít lokální charakter pleuritidy, abscesu či ARDS, ale mohou se vyskytnout také závažné stavy jako sepse a meningitida. Hospitalizace je nutná přibližně v 10 % komunitních nákaz a stejně velké je i procento letálních případů (Klener 2006). Lékem volby jsou penicilinová antibiotika, u rezistentních kmenů lze použít cefalosporiny III. generace, u multirezistentních kmenů pak vankomycin.

Jako prevence před pneumokokovou nákazou se doporučuje očkování. K dispozici byly donedávna pouze polysacharidové vakcíny pro děti od dvou let věku. V současnosti je stále nejrozšířenější z nich 23-valentní polysacharidová vakcína (PPV-23). Nově vyvinuté konjugované vakcíny umožňují očkování i dětí mladších dvou let, vyznačují se lepší ochranou proti slizničním pneumokokovým infekcím a proti šíření rezistentních pneumokokových kmenů z člověka na člověka. V České republice jsou registrovány tři konjugované vakcíny, a to 7-valentní (PCV-7) Prevenar, 10-valentní (PCV-10) Synflorix a nově také 13-valentní (PCV-13) Prevenar (Křížová a kol. 2009).

Kromě *S. pneumoniae* se můžeme setkat s dalšími druhy streptokoků schopných vyvolat zánětlivé onemocnění plic. Z klinického materiálu bývají izolováni také *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, případně některé druhy beta-hemolytických streptokoků skupiny C a G. Jejich uplatnění je však zpravidla zapříčiněno sníženou odolností podmíněnou základním onemocněním (Rotta a kol. 1983).

1.4.1.2 Rod *Staphylococcus*

V klinickém materiálu se setkáváme zpravidla se dvěma skupinami stafylokoků. První skupina zahrnuje koaguláza pozitivní druh *Staphylococcus aureus* a jeho kmeny rezistentní k methicilinu, tzv. MRSA. Jedná se o původce primárních i sekundárních infekcí dýchacích cest a o původce jak komunitního typu pneumonie, tak i pneumonie nosokomiální. Zatímco druhá skupina stafylokoků obsahuje tzv. koaguláza negativní stafylokoky, u nichž se většina autorů shoduje, že jejich nález v klinickém materiálu znamená ve většině případů kontaminaci vzorku. Mezi koaguláza negativní stafylokoky řadíme přibližně 30 druhů, z nich mezi nejčastěji izolované patří např. *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* či *Staphylococcus hominis* (Votava a kol. 2003).

Přestože *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* je součástí běžné kožní a slizniční mikroflóry asi u třetiny populace, figuruje na předních místech statistik původců komunitních i nosokomiálních pneumonií. Je to dáno zejména širokým spektrem faktorů virulence, kterými

S. aureus disponuje a které mu umožňují využít i malé narušení imunitní rovnováhy hostitele. Patogen napadá všechny věkové kategorie, průběh se však v závislosti na věku pacienta liší. Stafylokoková pneumonie u kojenců je typická zejména pro zimní měsíce. Patogen velmi často pochází z kožní nákazy samotného dítěte nebo některého z rodinných příslušníků. Rozvoji pneumonie obvykle předchází mírná respirační nákaza s náhlým nástupem zánětu plic. Dítě má teplotu, je neklidné, odmítá tekutiny, někdy také zvrací a má průjem. Postupně zesiluje namáhavý suchý kašel a rozvíjí se cyanóza. Na rentgenovém snímku bývají dobře patrné zvětšující se infiltráty. V případě důsledného dodržování antibiotické léčby dochází většinou k úplnému uzdravení. V dané věkové skupině mívá stejný klinický obraz také infekce *Haemophilus influenzae* či klebsielami.

U dospělých je nejčastější sekundární pneumonie po virovém onemocnění, zpravidla chřipce. Rozvíjí se v období, kdy příznaky chřipky již ustupují. První symptomy pneumonie přicházejí podobně jako u kojenců náhle, typická je třesavka, vysoká horečka, rychle se rozvíjející dušnost a dráždivý kašel s pleurální bolestí. Sputum může být hnisavé i s příměsí krve. Na rentgenovém snímku jsou patrné roztroušené infiltráty různé velikosti, výjimkou není ani vznik plicního abscesu. Stafylokoková pneumonie je závažné onemocnění zejména z důvodu možného nástupu septického šoku v kterékoliv fázi onemocnění. Smrtnost závisí na mnoha okolnostech, u oslabených pacientů může dosahovat až 60 %.

S primární stafylokokovou pneumonií se setkáváme nejčastěji u osob starších 60 let. Na vině bývá zpravidla jiné základní onemocnění, omezené dýchací pohyby, ztížené odkašlávání, vysychající epitel respiračního traktu a další faktory související s pokročilým věkem. Nástup nemoci může být pozvolný. Z příznaků se častokrát vyskytují pouze horečka a cyanóza, případně zmatenost. Prognóza je špatná v případech, kdy je terapie zahájena se zpožděním (Výmola a kol. 1983).

U hospitalizovaných pacientů se jako patogeny uplatňují odolné nemocniční kmeny MRSA (*methicilin/oxacilin resistant Staphylococcus aureus*). Podstatou rezistence k oxacilinu je u těchto kmenů přítomnost genu *mecA*, který kóduje pozměněný druh transpeptidasy PBP2a. Vzniká tak rezistence patogena vůči všem beta-laktamům, včetně jejich kombinací s inhibitory beta-laktamas, cefalosporinům, karbapenemům i monobaktamům. Rezistence nemocničních kmenů se postupně rozšiřuje také k makrolidům, aminoglykosidům, tetracyklinům, chloramfenikolu, fluorochinolonom a rifampicinu. Kmeny MRSA se vyskytují buď jako heterogenní forma nebo jako forma homogenní. Častější heterogenní forma sestává

z citlivé populace bakterií s výskytem určitého podílu rezistentní subpopulace. Naopak forma homogenní obsahuje pouze rezistentní populaci. Šíření MRSA kmenů je zapříčiněno opakovanou antibiotickou léčbou, která indukuje expresi *mecA* genu (Šrámová a kol. 2001).

1.4.1.3 Rod *Enterococcus*

Ačkoliv jsou enterokoky běžnou součástí střevní mikroflóry, mohou způsobovat vážné infekce jiných orgánů a uplatňovat se tak jako podmíněné patogeny. Mezi enterokokové infekce močových cest a endokarditidy patří také pneumonie, zejména nozokomiálního původu. Nejčastěji bývá z klinického materiálu izolován *Enterococcus faecalis*. Enterokoky jsou vysoce odolné mikroorganismy jak vůči vysychání, teplotě a pH, tak i vystavením vysokých koncentrací žluči a solí, čehož se využívá při jejich diagnostice na půdách s 6,5% NaCl. Odolností se vyznačují také v oblasti antibiotické terapie. Jsou primárně rezistentní k cefalosporinům I., II. a III. generace, nozokomiální kmeny dokonce k většině konvenčně užívaných antibiotik. Problémem současnosti je navíc rostoucí výskyt rezistence k vankomycinu získaný přenosem plazmidů, které nesou geny pro tuto rezistenci (Votava a kol. 2003). Právě u enterokoků je typické rozšiřování rezistence k antibiotikům prostřednictvím mobilních genetických elementů, především konjugativních plazmidů. Rostoucí počet osekvenovaných genomů enterokoků umožňuje porovnání rozsahu diverzity těchto elementů (Palmer a kol. 2010).

1.4.1.4 Čeleď *Enterobacteriaceae*

Čeleď *Enterobacteriaceae* zahrnuje gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky se značnou biochemickou aktivitou. Čeleď čítá velké množství bakteriálních rodů lišících se navzájem svou ekologií, patogenitou i dalšími vlastnostmi. Jako původce pneumonií se však uplatňují pouze některé enterobakterie.

Typickým zástupcem původců pneumonie z řady enterobakterií je *Klebsiella pneumoniae*. V menším počtu případů se pak můžeme setkat také s příbuznou *Klebsiella oxytoca*. Klebsiely jsou součástí střevní mikroflóry, často však působí jako oportunní patogeny při uroinfekcích, sepsích a infekcích dýchacích cest. Přenos se uskutečňuje fekálně-orální cestou, kontaktem a na krátké vzdálenosti se předpokládá i přenos vzduchem. Klebsielové pneumonie se vyskytují jak v běžné komunitě, tak i jako nemocniční nákazy. Nozokomiální pneumonie mají obvykle těžký průběh s vysokou mortalitou, kterou zapříčiňují zejména vysoce rezistentní nemocniční kmeny. Nástup onemocnění je rychlý, doprovázený zimnicí a vysokou horečkou, typické je vykašlávání krvavého sputa (Murray a kol. 2005).

Ostatní enterobakterie se na infekčních pneumoniích podílejí méně. Většina z nich patří mezi bakterie přirozené mikroflóry a jako patogeny se uplatňují pouze příležitostně, o to však závažněji. Většinou se vyskytují také ve formě nemocničních kmenů, které jsou příčinou těžkých nozokomiálních pneumonií. Postižení bývají velmi často pacienti s oslabenou imunitou. Z klinického materiálu bývají dále izolovány druhy *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* a enterobakterie rodu *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Morganella* či *Providentia*.

Antibiotická terapie je u enterobakterií zpravidla indikována u mimostřevních infekcí. Jelikož se spektra citlivosti k antibiotikům u mnoha enterobakterií liší, využívají se k léčbě antibiotika z testovaných sad, určujících volbu antibiotika podle typu a závažnosti infekce. V individuálních případech je však samozřejmě možné podat i jiné látky. Jedním z největších problémů v oblasti antibiotické terapie u enterobakterií je v současné době výskyt polyrezistence u mnoha kmenů, nejhorší z nich pak jsou kmeny produkující širokospektré beta-laktamasy, tzv. ESBL (z angl. *extended specter beta lactamase*) a beta-laktamasy typu AmpC (Votava a kol. 2003). Jak název napovídá, jsou ESBL enzymy štěpící mnohá beta-laktamová antibiotika, hydrolyzují peniciliny, cefalosporiny všech generací a monobaktamy. Cefamyciny a karbapenemy obvykle hydrolyzovány nejsou. ESBL jsou inhibovány inhibitory beta-laktamas. Naopak beta-laktamasy typu AmpC inhibovány inhibitory beta-laktamas nejsou, hydrolyzují peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy i cefamyciny. Karbapenemy hydrolyzovány nejsou. Většina beta-laktamas typu AmpC je inducibilních. K indukci produkce beta-laktamas typu AmpC dochází až při kontaktu s některým z antibiotik nebo inhibítorem beta-laktamas (Hrabák a kol. 2007).

1.4.1.5 Gramnegativní nefermentující bakterie

Do skupiny gramnegativních nefermentujících bakterií řadíme bakteriální druhy, jež díky svým odlišným vlastnostem není možné zařadit do samostatných, a pro lékařskou mikrobiologii významných, skupin. Jejich jediná společná vlastnost je neschopnost fermentace glukózy. Druhy této skupiny, které se mohou uplatňovat jako původci pneumonií, jsou následující.

Burkholderia cepacia je bakterie původně izolovaná jako parazit cibule a podobných rostlin. V současnosti ji nacházíme také v nemocnicích, kde působí jako lidský patogen zapříčiňující nozokomiální infekce. Hostiteli jsou imunokompromitovaní pacienti, osoby s různými druhy implantátů a zejména pacienti trpící cystickou fibrózou. Pneumonie

způsobené touto bakterií jsou považovány za velmi nebezpečné. Obzvláště u osob s cystickou fibrózou nepříznivě ovlivňují již tak závažný průběh onemocnění. Přibližně 20 % případů burkholderiové pneumonie navíc doprovází sepse. Antibiotická terapie je problematická vzhledem k atypické citlivosti *Burkholderia cepacia* k antibiotikům a současně vzrůstajícímu počtu multirezistentních kmenů (Govan a kol. 1996). Ostatní lékařsky významné burkholderie, tedy *Burkholderia mallei* a *Burkholderia pseudomallei*, vyvolávají infekce různého typu, včetně infekcí dolních dýchacích cest. Jejich výskyt u nás je však způsoben výhradně zavlečením z tropů a subtropů.

Nejčastějším nozokomiálním patogenem ze skupiny gramnegativních nefermentujících bakterií, ne-li nejčastějším nozokomiálním patogenem vůbec, je bezesporu *Pseudomonas aeruginosa*. Je schopna kontaminovat katétry, roztoky i dýchací přístroje. Způsobuje infekce u jakkoliv oslabených pacientů. Schopnost pseudomonád zapříčinit infekci se týká prakticky všech orgánů těla. K nejzávažnějším patří infekce popálenin, sepse novorozenců, osteomyelitidy a infekce oka (Votava a kol. 2003). *Pseudomonas aeruginosa* bývá také původcem pneumonií, u komunitních nákaz je výskyt pseudomonád menší, dosahuje maximálně 5 % (Arancibia a kol. 2002). Problémem však jsou zejména pneumonie nozokomiálního typu, které dosahují hodnot mortality okolo 60 % (Brewer a kol. 1996).

Acinetobacter baumannii se taxonomicky řadí do čeledi *Moraxellaceae*. Tímto druhem jsou označovány všechny kmeny izolované z lidského klinického materiálu. Je zde však určité riziko, že některé kmeny patří druhu *Acinetobacter calcoaceticus*, jež je fenotypicky nerozlišitelný od kmenů *Acinetobacter baumannii* (Votava a kol. 2003). Infekce acinetobaktery jsou typické u oslabených jedinců v nemocničním prostředí. V posledním desetiletí stoupá také počet případů ventilátorových pneumonií způsobených multirezistentními acinetobaktery. V těchto případech je terapie složitá a vyžaduje individuální testování citlivosti kmenů k jednotlivým antibiotikům (Garnacho-Montero a kol. 2005).

Jako další původce pneumonie z čeledi *Moraxellaceae* se může uplatnit *Moraxella* (podrod *Branhamella*) *catarrhalis*. Jedná se o gramnegativní aerobní koky, nepigmentující a nutričně náročné. Přirozeně sídlí v nosohltanu a některých dalších částech respiračního traktu člověka. U dětí a imunokompromitovaných pacientů se mohou stát oportunním patogenem a zapříčinit plicní onemocnění (Sedláček 2007).

1.4.1.6 Gramnegativní kultivačně náročné aerobní tyčinky

Do skupiny gramnegativních kultivačně náročných aerobních tyčinek řadíme z původců pneumonií bakterie, které jsou na člověka přenášeny ze zvířat. Jedná se tedy o tzv. zoonózy. Schopnost vyvolat pneumonii mají zástupci rodu *Brucella*. Brucely jsou drobní intracelulární parazité, infikující skot, ovce, kozy a jiná zvířata. Onemocnění se u nás nevyskytuje, lze se s ním setkat ve Středomoří a ve východní Asii. Projevy infekce mohou být rozmanité a liší se v závislosti na druhu. Jiným zoonotickým patogenem způsobujícím mimo jiné pneumonii je *Francisella tularensis*. Rezervoárem francisel jsou zejména hlodavci a další volně žijící zvířata, která udržují nákazu v tzv. přírodních ohniscích. Charakter infekce se odvíjí podle místa a způsobu vniku patogena do organismu. Plicní forma tularémie se rozvíjí jako pneumonie po vdechnutí kontaminovaného prachu. Mortalita v těchto případech činí až 30 % (Nester 1998).

Specifické postavení v této skupině má *Legionella pneumophila*. Legionely se nepřenášejí prostřednictvím zvířat, nýbrž kontaminovanou vodou. Vyskytují se celosvětově ve vodách přírodních i odpadních či v nejrůznějších přístrojích obsahujících vodu, včetně klimatizačních zařízení. K přenosu dochází prostřednictvím kontaminovaného aerosolu, jež se dostává do dýchacích cest hostitele. Mezilidský přenos zatím zaznamenán nebyl. Po vstupu do organismu může *Legionella pneumophila* vyvolat dva typy klinických syndromů. Buď se u pacientů rozvine tzv. pontiacká horečka, což je méně závažné chřipkové onemocnění, které do 3 – 5 dnů spontánně odezní. Nebo dochází ke vzniku tzv. legionářské nemoci s výrazně těžším průběhem a nutností rychlého zahájení antibiotické terapie. Pojmeme legionářská nemoc se označuje legionelová pneumonie doprovázená vysokými horečkami, obtížným dýcháním, kašlem, zmateností a fokálním nervovým postižením. Vývoj onemocnění záleží na rychlosti podání a správné volbě antibiotika. U původně zdravých osob se mortalita legionářské nemoci pohybuje okolo 10 %. Pokud se však jedná o pacienta s poruchou imunity, osobu starší či oslabenou jiným základním onemocněním, je pravděpodobnost uzdravení mnohem nižší. Jak již bylo zmíněno, rozhoduje o úspěšnosti léčby rychlost jejího zahájení, která úzce souvisí s průkazem etiologického agens. Ten je však obtížný, jelikož legionely vyžadují speciální podmínky kultivace. Problematická je rovněž dezinfekce přístrojů a zařízení, které legionely kontaminovaly. Tyto bakterie jsou totiž schopny intracelulárního přežívání v amébách přítomných ve vodě a odolávají tak mnohým dezinfekčním prostředkům i vysokým teplotám. Tímto způsobem se může stát, např. klimatizační zařízení, zdrojem šíření nozokomiální legionelové infekce (Greenwood a kol. 1999).

1.4.1.7 Rody *Pasteurella* a *Haemophilus*

Z rodu *Pasteurella* má jako původce pneumonie význam *Pasteurella multocida*. Je to malý gramnegativní fakultativně anaerobní fermentující kokobacil běžně nacházený jako komenzál v orofaryngu zdravých zvířat. Většina lidských infekcí je proto zapříčiněna pokousáním nebo škrábnutím od zvířete. U imunokompromitovaných pacientů se nákaza rozvíjí do systémové infekce s postižením jater. U jinak zdravých pacientů má onemocnění charakter lokální kožní infekce, celulitidy a lymfadenitidy nebo pneumonie. Citlivost k antibiotikům bývá dobrá, lékem volby je penicilin (Murray a kol. 2002).

Zástupci rodu *Haemophilus* způsobují systémová onemocnění u dětí a protahované infekce dýchacích cest u dospělých. Neopouzdřené kmeny hemofilů bývají součástí mikroflóry nosohltanu u zdravých osob až v 80 %. Jako etiologické agens pneumonie bývá z klinického materiálu izolován *Haemophilus influenzae*, jež většinou nasedá na proběhlou virovou infekci. Průběh onemocnění je charakteristický dráždivým kašlem a dušností. Léčba spočívá v podání antibiotik a symptomatické terapii. Vzhledem k vzrůstajícímu počtu hemofilů rezistentních na aminopeniciliny jsou lékem volby u závažných infekcí cefalosporiny III. generace. Důležitými faktory pro uzdravení jsou věk pacienta, lokalizace zánětu a včasná účinná terapie. V případě *Haemophilus influenzae* typu b přichází jako forma prevence v úvahu aktivní imunizace (Bartošová a kol. 2005). Výskyt *Haemophilus parainfluenzae* jako etiologického agens pneumonie je sporný a bývá spojován s kontaminací vyšetřovaného materiálu. Byly však již zaznamenány i případy, kdy byl *Haemophilus parainfluenzae* určen přímo jako patogen zapříčiňující toto onemocnění (Pillai a kol. 2000).

1.4.1.8 Rod *Bacillus*

Bakterie rodu *Bacillus* nejsou typickými původci pneumonií. Za zmínku však stojí druh *Bacillus anthracis*, který v afrických a asijských zemích způsobuje nákazy u lidí vystavujících se blízkému kontaktu se skotem, ovceci a velbloudy. V rozvinutých oblastech světa má antrax význam spíše jako biologická zbraň než jako náhodná nákaza. Rezervoárem patogena jsou výše uvedení býložravci, kteří uvolňují mikroba do prostředí ve velkém množství. Zde dochází následně k tvorbě spor, jež mohou vysoce rezistentní přetrvat desítky let v půdě a prachu. Nákaza je možná proniknutím spor při poranění kůže, požitím kontaminované potravy nebo vdechnutím infekčního prachu. Poslední způsob nákazy je nejzávažnější, rozvíjí se tzv. plicní forma onemocnění. U postižených se objevuje několik dní trvající horečka, únava, bolest svalů, suchý kašel a zvracení. Příznaky se postupem času stupňují, dochází k rozšíření plicního mediastina se zvýšeným množstvím pleurální tekutiny s příměsí krve a k poruchám

dýchání. V této fázi mívá onemocnění charakter pneumonie, ačkoliv se bakterie v plicích a sputu vyskytují pouze v zanedbatelném množství. Rizikem je tak až sekundární pneumonie, a to pouze v případě včasné diagnózy a zahájení léčby, v opačném případě umírají pacienti v 85 % dříve, než se začnou objevovat sekundární komplikace (Drábek a Dubanský 2006).

1.4.1.9 Rod *Mycobacterium*

Z mykobakterií se jako původci zánětů plic uplatňují *Mycobacterium tuberculosis* a komplex *Mycobacterium avium-intracellulare*. *Mycobacterium tuberculosis* je původcem tuberkulózy plic. Incidence tohoto onemocnění je v České republice dlouhodobě nízká (čerpáno z databáze Ústavu zdravotnických informací a statistiky ČR [online], dostupné z WWW: <www.uzis.cz>). Výskyt je možné zaznamenat u starších nemocných osob a u rizikových skupin, jakými jsou bezdomovci, drogově závislí, žadatelé o azyl a osoby v nápravných zařízeních. Rozlišujeme tuberkulózu primární, jež je výsledkem prvního kontaktu hostitele s mykobakteriální infekcí, a tuberkulózu postprimární, která vzniká u osob již senzibilizovaných. U evropské populace je vyvinut určitý stupeň přirozené rezistence, která vede k rychlé lokalizaci a k vyhojení primoinfekce. Pokud však obranyschopnost hostitele není dostačující, dochází ke vzniku tzv. primárního komplexu, odkud se může infekce generalizovat. Běžnými příznaky primární tuberkulózy jsou kašel s přítomností sputa, zvýšená teplota, hubnutí a hemoptýza. K postprimární tuberkulóze dochází superinfekcí nebo reaktivací primární tuberkulózy. Reaktivace latentní infekce je typická pro pacienty s imunosupresí, např. po transplantaci, a pacienty HIV-pozitivní. U těch však může tuberkulóza probíhat atypicky. Terapie spočívá v dlouhodobém podávání antituberkulotik (Ševčík a kol. 2004).

Komplex *Mycobacterium avium-intracellulare* (MAI) zahrnuje druhy *Mycobacterium avium* ssp. *avium*, *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* a *Mycobacterium intracellulare*. Plicní onemocnění člověka způsobují pouze příležitostně, a to zejména u osob se sníženou obranyschopností organismu. Při stanovení terapie je nutné pamatovat na častou rezistenci netuberkulózních mykobakterií k antituberkulotikům (Votava a kol. 2003).

1.4.1.10 Rody *Mycoplasma* a *Chlamydia*

Zástupci rodu *Mycoplasma* jsou bakterie bez rigidní buněčné stěny. Na povrchu buňky obsahují pouze třívrstevnou membránu složenou z lipidů, proteinů a cholesterolu. Rod zahrnuje komenzální i patogenní druhy rostlin, hmyzu i vyšších živočichů, člověka nevyjímaje. Po přenosu kapénkami sekretu napadá *Mycoplasma pneumoniae* buňky

respiračního epitelu vnímavých osob. Bronchopneumonie se vyvine u 3 - 20 % z nich, ostatní infekce probíhají bezpříznakově nebo formou lehkého respiračního onemocnění. U osob s těžkými poruchami imunity mají infekce mykoplazmaty závažný průběh s možným úmrtím během relativně krátké doby. Výskyt *Mycoplasma pneumoniae* je celosvětový. Ročně onemocní pneumonií způsobenou tímto patogenem více než 12 milionů osob. K léčbě se zpravidla užívají tetracyklinová či makrolidová antibiotika (Votava a kol. 2003).

Celosvětově rozšířené jsou také pneumonie chlamydoofilové. Původcem takových onemocnění je obvykle *Chlamydomphila pneumoniae*. Infekce se vyskytuje spíše u starších osob, nejvíce ve věku 55 – 65 let. Nákaza má typický plíživý začátek s bolestí v krku a dráždivým neproduktivním kašlem, teplota přítomna nebývá. Postupně však nákaza přechází v těžkou, život ohrožující pneumonii. U mladých pacientů je průběh onemocnění mírnější, ale po dlouhou dobu přetrvávají potíže jako kašel, zvýšená únava, nevykonnost, bolesti svalů a kloubů. Pneumonická forma onemocnění se může projevit také při infekci *Chlamydomphila psittaci*. Zatímco *Chlamydomphila pneumoniae* se přenáší kapénkovou infekcí nebo mezilidským kontaktem, je *Chlamydomphila psittaci* zvířecím patogenem přenosným na člověka zejména při kontaktu s ptáky. Terapie je shodná s terapií infekcí způsobených mykoplazmaty (Věžník a Pospíšil 1997).

1.4.1.11 Rod *Coxiella*

Mezi vysoce infekční bakterie patří *Coxiella burnetii*. Vyskytuje se u různých divoce žijících savců i ptáků, u klíšťat a jiných členovců. K přenosu na člověka dochází vdechnutím infekčního prachu či aerosolu. Postiženi bývají lidé v blízkém kontaktu se skotem, ovce a kozami, u kterých je možná přítomnost coxiell také v mléce. Onemocnění, označované jako Q-horečka, se tak může stát profesionální nákazou u zemědělských dělníků, střihačů vlny, ale i u pracovníků laboratoří. Infekce probíhá ve dvou formách - akutní a chronické. Akutní forma se vyznačuje přítomností horečky, pneumonie a jaterního poškození. Postižení plic je patrné na rentgenovém snímku, kašlem či přímo vykašláváním hlenu však většinou postižený netrpí. Onemocnění akutní formou zpravidla končí uzdravením. Naopak chronická forma Q-horečky bývá smrtelná až v 65 % případů. Probíhá bez příznaků a ústí v endokarditidu, která bývá zjištěna až po několika letech. K léčbě se využívají tetracyklinová antibiotika (Daneš 2003).

1.4.1.12 Anaerobní bakterie

Otázka, zda mohou být anaerobní bakterie původci pneumonií, není dosud uspokojivě zodpovězena. Podle mnohých autorů jsou na vině anaerobní bakterie jen ve velmi malém množství případů, podle studií je odhadován výskyt přibližně u 1 % nozokomiálních pneumonií (Ševčík a kol. 2004). Z této skupiny bakterií se mohou uplatnit rody *Fusobacterium*, *Bacteroides* či *Peptostreptococcus*, a to vždy jako původci aspirační pneumonie u osob s chronickými záněty dutiny ústní nebo s výskytem abscesů a píštělí v respiračním traktu (Kolek a Kašák 2010).

1.4.2 Viry

1.4.2.1 Pneumoviry

Ze skupiny pneumovirů se jako patogen člověka uplatňuje lidský respirační syncytiální virus (RS-virus). Patří do rodu *Pneumovirus*, podčeledi *Pneumovirinae*, čeledi *Paramyxoviridae*. Pneumoviry jsou obalené RNA-viry s jednořetězcovou nesegmentovanou nukleovou kyselinou negativní polaritě a nukleokapsidou helikální symetrie. Většina nákaz RS-virem postihuje horní dýchací cesty a má charakter běžného nachlazení. Rizikovou skupinou jsou však děti do prvního půl roku života, děti oslabené a naopak osoby starší, u nichž se může viróza rozšířit také do dolních cest dýchacích a způsobit závažné pneumonie. Obraz nachlazení v těchto případech přechází do kašle a sípavého dýchání, objevuje se dyspnoe a cyanóza, těžké případy mohou končit fatálně. Po uzdravení nedochází k úplné obnově respiračního traktu a pacientovi zůstává zhoršená ventilační funkce a sklon ke vzniku bronchiálního astmatu. Průkaz viru, resp. jeho antigenů, se provádí imunofluorescenčně nebo metodou ELISA. Terapie pak spočívá v podpůrné léčbě, doplněné podáváním ribavirinu a pasivní imunizací (Votava a kol. 2003).

1.4.2.2 Viry chřipky

Chřipkové viry čili *Influenzavirus A*, *Influenzavirus B* a *Influenzavirus C* patří do skupiny obalených virů obsahujících jednovláknovou segmentovanou RNA negativní polaritě, s nukleokapsidou helikální symetrie a řadí se do čeledi *Orthomyxoviridae*. Původcem chřipkové pneumonie bývá nejčastěji *Influenzavirus A*. Onemocnění má zpočátku mírný průběh, postupně se však zvyšuje horečka, objevuje se kašel, dyspnoe a cyanóza. Postižené jsou zpravidla osoby se srdečním onemocněním, např. revmatickou mitrální stenózou. Chřipkový zápal plic často končí pro tyto osoby smrtelně, a to již do 48 hodin od výskytu prvních příznaků pneumonie. Případy primární chřipkové pneumonie jsou zaznamenávány

v průběhu druhé a třetí vlny pandemie, mezipandemický výskyt je poměrně vzácný. Naopak po prodělání chřipky často dochází k bakteriální superinfekci, způsobenou zejména pneumokokem nebo stafylokoky. K léčbě primární chřipkové pneumonie se uplatňuje především symptomatická léčba (Beran a Havlík 2005).

V posledních letech vzbuzuje zvýšený zájem vývoj původně patogenního ptačího viru chřipky v plně lidský patogen. Jedná se o specifické subtypy chřipkového viru typu A, zejména H5N1, jež mohou být podkladem pro nový antigenní subtyp viru o stejné patogenitě, ale navíc se schopností šířit se přímo mezi lidmi a vyvolat tak nebezpečnou pandemii. Tzv. ptačí chřipka, která se může vyvinout mimo jiné také v těžkou pneumonii, se od běžné chřipky liší v několika aspektech. Onemocnění způsobuje virus s největším počtem subtypů a variant, zahrnuje široké spektrum ptačích hostitelů, pestré klinické příznaky a možnost alimentární nákazy vedle nákazy respirační. Klinický průběh onemocnění může mít lehčí formu podobnou klasické chřipce, doprovázené konjunktivitidou, ale může se vyvinout také v těžké onemocnění systémového charakteru, zejména se zánětlivým postižením plic, rychlým přechodem do syndromu dechové tísně (ARDS) a častým multiorgánovým selháním. Pokud není léčba zahájena ihned na počátku infekce, je stejně jako u těžkých forem chřipkové pneumonie neúčinná. Pacienti trpící ptačí chřipkou, případně osoby s podezřením, musí být izolováni v ochranném režimu třetího stupně (Tůmová 2008).

V roce 2009 vypukla v Mexiku epidemie mexické (prasečí) chřipky, způsobená subtypem H1N1, schopným mezilidského přenosu. Právě díky této schopnosti došlo během 3 měsíců k celosvětovému rozšíření a vzniku pandemie (Girard a kol. 2010).

1.4.2.3 Adenoviry

Lidské adenoviry jsou celosvětově rozšířené s typickou prevalencí určitých sérotypů v některých oblastech. Jsou přirozeně patogenní pouze pro člověka a představují přibližně 8 % všech hlášených lidských virových nákaz. Patří mezi neobalené viry s dvouvláknitou lineární DNA, jsou odolné vůči vysychání i dalším vnějším vlivům. Největší výskyt adenovirové infekce bývá zaznamenán v populaci do 50 let, časté jsou případy onemocnění malých dětí. Průběh infekce závisí na sérotypu, který hostitele infikoval. Klinický obraz bývá velice pestrý, nákaza může probíhat od asymptomatické až po závažnou s letálním orgánovým postižením. Nejčastěji však vyvolávají adenoviry lehké respirační infekce. Některé sérotypy zapříčiňují vznik střevních nebo očních akutních infekcí. Adenovirové pneumonie se popisují

zvláště u kojenců a malých dětí. Původcem bývají obvykle typy 1, 2, 3 a 7 (Heinz a Hronovský 1991).

1.4.2.4 Koronaviry

Syndrom akutního respiračního selhání, zkráceně SARS, je onemocnění poprvé prokázané v roce 2003 v jihovýchodní Asii, odkud se přes oblasti Číny pandemicky rozšířilo do celého světa. Nákaza s velmi vysokou morbiditou a mortalitou se stala v mnoha zemích impulsem ke změně systému zdravotnického zabezpečení, ke zlepšení připravenosti zdravotnického personálu a k vytvoření nových protiepidemických opatření.

Původcem onemocnění je koronavirus z čeledi *Coronaviridae*, rod *Coronavirus*. Spadá do skupiny obalených virů obsahujících jednovláknovou nesegmentovanou RNA pozitivní polarity, uloženou v nukleokapsidě s helikální symetrií. Dosud známé koronaviry vyvolávaly u člověka pouze mírnou formu postižení, nový koronavirus může v některých případech vyvolat těžké respirační selhání již během 24 hodin od počátku horečky (Prymula a Špliňo 2006). Inkubační doba se pohybuje v rozsahu 2 až 6 dní, poté přichází vysoká horečka a nespecifické příznaky podobné chřipce, suchý kašel a průjem. Náhle vzniká pneumonie s minimálním poslechovým nálezem a rychle vede k dechovému selhání. V současnosti je virus detekován pomocí RT-PCR ze stolice (Beneš 2009). Metoda RT-PCR je založena na reverzní transkripci specifického úseku virové RNA do komplementární DNA, která je následně amplifikována pomocí PCR se dvěma specifickými primery (Šmarda a kol. 2005). V průběhu pandemie SARS bylo nejčastější léčbou podání kombinace ribavirinu a kortikosteroidů. Kortikosteroidy sice snižovaly intenzitu příznaků, avšak po podání ribavirinu se vyskytovaly četné vedlejší příznaky bez výrazného léčebného efektu (Prymula a Špliňo 2006). V léčbě se částečně může uplatnit také interferon α a virus-neutralizační protilátky proti virovému glykoproteinu. Jiné, plně spolehlivé antivirotikum však není k dispozici a důraz je kladen na izolaci nemocných a podezřelých osob, jejich umístění do karantény a zabránění tak epidemickému šíření nemoci (Beneš 2009).

1.4.2.5 Hantaviry

Rod *Hantavirus* z čeledi *Bunyviridae* spadá do skupiny obalených virů s obsahem jednovláknové segmentované RNA negativní polarity, s helikální symetrií nukleokapsidy (Votava a kol. 2003). Přírodním hostitelem hantavirů jsou divoce žijící drobní hlodavci, kteří virus vylučují slinami, stolicí a zejména močí. Nákaza je tak možná kontaminovanou potravou či prachem, případně kontaktem s půdou. Hantaviry způsobují různá onemocnění

odvíjející se od sérotypu původce. Jsou to hemoragická horečka s renálním syndromem (HFRS), epidemická nefropatie (NE) a na jihozápadě USA poprvé zaznamenaný hantavirový plicní syndrom (HPS). Onemocnění HPS probíhá v mnoha případech asymptomaticky jako lehčí až středně těžká infekce. Přibližně u pětiny pacientů je zaznamenán náhlý nástup s horečkou a myalgiemi, zvracením a bolestí břicha. Typickým příznakem je zánět tonzil doprovázený bolestí v krku a pískáním v uších. Může se objevit krvácení z nosu, dásní a míst po vpichu jehly. U těžkých infekcí se rozvíjí intersticiální pneumonie s výskytem plicního edému, následuje plicní insuficience a rozvoj smrtelného šoku (Bednář a kol. 1996). Virus se diagnostikuje přímou izolací na tkáňových kulturách. Terapie spočívá v symptomatické léčbě, antivirotické látky jsou zatím zkoušeny pouze experimentálně (Beneš 2009).

1.4.3 Mikromycety

1.4.3.1 Rod *Candida*

Kvasinky rodu *Candida* za normálních okolností kolonizují zažívací trakt a další tělní dutiny. Například záchyt kandid z orofaryngu zdravých jedinců se pohybuje mezi 25 – 50 %. Kolonizace kandidami roste u hospitalizovaných pacientů a u pacientů jakkoliv oslabených, u kterých také kandidy vyvolávají invazivní plicní onemocnění. Právě z důvodu častého výskytu kvasinek jako součást běžné mikroflóry a jejich přítomnosti v nemocničním prostředí je izolace kandid v klinickém materiálu u imunokompetentních pacientů považována za kontaminaci vzorku. U imunokompromitovaných jedinců se kandidóza stává vážným problémem, kterému je nutné věnovat pozornost. Obvykle rozlišujeme primární a sekundární onemocnění. Primární kandidová pneumonie je infekce omezená pouze na plíce. Vzniká nejčastěji aspirací kontaminovaného obsahu. Sekundární kandidová pneumonie zahrnuje plicní postižení při generalizované kandidóze. Vzniká hematogenní diseminací a bývá charakteristická celkovým těžkým stavem pacienta. Za oba typy pneumonie bývá nejčastěji zodpovědná *Candida albicans*. U dospělých jsou dále vyvolávajícím agens *Candida tropicalis* a *Candida glabrata*, u novorozenců pak *Candida parapsilosis* a *Candida krusei* u pacientů po transplantaci kostní dřeně. Diagnóza kandidové pneumonie in vivo je obtížná z důvodu nedostatečné senzitivity většiny dostupných metod (Musil a kol. 2005).

1.4.3.2 Rod *Aspergillus*

Plicní aspergilózy bývají vyvolány nejčastěji druhy *Aspergillus fumigatus*, méně často pak druhy *Aspergillus niger* a *Aspergillus flavus*. Mycelium je tvořeno septovanými hyfami s charakteristickým větvením. K infekci dochází vdechnutím konidií. U imunokompetentních

pacientů se tvoří aspergilom, který bývá dlouho asymptomatický. Pokud se vyskytnou komplikace, je zpravidla nutná chirurgická resekce aspergilomu, jelikož systémová antimykotická léčba je neúčinná. V případě imunokompromitovaných pacientů je nejzávažnějším aspergilovým onemocněním invazivní bronchopulmonální aspergilóza. Její výskyt je zaznamenáván u pacientů po transplantacích kostní dřeně, jater, plic a srdce. Diagnostika je obtížná, protože onemocnění nemá typický klinický ani rentgenový obraz. Stejně tak kultivace a jiné metody průkazu etiologického agens nebývají úspěšné. Lékem volby je amfotericin B, případně jeho kombinace s flucytosinem (Musil a kol. 2005).

1.4.3.3 *Pneumocystis jiroveci*

Pneumocystis jiroveci, dříve *Pneumocystis carinii*, je původcem pneumocystových pneumonií. Onemocnění je typické u pacientů HIV-pozitivních, u kterých způsobuje až 25 % úmrtí. U ostatních imunokompromitovaných jedinců se jedná většinou o reaktivaci latentní infekce. Symptomy onemocnění jsou teplota, pocení, úbytek na hmotnosti, neproduktivní kašel, námahová dušnost či tachypnoe. Poslechový nález je normální, snímek hrudníku naopak patologický v 90 % případů. Poměrně spolehlivě lze diagnostikovat pneumocystovou pneumonii na základě průkazu pneumocyst pomocí monoklonálních protilátek a PCR. V terapii se používají kotrimoxazol ve vysoké dávce nebo pentamidin (Musil a kol. 2005).

1.4.4 Ostatní eukaryotické organismy

Kromě uvedených bakteriálních, virových či mykotických původců pneumonie se můžeme ojediněle setkat také s parazitárními původci pneumonie z řad eukaryotických organismů. Jedná se především o zástupce dříve označované jako protozoární, případně o zástupce skupiny helmintů. Parazitární onemocnění projevující se pneumonií je typické zejména pro tropické oblasti. Zde se můžeme setkat s infekcí či infestací druhů jako *Leishmania donovani*, *Paragonimus westermani*, *Wucherechia bancrofti*, *Ancylostoma duodenale*, *Schistosoma mansoni*, *Echinococcus granulosus* nebo *Strongyloides stercoralis*. V našem pásmu připadá v úvahu pouze omezený okruh parazitů postihujících téměř výhradně osoby s poruchami imunitního systému. Za zmínku stojí *Toxoplasma gondii*, *Entamoeba histolytica* a některé druhy škrkavek (Ševčík a kol. 2004).

1.5 Diagnostika

1.5.1 Anamnéza, fyzikální a laboratorní vyšetření

Stanovení správné diagnózy je úkolem ošetřujícího lékaře, který tak činí na základě výsledků vyšetření získaných od nejrůznějších specialistů a na základě vlastního uvážení. Problematika stanovení diagnózy zánětu plic je velice rozsáhlá a v následujícím textu je uveden pouze její stručný přehled.

Vyšetření směřující k diagnóze pneumonie sestává z několika kroků. Základem je důkladně provedená anamnéza. Její důležitost hraje roli zejména v případech, kdy původcem nemoci je atypické agens. U pacientů se nejčastěji objevuje rýma, kašel, třesavka, zvýšená teplota, pleurální bolest a bolest svalů. Podstatné je zhodnocení věku pacienta, přítomnosti dalších onemocnění, užívání léků a výskytu faktorů souvisejících se vznikem pneumonie, jako jsou kouření, alkoholismus či nedostatečná hygiena (Ševčík a kol. 2004).

Fyzikální vyšetření by mělo být zaměřeno na sledování dechové frekvence, srdečního rytmu, hodnoty krevního tlaku a teploty. Při poslechu bývají na hrudníku slyšitelné přízvučné chrůpky a dýchání s vedlejšími vlhkými fenomény, případně je přítomen pleurální výpotek (Klener 2006).

K lokalizaci a stanovení rozsahu změn v plicích se primárně využívá skiografie hrudníku. Při infekci a poškození dochází ke snížení transparence plicní tkáně způsobené snížením její vzdušnosti, což se na snímcích projeví zastíněním. Pokud je nález nejednoznačný lze vyšetření doplnit o metodu výpočetní tomografie (Ševčík a kol. 2004).

Součástí diagnostiky pneumonie jsou také laboratorní testy. K typickým nálezům patří zvýšená sedimentace, pokles trombocytů a leukocytóza s posunem doleva. U neutropenických pacientů je naopak nápadné snížení počtu leukocytů. Dalšími ukazateli případné pneumonie mohou být hodnota C-reaktivního proteinu, zvýšené hodnoty jaterních testů, zvýšení hodnot urey a změna acidobazické rovnováhy. K určení etiologického agens slouží výhradně mikrobiologické laboratorní vyšetření (Klener 2006).

1.5.2 Mikrobiologická diagnostika

1.5.2.1 Odběr materiálu

Na základě důkladného vyšetření a provedené anamnézy zvolí lékař typ klinického materiálu, který bude k mikrobiologickému vyšetření odebrán. Mezi nejčastější způsoby diagnostiky plicního patogena patří vyšetření sputa. Odběr sputa je vhodné provést před zahájením antimikrobiální léčby a při neúspěchu prvního antibiotika. Sputum by mělo být zpracováno do 4 hodin od odběru. Při transportu trvajícím delší dobu klesá prokazatelnost etiologického agens o 50 – 75 % (Ševčík a kol. 2004).

Méně spolehlivé, přesto však velmi často prováděné, jsou výtěry laryngu, výtěry dutiny ústní a nosní. Metoda je snadná, rychlá a nenákladná, zachycené mikroorganismy ale nemusí odpovídat situaci v dolních dýchacích cestách. Materiál bývá také mnohdy kontaminován běžnou ústní mikroflórou (Kašák a Koblížek 2008).

U intubovaných nebo tracheostomovaných pacientů lze získat odběrový materiál endotracheálním odsátím. Variantou je také transtracheální punkce u pacientů neintubovaných. Výhodou tohoto typu vyšetření je získání materiálu, který není kontaminován orofaryngeálním obsahem, včetně mikroflóry. Zároveň se jedná o poměrně přesné vyšetření. Naopak nevýhodou je špatná proveditelnost u pacientů nespolupracujících, hypoxických a pacientů s rizikem zvýšeného krvácení (Ševčík a kol. 2004).

Při podezření na bakteriemi a u hospitalizovaných pacientů při vzestupu teploty a vzniku třesavky se provádí odběr krve na hemokulturu. Krev je odebírána třikrát před zahájením antibiotické léčby. Pokud je vývoj léčby nepříznivý, odebírá se krev opakovaně i v průběhu léčby antibiotiky (Kašák a Koblížek 2008). Předpokládá-li se průkaz antigenů *Streptococcus pneumoniae* či antigenů *Legionella pneumophila*, je odebírána také moč (Ševčík a kol. 2004).

V případě selhávání léčby a nelepšení se stavu pacienta lze přikročit k invazivním typům vyšetření. Z nich převažují bronchoskopické odběry materiálu, které se vyznačují vysokou senzitivitou a specificitou. Klinický materiál lze získat bronchiálním výplachem, bronchoalveolární laváží (BAL), chráněnou bronchoalveolární laváží (P-BAL) nebo tzv. mini bronchoalveolární laváží (mini-BAL).

Bronchiální výplach se provádí napuštěním malého množství fyziologického roztoku do části bronchiálního stromu, odkud je zpětně nasáván pomocí stříkačky nebo odsávačky a

bronchoskopu. Získaný materiál lze použít k cytologickému i mikrobiologickému vyšetření (Ševčík a kol. 2004).

Bronchoalveolární laváž (BAL), případně její varianty, mají pro stanovení etiologického agens u nemocných s neúspěšně léčenou pneumonií zásadní význam. Jedná se o metodu umožňující odběr buněčné i nebuněčné složky z dolních dýchacích cest a alveolů. BAL provádíme z oblasti bronchiálního stromu, která ventiluje nejvíce postiženou oblast plic. K provedení se používá fyziologický roztok ohřátý na 37 °C o objemu 150 ml a více, který se vstříkuje po objemech 20 – 50 ml rychlostí přibližně 5 ml za sekundu. Každá tato část roztoku je s malou prodlevou aspirována zpět, tím získáváme tzv. bronchoalveolární tekutinu (BAT), která je dále vyšetřována laboratorně. Transport je nutné provést ihned po odběru, nejlépe ve zkumavce v polystyrenové přepravce s ledem. Provedení BAL je kontraindikováno u pacientů se zvýšenými krvácivými projevy, čerstvým infarktem myokardu, nedávno vzniklými poruchami srdečního rytmu a u pacientů hypoxemických, i přes inhalaci kyslíku. Chráněná BAL je prováděná speciálním dvouluminálním katétrem s balónkem, mini-BAL se od klasické BAL liší menším množstvím použitého fyziologického roztoku (Ševčík a kol. 2004).

Jelikož se ve všech případech jedná o poměrně velký zásah do pacientova organismu, je nutné potřebu vyšetření pečlivě zvážit. Při každém bronchoskopickém odběru může dojít k poškození vyšetřované osoby a následnému zhoršení zdravotního stavu. Uvedené metody jsou navíc nákladné, pokud však vedou k úspěšné léčbě, nedosahují náklady na diagnostiku ani zdaleka nákladů spojených se zdlouhavou a špatně zvolenou antibiotickou léčbou (Ševčík a kol. 2004).

1.5.2.2 Přímý průkaz mikrobiálních agens

K přímému průkazu mikroba nebo jeho složek v odebraném materiálu se provádí mikroskopie, kultivace s následnou identifikací a průkaz antigenů či nukleových kyselin ve vzorku.

K základním postupům při mikroskopickém vyšetření patří obarvení vzorku dle Grama. Jedná se o postup poměrně specifický a spolehlivý, navíc časově a ekonomicky nenáročný. Takto je možné vyšetřit jakýkoliv materiál, ze kterého lze připravit nátěr na podložním skle, to znamená stěry z dutiny ústní a krku, sputum, endotracheální aspirát i bronchoalveolární tekutinu. Z ostatních barvicích postupů se používají barvení dle Giemsy, na acidorezistentní tyčinky, na houby nebo na virové inkluze. V úvahu připadají také fluorescenční barviva.

Kultivační postupy zajišťují při správném dodržování podmínek odběru a transportu materiálu zachycení většiny běžně se vyskytujících původců pneumonií. K vyšetření často stačí kvalitní krevní agar a vhodné kultivační podmínky. Doba kultivace se pohybuje mezi 24 a 48 hodinami a provádí se většinou při teplotě 37 °C. Speciální požadavek je nutné zadat při vyšetření na anaeroby, legionely, mykobakteria, mykoplazmata, chlamydofilny, coxiely a pomalu rostoucí mikromycety. Vzorokly z respiračního traktu se běžně na tyto patogeny nevyšetřují a je potřeba o vyšetření zažádat zvlášť. Kultivace anaerobů je indikována v případech přítomnosti pleurálního výpotku hnisavého charakteru nebo hnisavého plicního abscesu. U akutně zaintubovaných pacientů se však neprovádí. Pokud je vyšetřován pacient s těžkou komunitní pneumonií, doporučuje se kultivační vyšetření na legionely, doplněné o průkaz antigenů *Legionella pneumophila* v moči. Kultivace mykoplazmat a chlamydií je obtížná a proto se ve většině laboratoří přistupuje spíše k sérologické diagnostice a k polymerázové řetězové reakci (Ševčík a kol. 2004).

Kultivační vyšetření mykotických organismů se provádí na speciálních půdách, nejčastěji na Sabouraudově glukózovém agaru. Záchyt lze zvýšit v kultivačních podmínkách odpovídajících místu infekce, tedy zejména zvýšením kultivační teploty a zajištěním mikroaerofilního prostředí. Kultivace mikromycet trvá déle než kultivace bakteriální, a to podle druhu 1 až 14 dní. Právě z důvodu prodloužené doby kultivace je potřeba v maximální možné míře zajistit aseptické podmínky při odběru a transportu materiálu (Cetkovský a Kouba 2009).

Virologická kultivace se provádí na tkáňových kulturách. Za nejvhodnější materiál pro určení původce pneumonie je považována bronchoalveolární tekutina, dopravená do laboratoře na tajícím ledu. Nevýhodou vyšetření na tkáňových kulturách je jeho dlouhé trvání. Výsledky kultivace jsou známy nejdříve za 14 dní. Většina virologických laboratoří však dnes již používá metodu urychlené kultivace, tzv. *shell vial culture* (Ševčík a kol. 2004). Metoda spočívá v centrifugaci nakažených buněk, jejich krátké kultivaci a následné detekci virových antigenů pomocí fluoresceinem značených monoklonálních protilátek. Díky tomuto postupu se doba vyšetření zkrátí na 24 hodin (Matthey a kol. 1992).

K relativně novým identifikačním postupům patří průkaz mikrobiálních antigenů a nukleových kyselin. Pro průkaz antigenů se používají aglutinace na nosičích, imunoenzymatické a imunofluorescenční metody. Většinou se detekují legionelové a pneumokokové antigeny, z virů pak nejčastěji cytomegalovirus, viry chřipky a adenoviry.

Zvláštní postavení má průkaz antigenů v diagnostice mykóz. V současnosti se využívá zejména detekce aspergilového galaktomananu a (1,3)- β -D-glukanu u onkologických pacientů. Metodou ELISA lze prokázat např. aspergilovou infekci již v její časně fázi, tj. ještě před manifestací prvních klinických příznaků a zahájením včasné léčby tak zvýšit pacientovy šance na přežití. V případě kandidóz je citlivost vyšetření nižší a doporučuje se kombinace s polymerázovou řetězovou reakcí (PCR) nebo průkazem protilátek. Nukleovou kyselinu původce lze prokazovat pomocí molekulárně biologických technik. Nejčastěji používanou metodou je již zmiňovaná PCR, která je velmi citlivá, dostupná a rychlá. Používá se v případech, kdy původce nelze pěstovat in vitro, ale také ke screeningu. Problémem je však standardizace metodologie a reprodukovatelnost výsledků v případě, že laboratoř nepoužívá systém kontrol (Cetkovský a Kouba 2009). Největší význam v diagnostice pneumonie má v současnosti PCR při detekci *Pneumocystis jiroveci*, kdy se jeví citlivější oproti imunofluorescenci (Ševčík a kol. 2004).

1.5.2.3 Nepřímý průkaz mikrobiálních agens

Podobně jako při nepřímém průkazu dalších onemocnění je i u pneumonie signifikantní nález alespoň čtyřnásobného vzestupu titru protilátek mezi vzorky odebranými v rozestupu minimálně 10 dnů. K vyšetření se používá nejčastěji pacientovo sérum. Samotný nález protilátek v něm může být užitečný v případech, kdy jsou prokázány jiné protilátky než třídy IgG. Nález protilátek třídy IgM nebo IgA obvykle ukazuje na čerstvou infekci, jejich nepřítomnost ale infekci vyloučit nemůže. Podobnou funkci v diagnostice pneumonie mohou plnit také nízkoavidní protilátky třídy IgG. Jejich nepřítomnost sice může ranou infekci poměrně spolehlivě vyloučit, avšak jejich přítomnost může být detekována i v pozdních fázích infekce. Lze tedy určit, zda infekce přítomna je nebo není, nelze ale spolehlivě říci, jak dlouhá doba od začátku infekce uplynula. Sérologická vyšetření zůstávají stěžejní diagnostickou metodou u zánětů plic vyvolaných viry, mykoplazmaty a chlamydofilami, kdy je vyšetření možné doplnit komplementfixační reakcí (Ševčík a kol. 2004).

1.6 Léčba a prevence pneumonií

1.6.1 Léčba pneumonií

Základem léčby pneumonie je léčba antibiotická, kterou je potřeba zahájit co nejdříve při naléhavém podezření na pneumonii na bázi klinického a rentgenového vyšetření. Právě

z důvodu potřeby rychlého zahájení léčby nelze vyčkávat na výsledky kultivačního či jiného mikrobiologického vyšetření. Ty v tomto případě slouží k dodatečné úpravě léčby nebo při selhání léčby původní. Lékař v první fázi volby antibiotika musí brát v úvahu způsob podávání, toleranci a možnou alergii pacienta. Zpravidla se drží obecně platných schémat předepisování antibiotik podle typu pneumonie a aktuálního stavu pacienta (Ševčík a kol. 2004).

Antibiotická terapie komunitních pneumonií se odvíjí od rozhodnutí lékaře, zda onemocnění jeví známky běžné komunitní pneumonie, zda se jedná o rizikového pacienta a zda bude léčen ambulantně či bude hospitalizován. V případě ambulantní empirické léčby u nerizikových pacientů je lékem volby amoxicilin, následovaný v druhé řadě makrolidovým antibiotikem nebo doxycyklinem. U rizikových pacientů, tedy osob starších či s komorbiditou, je doporučována kombinace makrolidů a penicilinů s inhibitory beta-laktamas nebo cefalosporinů II. generace. Hospitalizovaní pacienti s těžkou komunitní pneumonií by měli být léčeni kombinací makrolidů a cefalosporinů III. generace. Pokud existuje podezření na pseudomonádovou infekci, je nutné podání antipseudomonádových beta-laktamů, tj. piperacilinu s tazobactamem (Kolek a kol. 2011). Důkazem nedodržování doporučených postupů při volbě antibiotické terapie a nevhodného předepisování antibiotik při banální či virové infekci je signifikantní vzestup počtu rezistentních kmenů *Streptococcus pneumoniae* a *Streptococcus pyogenes* k makrolidům, zatímco počet kmenů rezistentních k penicilinovým antibiotikům tak rychle neroste (Urbášková a Žemličková 2011).

Podobně jako je tomu u komunitních pneumonií, tak i v případě pneumonií nozokomiálních existuje snaha vyvarovat se zbytečnému vzniku nebezpečných rezistentních kmenů. Vzhledem ke komplikovaným případům nozokomiálních pneumonií a jejich závažnosti je správná volba antibiotika velice náročná, navíc je podmíněna typem onemocnění a celkovým stavem pacienta. Z těchto důvodů není možné jednoznačně definovat univerzální postup antibiotické terapie. Nicméně nejčastěji je v případě závažných nozokomiálních pneumonií doporučováno podání piperacilinu s tazobactamem, případně karbapenemů (Kolář 2007). V poslední době se však v České republice začínají objevovat kmeny vysoce multirezistentní. V souvislosti s léčbou nozokomiálních infekcí je nejvýznamnějším typem rezistence produkce karbapenemáz schopných hydrolyzovat většinu beta-laktamových antibiotik, včetně karbapenemů. Jedná se o producenty zejména z čeledi *Enterobacteriaceae* a dále rodů *Pseudomonas* a *Acinetobacter* (Žemličková a Hrabák 2011).

Specifická léčba je pak nutná také u pacientů s imunosupresí, u kterých je potřeba vzít v úvahu i možnou etiologickou účast mikromycet a doplnit léčbu o antimykotika. Antibiotická terapie se v případech pneumocystové pneumonie rozšiřuje o kotrimoxazol (Kolář 2000). K užívaným antimykotikům s širokým spektrem účinku patří polyenový amfotericin B, předepisovaný při léčbě závažných aspergilóz a kandidóz. Jeho podání však mohou doprovázet projevy nesnášenlivosti, jako jsou horečka, třesavka, bolesti kloubů, svalů a hlavy, nevolnost a zvracení. Z azolových antimykotik jsou k léčbě většinou doporučovány imidazolové deriváty a triazoly (Ševčík 2004).

1.6.2 Prevence pneumonií

Tak jako je tomu u jiných onemocnění, i pneumoniím je lepší předcházet, než je léčit. Preventivní opatření v případě komunitní pneumonie záleží především na vůli samotných jedinců a jejich snaze onemocnění předejít. Za základ prevence jsou považovány změny v životních návycích populace, zejména ukončení kouření a nadměrného požívání alkoholu. Význam hraje také dostatečná hygiena a jiné sociálně ekonomické faktory. U osob starších 65 let se doporučuje očkování proti chřipce a aplikace polyvalentní pneumokokové vakcíny. Očkování jsou vhodná také pro rizikové skupiny pacientů, jako jsou lidé s chronickým onemocněním plic, srdce a ledvin a dále nemocní umístění v LDN nebo osoby v domovech důchodců (Pauk 2006). Další možnosti použití vakcinace proti konkrétním agens již byly uvedeny v přehledu jednotlivých původců pneumonií.

Prevence nozokomiálních pneumonií naopak spočívá v zodpovědnosti a informovanosti nemocničního personálu. Preventivní opatření by měla zahrnovat mikrobiální surveillance, aby bylo možné hodnotit úroveň a úspěšnost hygienických opatření na příslušném oddělení, rozlišit nozokomiální infekci způsobenou selháním hygienicko-epidemiologického režimu od primárních endogenních infekcí a identifikovat potenciální epidemiologické problémy (Ševčík a kol. 2004). Nezbytným opatřením je také udržování zdravotnického vybavení a techniky, výměny ventilačních okruhů v pravidelných časových intervalech, používání antibakteriálních filtrů, důsledné dodržování postupů sterilizace a dezinfekce (Ševčík 1997). Profylaxe systémovými antibiotiky je považována za rizikový faktor vzniku ventilátorové pneumonie a její aplikace se nedoporučuje. Výjimkou jsou febrilní neutropeničtí pacienti, pacienti v intenzivním chemoterapeutickém režimu a nemocní po orgánových transplantacích (Ševčík 2004).

2 CÍL PRÁCE

Cílem práce je charakterizace různých druhů mikroorganismů izolovaných z klinického materiálu při diagnóze pneumonie nebo jejím podezření. Uvedený cíl práce lze rozdělit do následujících bodů:

1. Identifikace mikroorganismu izolovaného jako původce pneumonie z klinického materiálu.
2. Stanovení citlivosti kmenů k antibiotikům.
3. Průkaz tvorby širokospektrých beta-laktamas (ESBL) a beta-laktamas typu AmpC.
4. Určení typu pneumonie podle epidemiologické klasifikace.
5. Zhodnocení výskytu jednotlivých typů pneumonií vzhledem k pohlaví, věku a oddělení (v případě hospitalizace pacienta) a porovnání s výsledky obdobných evropských studií.

3 MATERIÁL A METODY

1.7 Použité mikroorganismy

Do studie byly zařazeny bakteriální a mykotické kmeny izolované z klinického materiálu pacientů, kterým ošetřující lékař na základě fyzikálního vyšetření a anamnézy diagnostikoval jakýkoliv typ infekční pneumonie, případně byla pneumonie diagnostikována na základě konzultace lékaře mikrobiologa.

Klinický materiál byl získáván standardně provedenými odběry. Podle charakteru onemocnění a stavu pacienta byly vyšetřovány výtěr z dutiny ústní, stěr z dutiny nosní, výtěr z krku, sputum, endotracheální aspirát a bronchoalveolární tekutina. Všechn materiál byl zpracováván v mikrobiologické laboratoři Mikrobiologického ústavu Fakultní nemocnice u sv. Anny odborným personálem. Vyšetřené izoláty byly následně poskytnuty k zařazení do studie a k dalšímu zpracování.

Izoláty pocházely od pacientů hospitalizovaných na I. interní kardioangiologické klinice (I.IKAK), II. interní klinice (II.IK), I. chirurgické klinice (I.CHK), Anesteziologicko-resuscitační klinice (ARK) a z komunity, tj. z různých ambulancí.

Kontrolní identifikace izolátů se prováděla u dobře kultivovatelných bakterií a mikromycet. U mikroorganismů obtížně kultivovatelných nebo těch, jejichž kultivace vyžaduje speciální a nákladné prostředky, nebyla identifikace opakována a byl využit výsledek již provedené laboratorní identifikace. Anaerobní mikroorganismy a viry nebyly do studie zahrnuty.

Sběr izolátů probíhal v období od října 2009 do dubna 2011. Během tohoto období došlo u několika pacientů k recidivě onemocnění, často způsobené jiným druhem patogena, proto byli zmínění pacienti zařazeni do studie vícekrát.

1.8 Kultivační média a roztoky

Krevní agar

Columbia blood agar base (44 g), Imuna, SR
destilovaná voda (1000 ml)
defibrilovaná beraní krev

Krevní agar s 10% NaCl

Columbia blood agar base (44 g)
destilovaná voda (1000 ml)
defibrilovaná beraní krev
NaCl (10 %)

Mueller-Hinton agar

hovězí extrakt z 300g
kvasinkový hydrolyzát (17,5 g/l)
škrob (1,5 g/l)
agar (17 g/l)
destilovaná voda (1000 ml)

Mueller-Hinton agar s krví

hovězí extrakt z 300g
kvasinkový hydrolyzát (17,5 g/l)
škrob (1,5 g/l)
agar (17 g/l)
destilovaná voda (1000 ml)
defibrilovaná beraní krev (5 %)

Mueller-Hinton agar s oxacilinem

hovězí extrakt z 300g
kvasinkový hydrolyzát (17,5 g/l)
škrob (1,5 g/l)
agar (17 g/l)
destilovaná voda (1000 ml)
oxacilin (128 mg/l)

Slanetz-Bartley agar (SB5)

tryptóza (20 g/l)
kvasničný extrakt (5 g/l)
glukóza (2 g/l)
hydrogenfosforečnan draselný (4 g/l)
azid sodný (0,4 g/l)
trifenyltetrazoliumchlorid (0,1 g/l)
agar (15 g/l)
destilovaná voda (1000 ml)

HTM agar (Haemophilus Test Medium)

Mueller-Hinton agar (38 g/l)
Kvasnicový extrakt (5 g/l)
Destilovaná voda (1000 ml)
Suplement SR158E (2 ks)
Lyzované koňské krvinky (30 ml)

UriSelect 4

UriSelect 4 směs (56,8 g/l), BioRad, USA
destilovaná voda (1000 ml)

CandiSelect 4, BioRad, USA

Detekční proužky **OXitest**, PLIVA-Lachema, ČR

Identifikační souprava **ENTEROtest 16**, včetně činidel, PLIVA-Lachema, ČR

Peroxid vodíku 3%

Parafinový olej sterilizovaný

Fyziologický roztok (NaCl 8,5 g, destilovaná voda 1000 ml)

1.9 Antibiotika, antimykotika a růstové faktory

amikacin (AK), 30 µg

bacitracin (A), 0.04 j.

amoxicilin/klavulanát (AMC), 20/10 µg

cefaclen (CL), 30 µg

ampicilin (AMP), 10 µg

cefalotin (KF), 30 µg

azithromycin (AZM), 15 µg

cefepim (FEP), 30 µg

aztreonam (ATM), 30 µg

cefoperazon (CFP), 75 µg

cefoperazon/sulbactam (SCF), 75/10 µg	teicoplanin (TEC), 30 µg
cefotaxim (CTX), 30 µg	tigecyklin (TGC), 15 µg
cefoxitin (FOX), 30 µg	vankomycin (VA), 30 µg
ceftazidim (CAZ), 30 µg	
cefuroxim (CXM), 30 µg	amphotericin B (AMB), 50 µg
ciprofloxacin (CIP), 5 µg	flukonazol (FLU), 25 µg
clindamycin (DA), 2 µg	itrakonazol (ITR), 30 µg
colistin (CT), 10 µg	ketokonazol (KET), 30 µg
doxycyklin (DO), 30 µg	
erythromycin (E), 15 µg	optochin (O), 5 µg
gentamicin (CN), 10 µg	růstový faktor X (hemin)
gentamicin 120 (CN120)	růstový faktor V (NAD)
chloramphenicol (C), 30 µg	růstové faktory X+V (hemon +NAD)
imipenem (IMP), 10 µg	
kys.oxolinová (OA), 30 µg	
linezolid (LZD), 30 µg	
meronem (MEM), 10 µg	
ofloxacin (OFL), 5 µg	
oxacilin (OX), 1 µg	
penicilin (P), 10 J	
piperacilin/tazobactam (TZP), 100/10 µg	
rifampicin (RD), 5 µg	
sulfamethoxazol/trimethoprim (SXT), 25 µg	

1.10 Přístroje a ostatní pomůcky

mikrobiologické kličky

kahan

skleněné zkumavky

stojan na zkumavky

podložní skla

sterilní vatové tampony

posuvné měřítko

mikropipeta (100 µl), Biohit, FIN

sterilní špičky, Biohit, FIN

denzimetr Densi-La-Meter, PLIVA-Lachema, ČR

dispenzory

komorový termostat

termostat s regulovatelnou hladinou CO₂

1.11 Metody

1.11.1 Identifikace streptokoků

Vyšetřované kmeny byly rozočkovány sterilní kličkou na Petriho misky o průměru 90 mm s krevním agarem. Narostlé kultury byly ověřeny katalázovým a oxidázovým testem, které mají být u streptokoků negativní. Katalázový test byl prováděn odebráním kolonie kličkou a přenesením na podložní sklo, kde byla přidána kapka 3% peroxidu vodíku. Reakce bez tvorby bublinek a šumění byla stanovena jako negativní. Oxidázový test byl prováděn pomocí diagnostického proužku, který byl přitisknut na kolonii a následně odložen do Petriho misky otištěnou stranou nahoru. Test je považován za negativní, pokud ani po 2 minutách nedojde ke změně barvy proužku domodra.

Na základě typu vytvořené hemolýzy na krevním agaru byly vyšetřované kmeny rozděleny na kmeny viridující a kmeny β -hemolytické. U viridujících streptokoků byl proveden optochinový test, jehož pozitivita měla identifikovat kmeny *Streptococcus pneumoniae*. Sterilní kličkou byla odebrána kolonie vyšetřovaného kmene a roztěrem inokulována na Petriho misku s krevním agarem, následně byl na roztěr kultury pomocí sterilní jehly položen disk napuštěný optochinem. Petriho miska se inkubovala po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C v komorovém termostatu. U kmenů *Streptococcus pneumoniae* se během inkubace vytvořila okolo disku s optochinem inhibiční zóna, svědčící pro citlivost kmene, a tedy pozitivitu testu.

Streptokoky vykazující β -hemolýzu byly podrobeny bacitracinovému testu na podobném principu jako je test optochinový. Postup byl naprosto stejný, ovšem místo disku s optochinem byl na kulturu položen bacitracinový antibiotický disk. Pozitivitu testu, vytvořením inhibiční zóny okolo disku, vykazovaly kmeny *Streptococcus pyogenes*. Rozlišení mezi kmeny *Streptococcus agalactiae* a ostatními streptokoky se neprovádělo, nýbrž se vycházelo z výsledků identifikace laboratoře.

1.11.2 Identifikace stafylokoků

Stafylokokové kmeny byly pro kontrolu identifikace naočkovány na Petriho misky o průměru 90 mm s obsahem krevního agaru s 10% NaCl, na němž jsou schopny růstu právě pouze stafylokoky. Kmeny byly dále ověřeny katalázovým a oxidázovým testem, které byly provedeny stejným způsobem jako při identifikaci streptokoků. Stafylokoky vykazují pozitivní katalázovou reakci a negativní reakci oxidázovou. Průkaz plazmakoagulázy se neprováděl. Rozlišení na kmeny *Staphylococcus aureus* a koaguláza negativní stafylokoky se odvíjelo na základě identifikace laboratoře. U kmenů *Staphylococcus aureus* byl při následném určení antibiotické rezistence kladen zvláštní důraz na přítomnost rezistence kmene k oxacilinu, na jehož základě byl kmen označen jako MRSA.

1.11.3 Identifikace enterobakterií

Kontrola identifikace enterobakterií byla založena na kultivaci na neselektivním chromogenním médiu UriSelect4 a na výsledku biochemických testů v identifikační sadě ENTEROtest 16.

Na médium UriSelect4 připravené v Petriho miskách o průměru 90 mm byly sterilní kličkou rozočkovány v dostatečné vzdálenosti kolonie 3 až 4 vyšetřovaných kmenů.

Rozočkování bylo provedeno roztěrem tak, aby bylo možné identifikovat samostatné kolonie. Takto připravené Petriho misky byly umístěny do komorového termostatu a inkubovány 24 hodin při teplotě 37 °C. Hodnotilo se zbarvení kolonií v porovnání se vzorovou tabulí dodávanou výrobcem. Kmeny, které nebylo možné určit na úroveň druhu, případně vůbec, byly dále podrobeny biochemickým testům.

Z vyšetřované kultury na médiu UriSelect 4 byla sterilní kličkou odebrána kolonie a pomocí denzimetru z ní připravena suspenze ve fyziologickém roztoku o hustotě buněk přibližně 3×10^8 CFU/ml, tj. odpovídající zákalovému standardu 1 dle McFarlanda, jak vyžaduje výrobce identifikační sady. Suspenze byla napipetována mikropipetou se sterilní špičkou do 16 jamek mikrodestičky, 100 μ l suspenze do každé jamky. Suspenze v prvních 5 jamkách prvního řádku mikrodestičky byla překryta vrstvou sterilního parafinového oleje. Zbytek suspenze byl podroben papírkovému ONPtestu a společně s mikrodestičkou inkubován v komorovém termostatu 24 hodin při teplotě 37 °C. Po inkubaci byly pro dokončení biochemických reakcí doplněny do 3. a 6. jamky prvního řádku mikrodestičky příslušná činidla. Uspořádání destičky je znázorněno na Obr. 3. Na základě porovnání zbarvení jednotlivých jamek mikrodestičky a indikačního papírku ONPtestu s údaji v diagnostické tabulce dodávané výrobcem byl určen druh vyšetřovaného kmene.

H ₂ S	LYS	IND	ORN	URE	PHE	ESL	SCI
○	○	●	○	○	●	○	○
MAL	INO	ADO	CEL	SUC	SOR	TRE	MAN
○	○	○	○	○	○	○	○

Obr. 3. Schéma mikrodestičky identifikačního testu ENTEROtest 16. Substráty v ENTEROtestu 16: sulfan (H₂S), lyzin (LYS), indol (IND), ornithin (ORN), ureáza (URE), fenylalanin (PHE), eskulin (ESL), Simmons-citrát (SCI), malonát (MAL), inositol (INO), adonitol (ADO), celobióza (CEL), sacharóza (SUC), sorbitol (SOR), trehalóza (TRE), mannitol (MAN). Modře jsou znázorněny jamky s převrstvením sterilním parafinovým olejem, červeně jamky s přidavkem činidel po inkubaci.

1.11.4 Identifikace gramnegativních nefermentujících bakterií

Ze skupiny gramnegativních nefermentujících bakterií byla prováděna kontrola identifikace u kmenů *Pseudomonas aeruginosa*. Kmeny byly naočkovány na Petriho misky o průměru 90 mm s obsahem Mueller-Hinton agaru a byly inkubovány v komorovém termostatu při teplotě 37 °C 24 hodin. Po této době se hodnotil charakteristický vzhled kolonií a zejména jejich jasmínová či ovocná vůně. Následně byl proveden katalázový a oxidázový

test stejným způsobem jako při identifikaci streptokoků. Pro kmeny *Pseudomonas aeruginosa* je typická pozitivita obou těchto reakcí.

Ostatní gramnegativní nefermentující bakterie, jako např. *Acinetobacter baumannii* a *Burkholderia cepacia*, byly identifikovány pouze laboratoří.

1.11.5 Identifikace hemofilů

Hemofilové kmeny byly identifikovány na základě růstu v přítomnosti potřebných růstových faktorů. Vyšetřované kmeny byly naočkovány na Petriho misky o průměru 90 mm s Mueller-Hinton agarem a na povrch kultury byly sterilní jehlou položeny 3 disky s různým obsahem růstových faktorů. Jeden disk s obsahem růstového faktoru X (hemin), jeden disk s obsahem růstového faktoru V (nikotinamid adenin dinukleotid, NAD) a jeden disk s obsahem obou faktorů. Kultura byla poté inkubována po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C za zvýšené tenze CO₂ v termostatu s regulovatelnou hladinou CO₂. Výsledkem byl nárůst drobných kolonií *Haemophilus influenzae* v bezprostřední blízkosti disku s oběma faktory, které tento druh vyžaduje. V případě kolonií *Haemophilus parainfluenzae* pak nárůst v okolí disků s růstovým faktorem V a disků s oběma faktory, jelikož tento druh hemofila vyžaduje k růstu pouze faktor V.

1.11.6 Identifikace enterokoků

Vyšetřované kmeny enterokoků byly kontrolovány růstem na médiu Slanetz-Bartley (SB5). Kmen byl inokulován na Petriho misky o průměru 90 mm s obsahem média SB5 a inkubovány v komorovém termostatu při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Následně byla provedena kontrola negativy katalázového a oxidázového testu. Jejich provedení odpovídá postupům při identifikaci streptokoků. Identifikace enterokoků na úroveň druhů byla provedena pouze laboratoří.

1.11.7 Identifikace kvasinek

Identifikace mikromycet spočívala v určení druhu rodu *Candida* na základě zbarvení kolonií na chromogenním agaru CandiSelect 4. Vyšetřované kmeny byly sterilní kličkou naočkovány v dostatečné vzdálenosti v počtu 3 kmenů na jednu Petriho misku o průměru 60 mm tak, aby bylo možné identifikovat samostatné kolonie. Petriho misky pak byly inkubovány v komorovém termostatu 24 hodin při teplotě 37 °C. Určení druhu kvasinky bylo

provedeno na základě zbarvení kolonií v porovnání s tabulí dodávanou výrobcem. Identifikace ostatních mykotických mikroorganismů prováděla pouze laboratoř.

1.11.8 Testování citlivosti kmenů k antibiotikům

Všechny izoláty zahrnuté do studie byly podrobeny testování na citlivost k antibiotikům s využitím příslušné antibiotické sady. Většina kmenů byla očkována na čistý Mueller-Hinton agar, výjimku tvořily streptokoky očkované na Mueller-Hinton agar obohacený krví a hemofily očkované na speciální agar pro hemofily.

Postup přípravy byl pro izoláty jednotný a odpovídal doporučeným postupům Národní referenční laboratoře pro antibiotika (Urbášková 1996). Za pomoci denzimetru bylo ve fyziologickém roztoku připraveno z vyšetřované kultury inokulum o koncentraci $1-3 \times 10^8$ CFU/ml, což odpovídá zákalovému standardu 0,5 dle McFarlanda. Suspenze byla očkována na Petriho misky o průměru 90 mm s obsahem Mueller-Hinton agaru čistého, Mueller-Hinton agaru s příměsí krve nebo speciálního média pro hemofily roztěrem sterilním vatovým tamponem po celé ploše média. Nejpozději do 15 minut byly na povrch média položeny disky s obsahem antibiotika. K umístění disků se používaly dispensory obsahující příslušnou antibiotickou sestavu. V případě absence některého z disků byl tento doplněn pomocí sterilní jehly. Výběr testovaných antimikrobiálních látek závisel na druhu bakterie či mikromycety. Použité antimikrobiální sestavy v závislosti na druhu mikroorganismu ukazuje Tabulka 3.

Tabulka 3. Přehled použitých antimikrobiálních látek podle druhu mikroorganismu.

Mikroorganismus	Označení sestavy	Antimikrobiální látky
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	PNE(resp.)	oxacilin (OX), cefaclen (CL), erythromycin (E), sulfamethoxazol/trimethoprim (SXT), doxycyklin (DO)
Ostatní streptokoky	STR	penicilin (P), cefalotin (KF), erythromycin (E), clindamycin (DA), chloramphenicol (C), doxycyklin (DO), vankomycin (VA)
Stafylokoky	S1	oxacilin (OX), erythromycin (E), clindamycin (DA), sulfamethoxazol/trimethoprim (SXT), doxycyklin (DO), ceftoxitin (FOX)
	S2	chloramphenicol (C), gentamicin (CN), vankomycin (VA), teicoplanin (TEC), rifampicin (RD), linezolid (LZD)

Enterobakterie <i>Acinetobacter baumannii</i> G- nefermentující bakt. (mimo <i>P. aeruginosa</i> a <i>B. cepacia</i>)	G1	ampicilin (AMP), cefalotin (KF), docycyklin (DO), cefuroxim (CXM), ciprofloxacín (CIP), kys.oxolinová (OA), sulfamethoxazol/trimethoprim (SXT)
	G2	gentamicin (CN), cefotaxim (CTX), ceftazidim (CAZ), amoxicilin/klavulanát (AMC), aztreonam (ATM), chloramphenicol (C), colistin (CT)
	G3	amikacin (AK), cefoperazon/sulbactam (SCF), piperacilin/tazobactam (TZP), cefepim (FEP), imipenem (IMP), meronem (MEM), tigecyklin (TGC)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Burkholderia cepacia</i>	PS1	piperacilin/tazobactam (TZP), gentamicin (CN), ofloxacin (OFL), ciprofloxacín (CIP), ceftazidim (CAZ), cefoperazon (CFP), colistin (CT)
	PS2	amikacin (AK), cefoperazon/sulbactam (SCF), aztreonam (ATM), cefepim (FEP), imipenem (IMP), meronem (MEM)
<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Haemophilus parainfluenzae</i>	HEM(resp.)	ampicilin (AMP) amoxicilin/klavulanát (AMC), cefuroxim (CXM), doxycyklin (DO), azithromycin (AZM), sulfamethoxazol/trimethoprim (SXT)
Enterokoky	ENT	ampicilin (AMP), chloramphenicol (C), vankomycin (VA), teicoplanin (TEC), rifampicin (RD), gentamicin 120 (CN120)
Kvasinky	KVA	amphotericin B (AMB), flukonazol (FLU), itrakonazol (ITR), ketokonazol (KET)

Nejčastěji používané sady jsou G1 (pro nekomplikované infekce citlivými kmeny), G2 (pro středně těžké infekce a pro kmeny rezistentní na antibiotika první řady) a G3 (rezervní antibiotika pro velmi závažné infekce polyrezistentními a nozokomiálními kmeny).

Takto připravené Petriho misky byly inkubovány v komorovém termostatu při teplotě 37 °C 24 hodin. Po inkubaci byly hodnoceny posuvným měřítkem průměry inhibičních zón a porovnány s hodnotami uvedenými v tabulce inhibičních zón referenčních kmenů.

1.11.9 Průkaz tvorby ESBL a beta-laktamas typu AmpC

Testování přítomnosti beta-laktamas počínalo kontrolou tvaru inhibičních zón při testování na citlivost k antibiotikům, a to konkrétně u antibiotické sestavy G2, ve které se na Petriho misky s Mueller-Hinton agarem kladou vedle sebe mimo jiné disky s ceftazidimem (CAZ), amoxicilin/klavulanátem (AMC) a aztreonamem (ATM). Pokud inhibiční zóny ceftazidimu a aztreonamu vykazovaly atypický vzhled „zátek od šampaňského“, jak je znázorněno na Obr. 4., byl kmen považován za producenta ESBL. V případě výskytu inhibičních zón ve

tvaru písmene D u těchto antibiotik byl kmen označen jako producent inducibilní beta-laktamasy AmpC (iAmpC).



Obr. 4. Tvary inhibičních zón, které se vyskytují při produkci ESBL a iAmpC. Vlevo: vzhled inhibičních u kmenů produkujících ESBL. Vpravo: vzhled inhibičních zón u kmenů produkujících iAmpC. Upraveno podle <http://www.wales.nhs.uk/> a <http://www.szu.cz/>.

U vyšetřovaných kmenů, které byly rezistentní bez zvláštností, byl proveden CLSI test (Clinical Laboratory Standard Institute, USA). Na Petriho misky byly naočkovány kmeny stejným způsobem jako při vyšetřování citlivosti k antibiotikům, na povrch média byly položeny antibiotické disky s obsahem cefotaximu (CTX), cefotaximu s klavulanátem (CCTX), ceftazidimu (CAZ) a ceftazidimu s klavulanátem (CCAZ). Inkubace proběhla v komorovém termostatu při 37 °C po dobu 24 hodin. Následně byl posuvným měřítkem porovnáván rozdíl velikosti inhibičních zón u disku s antibiotikem a disku s kombinací antibiotika s klavulanátem. Zvětšení zón u disků s kombinací o více než 5 mm byla signifikantní pro kmeny produkující ESBL.

Zároveň byly vyšetřované kmeny podrobeny průkazu konstituční AmpC. Ten spočívá v přípravě kultury stejným způsobem jako při CLSI testu s tím rozdílem, že je kmen očkovaný nejen na čistý Mueller-Hinton agar, ale také na Mueller-Hinton agar s obsahem oxacilinu. Pokládány byly antibiotické disky s obsahem cefotaximu (CTX), ceftazidimu (CAZ), aztreonamu (ATM), cefepimu (FEP) a amoxicilinu (AMC). Proběhla inkubace totožná s inkubací v CLSI testu a byly posuvným měřítkem hodnoceny velikosti inhibičních zón totožných antibiotických disků na dvou rozdílných médiích. Zvětšení inhibičních zón na Petriho miskách s obsahem čistého Mueller-Hinton agaru oproti inhibičním zónám na agaru s oxacilinem ukazovalo na kmen produkující konstituční beta-laktamasu AmpC (kAmpC). V rámci testu se hodnotil také tvar inhibičních zón na Mueller-Hinton agaru s oxacilinem. Změna tvaru inhibičních zón cefotaximu (CTX), ceftazidimu (CAZ), aztreonamu (ATM) a cefepimu (FEP) tvaru „hřebíčků“ by totiž ukazovala na výskyt kmene s kombinací produkce kAmpC a ESBL.

1.11.10 Sběr dat

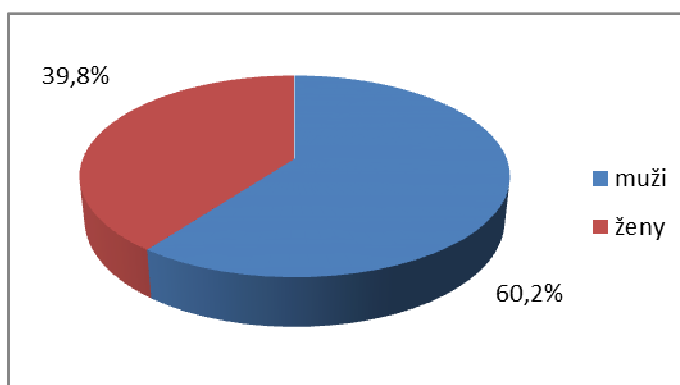
Pro vyhodnocení epidemiologické části studie bylo nutné shromáždit osobní údaje pacientů. Z papírových žádanek ošetřujících lékařů o mikrobiologické vyšetření byly získány údaje týkající se věku pacienta a klinického materiálu odebraného k vyšetření. Údaje o délce hospitalizace, průběhu stanovení diagnózy, případně datum úmrtí, byly dohledány a v potřebné formě poskytnuty ke zpracování osobou kompetentní pracovat s elektronickou formou zdravotnické dokumentace, tj. vedoucí diplomové práce.

2 VÝSLEDKY

2.1 Charakteristika souboru izolátů

V rámci této diplomové práce bylo vyšetřeno celkem 188 izolátů odebraných od 113 pacientů. Soubor obsahoval 68 mužů a 45 žen. Poměr pohlaví pacientů znázorňuje Graf 1.

Graf 1. Zastoupení pohlaví pacientů v souboru izolátů.



Izoláty pocházely od pacientů ve věku od 14 do 98 let. Nejvíce nemocných se řadilo do věkové kategorie 81 až 85 let a to u mužů i u žen. Ženský věkový průměr činil 69,2 let, mužský pak 72,4 let. Celkový věkový průměr byl 71,1 let. Zastoupení pacientů v jednotlivých věkových skupinách je zobrazeno v Tabulce 4. Graficky je věkové rozložení znázorněno v Grafech 2 - 4.

Soubor obsahoval izoláty získané na několika pracovištích. Jednalo se o kliniky Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, a to o I. interní kardioangiologickou kliniku (I.IKAK), ze které pocházelo největší množství klinického materiálu – 62,23 % izolátů, II. interní kliniku (II.IK), ze které pocházelo 22,87 % izolátů, Anesteziologicko-resuscitační kliniku (ARK) s 7,98 % izolátů a I. chirurgickou kliniku (I.CHK) s 2,13 % izolátů. Ostatní izoláty, tj. 4,79 %, pocházely z různých ambulancí a byly zahrnuty do skupiny Komunita. Podíl jednotlivých pracovišť v souboru izolátů ukazuje Graf 5.

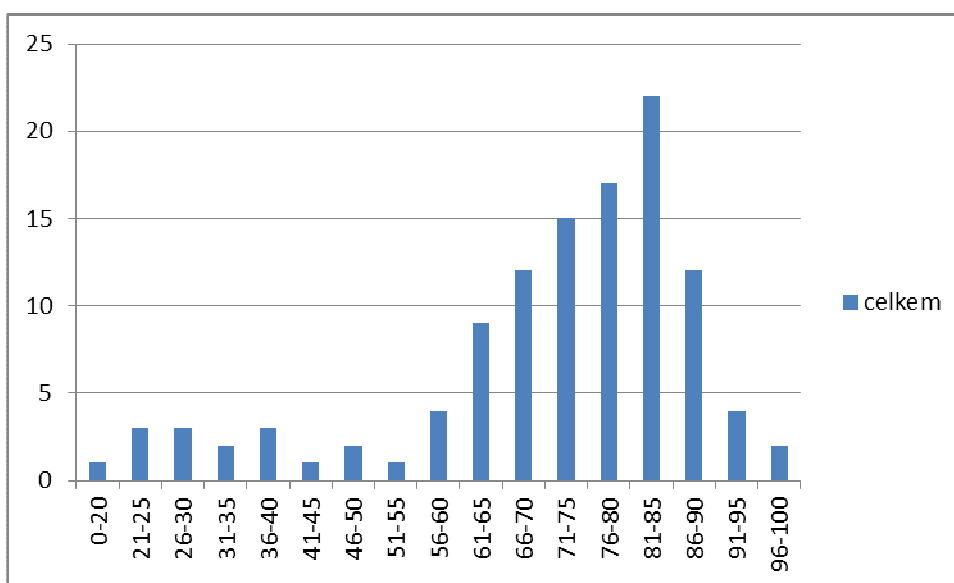
Co se týče charakteru odebíraného materiálu, bylo do souboru zahrnuto 6 typů klinického materiálu. Nejpočetnější skupiny tvořil materiál získaný výtěrem z krku a sputum. Výrazně menší množství materiálu pak pocházelo ze stěrů dutiny nosní, dutiny ústní,

z endotracheálních aspirátů a z bronchoalveolární tekutiny. Přehled odebraného materiálu v závislosti na původu izolátu dle pracoviště zobrazuje Tabulka 5 a Graf 6.

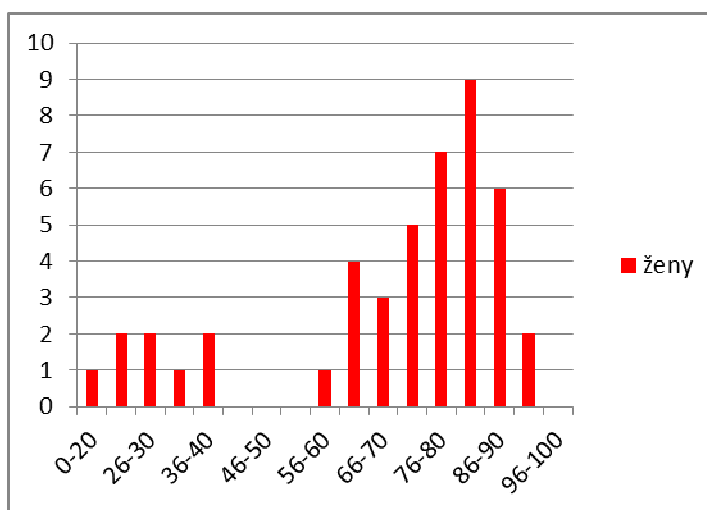
Tabulka 4. Počet pacientů podle věkových skupin a pohlaví.

Věková kategorie	Počet pacientů		
	Ženy	Muži	Celkem
0-20	1	0	1
21-25	2	1	3
26-30	2	1	3
31-35	1	1	2
36-40	2	1	3
41-45	0	1	1
46-50	0	2	2
51-55	0	1	1
56-60	1	3	4
61-65	4	5	9
66-70	3	9	12
71-75	5	10	15
76-80	7	10	17
81-85	9	13	22
86-90	6	6	12
91-95	2	2	4
96-100	0	2	2
Celkem	45	68	113

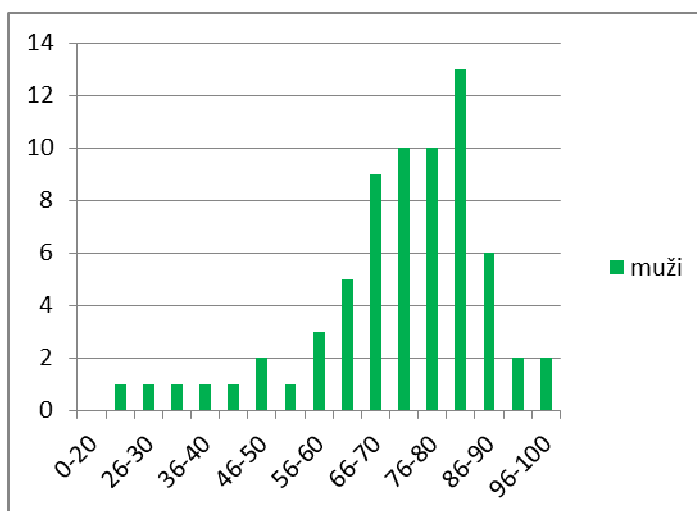
Graf 2. Celkové věkové rozložení pacientů.



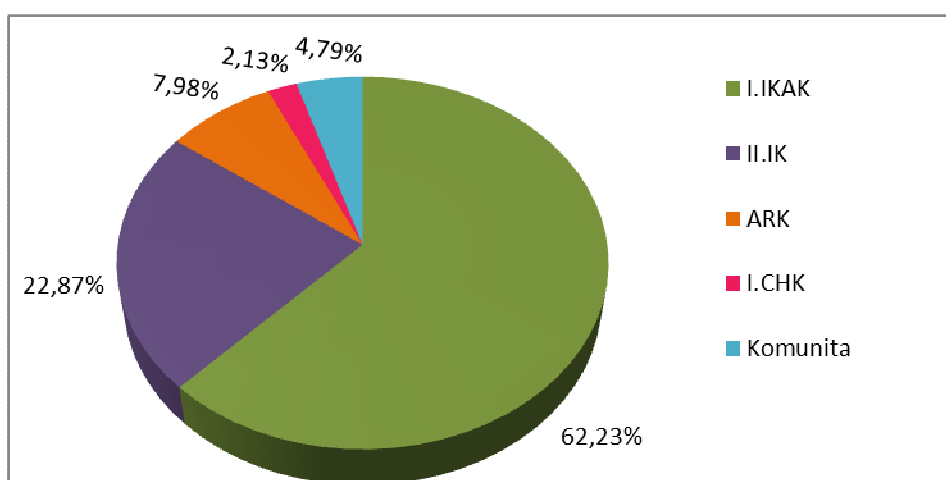
Graf 3. Věkové rozložení žen.



Graf 4. Věkové rozložení mužů.



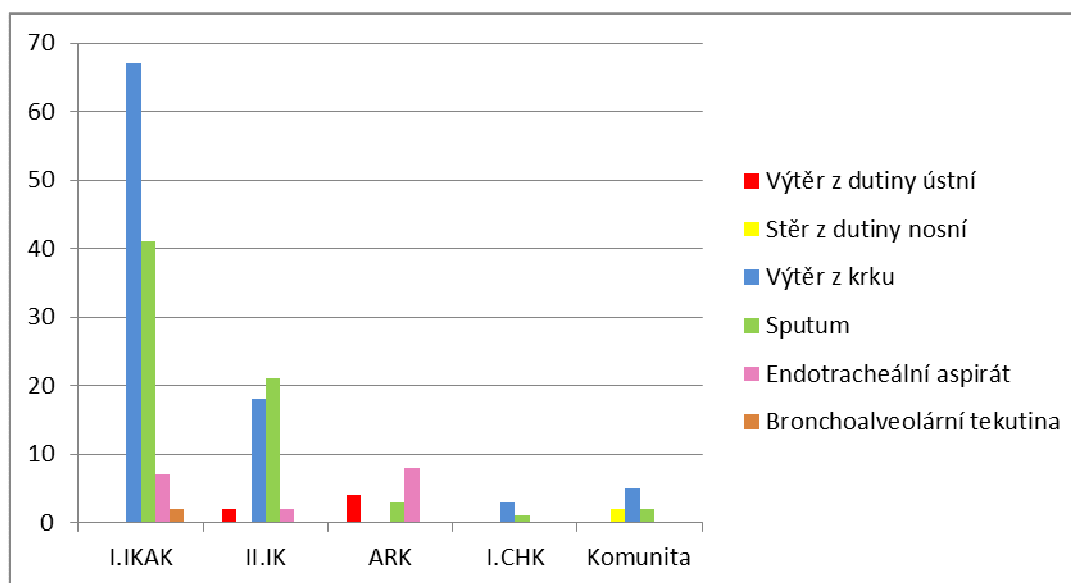
Graf 5. Zastoupení jednotlivých pracovišť v souboru izolátů.



Tabulka 5. Přehled klinického materiálu pocházejícího z jednotlivých pracovišť.

Pracoviště	Klinický materiál						Celkem
	Výtěr z dutiny ústní	Stěr z dutiny nosní	Výtěr z krku	Sputum	Endotracheální aspirát	Bronchoalveolární tekutina	
I.IKAK	0	0	67	41	7	2	117
II.IK	2	0	18	21	2	0	43
ARK	4	0	0	3	8	0	15
I.CHK	0	0	3	1	0	0	4
Komunita	0	2	5	2	0	0	9
Celkem	6	2	93	68	17	2	188

Graf 6. Přehled klinického materiálu pocházejícího z jednotlivých pracovišť.

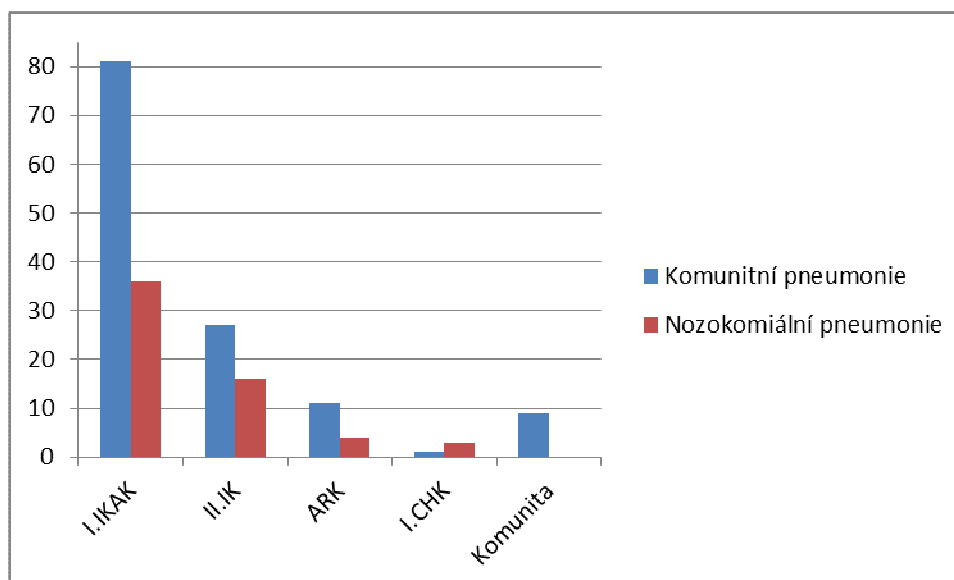


Na základě zdravotnické dokumentace byly zjišťovány údaje o hospitalizaci, průběhy onemocnění a stanovení diagnózy u jednotlivých pacientů. Za stěžejní údaje byly považovány doba mezi přijetím pacienta na dané pracoviště a prvními projevy onemocnění a informace o předcházející hospitalizaci na jiném pracovišti. Pokud se u pacienta projevil příznaky pneumonie do 2 dnů od přijetí a tento pacient nebyl v předchozích 14 dnech nikde hospitalizován, byl typ pneumonie určen jako komunitní. V opačném případě byla pneumonie označena jako nozokomiálního původu. Způsob určení typu pneumonie a její výskyt na jednotlivých pracovištích znázorňují Tabulka 6 a Graf 7.

Tabulka 6. Diagnostika typu pneumonie a její výskyt na jednotlivých pracovištích.

Pracoviště	Diagnostika typu pneumonie					Celkem
	Onemocnění < 2 dny od hospitalizace	Onemocnění > 2 dny od hospitalizace	Hospitalizace na jiném pracovišti v předchozích 14 dnech	Komunitní pneumonie	Nozokomiální pneumonie	
I.IKAK	81	31	5	81	36	117
II.IK	27	13	3	27	16	43
ARK	11	4	0	11	4	15
I.CHK	1	3	0	1	3	4
Komunita	9	0	0	9	0	9
Celkem	129	51	8	129	59	188

Graf 7. Diagnostika typu pneumonie a její výskyt na jednotlivých pracovištích.



2.2 Výsledky identifikace mikroorganismů

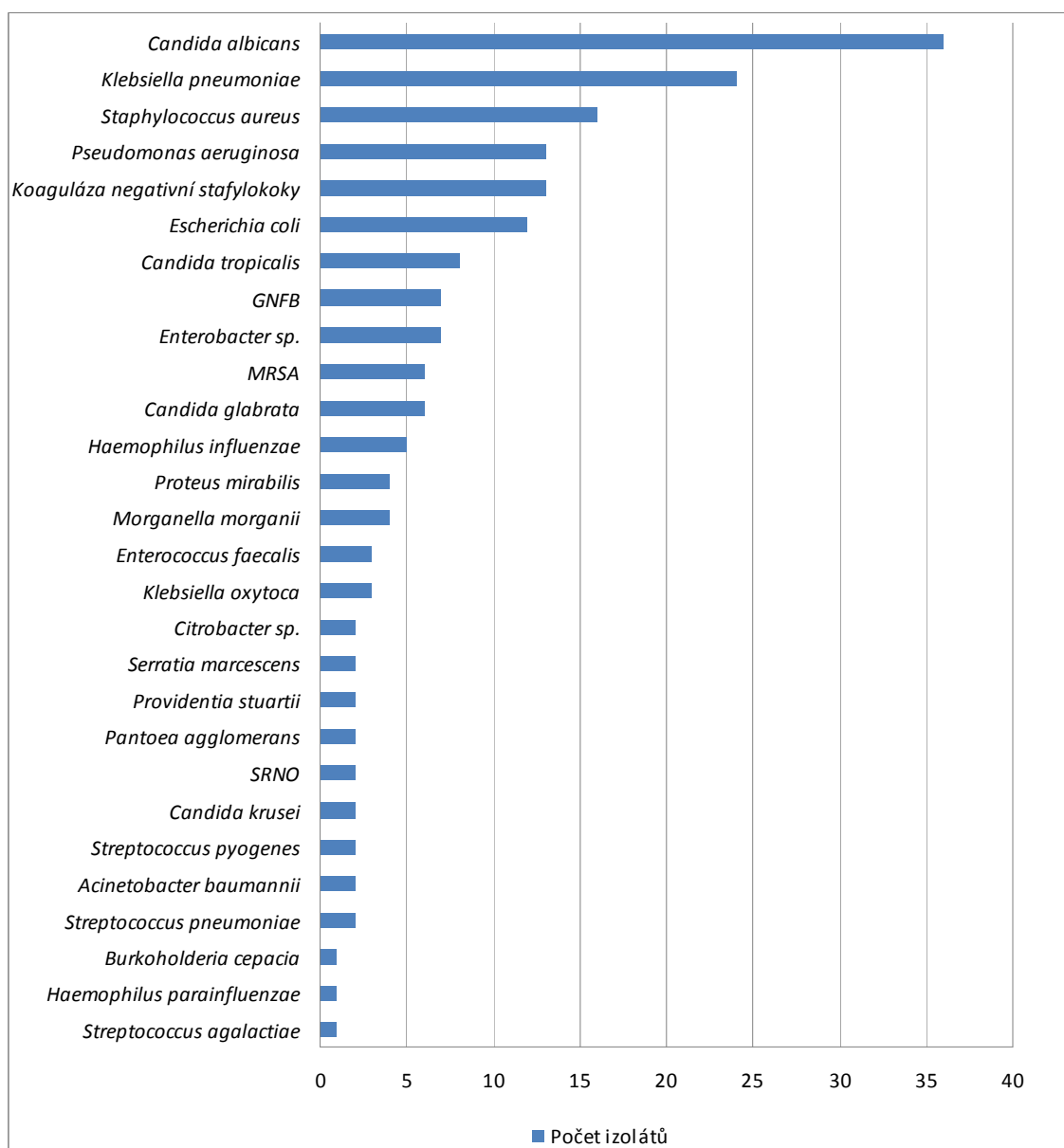
V souboru 188 izolátů bylo identifikováno celkem 22 mikroorganismů na úroveň druhu, 2 mikroorganismy na úroveň rodu a 3 širší bakteriální skupiny bez bližšího určení. Největší zastoupení měly v souboru kandidy v čele s *Candida albicans* (19 % izolátů). Druhou velkou skupinou patogenů v souboru byly enterobakterie s nejpočetněji zastoupenou *Klebsiella pneumoniae* (13 % izolátů). Následovaly *Staphylococcus aureus* (9 % izolátů), koaguláza negativní stafylokoky (7 %) a *Pseudomonas aeruginosa* (také 7 % izolátů). Přesné počty všech izolovaných agens jsou zaznamenány v Tabulce 7 a znázorněny v Grafu 8. Do skupin, které nebyly identifikovány až na úroveň rodů, byly zařazeny koaguláza negativní

stafylokoky, v tabulkách a grafech uváděné pod zkratkou STKN. Dále gramnegativní nefermentující bakterie kromě pseudomonád, burkholderií a acinetobakterů. Tato skupina je označována zkratkou GNFB. Třetí skupinou, tzv. SRNO, jsou beta-hemolytické streptokoky skupiny C a G.

Tabulka 7. Přehled identifikovaných mikroorganismů.

Mikroorganismus	Počet izolátů	%
<i>Candida albicans</i>	36	19%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	24	13%
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	9%
Koaguláza negativní stafylokoky	13	7%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	7%
<i>Escherichia coli</i>	12	6%
<i>Candida tropicalis</i>	8	4%
GNFB	7	4%
<i>Enterobacter</i> sp.	7	4%
<i>Candida glabrata</i>	6	3%
MRSA	6	3%
<i>Haemophilus influenzae</i>	5	3%
<i>Morganella morganii</i>	4	2%
<i>Proteus mirabilis</i>	4	2%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	2%
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	2%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	1%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	1%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	1%
<i>Candida krusei</i>	2	1%
SRNO	2	1%
<i>Pantoea agglomerans</i>	2	1%
<i>Providentia stuartii</i>	2	1%
<i>Serratia marcescens</i>	2	1%
<i>Citrobacter</i> sp.	2	1%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	1%
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	1%
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	1%
Celkem	188	100%

Graf 8. Přehled identifikovaných mikroorganismů.



Následně bylo sledováno působení jednotlivých mikroorganismů jako původců komunitní či nozokomiální pneumonie. Z tohoto epidemiologického hlediska byly stanoveny nejčastějšími původci komunitní pneumonie *Candida albicans* (ve 21 % případů), *Klebsiella pneumoniae* (ve 13 % případů) a *Staphylococcus aureus* (v 11 % případů). Také u nemocných s nozokomiální pneumonií byly nejčastěji jako jejich původci identifikovány *Candida albicans* (v 15 % případů) a *Klebsiella pneumoniae* (ve 12 % případů). Třetím nejčastějším původcem nozokomiální pneumonie byla však určena *Pseudomonas aeruginosa*, identifikovaná v 10 % případů nozokomiální pneumonie. Přehled původců a jejich výskytu v závislosti na typu pneumonie shrnuje Tabulka 8.

Tabulka 8. Přehled původců a jejich výskyt v závislosti na typu pneumonie.

Původce	Typ pneumonie				Celkem
	Komunitní	%	Nozokomiální	%	
<i>Candida albicans</i>	27	21%	9	15%	36
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17	13%	7	12%	24
<i>Staphylococcus aureus</i>	14	11%	2	3%	16
Koaguláza negativní stafylokoky	8	6%	5	8%	13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	5%	6	10%	13
<i>Escherichia coli</i>	10	8%	2	3%	12
<i>Candida tropicalis</i>	5	4%	3	5%	8
GNFB	5	4%	2	3%	7
<i>Enterobacter</i> sp.	3	2%	4	7%	7
<i>Candida glabrata</i>	2	2%	4	7%	6
MRSA	4	3%	2	3%	6
<i>Haemophilus influenzae</i>	4	3%	1	2%	5
<i>Morganella morganii</i>	3	2%	1	2%	4
<i>Proteus mirabilis</i>	2	2%	2	3%	4
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	2%	0	0%	3
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	1%	2	3%	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	1%	1	2%	2
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	1%	1	2%	2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	1%	1	2%	2
<i>Candida krusei</i>	1	1%	1	2%	2
SRNO	2	2%	0	0%	2
<i>Pantoea agglomerans</i>	1	1%	1	2%	2
<i>Providentia stuartii</i>	2	2%	0	0%	2
<i>Serratia marcescens</i>	1	1%	1	2%	2
<i>Citrobacter</i> sp.	2	2%	0	0%	2
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0%	1	2%	1
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	1%	0	0%	1
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	1%	0	0%	1
Celkem	129	100%	59	100%	188

2.3 Výsledky testování citlivosti k antimikrobiálním látkám

U identifikovaných původců byla zjišťována citlivost k antibiotikům a antimykotikům. K testování se používalo 12 standardních laboratorních sad antibiotik, které se volily na základě druhu mikroorganismu a typu infekce. Testu citlivosti se podrobilo všech 188 izolátů. Výsledky jsou sumarizovány v Tabulkách 9 - 16. Tabulky obsahují počet a procentuální vyjádření citlivých a rezistentních izolátů ke konkrétnímu antibiotiku. Citlivost je označena písmenem C, rezistence pak písmenem R. V případě, že původce nebyl k danému antibiotiku testován, je zahrnut do počtu netestovaných izolátů označených písmenem N.

Tabulka 9. Testování citlivosti k antibiotikům sady PNE (resp.).

Původce	Antibiotikum																Celkem								
	OX				CL				E				SXT					DO							
	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%		C	%	R	%				
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	2

Tabulka 10. Testování citlivosti k antibiotikům sady STR.

Původce	Antibiotikum																				Celkem												
	P				KF				E				DA				C					DO				VA							
	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%		C	%	R	%	C	%	R	%				
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	2
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	0	0%	1	100%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1
SRNO	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	1	50%	1	50%	2	100%	0	0%	2	100%	0	0%	1	50%	1	50%	2	100%	0	0%	2				

Tabulka 11. Testování citlivosti k antibiotikům sady ENT.

Původce	Antibiotikum														Celkem										
	AMP				C				VA				TEC				RD				CN120				
	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%		R	%	C	%	R	%	C	%	R	%
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	67%	1	33%	2	67%	1	33%	3	100%	0	0%	3	100%	0	0%	2	67%	1	33%	2	67%	1	33%	3

Tabulka 12. Testování citlivosti k antibiotikům sady S1 a S2.

Původce	Antibiotikum																																
	OX				E				DA				SXT				DO				FOX				C								
	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	N
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	100%	0	0%	16	100%	0	0%	16	100%	0	0%	16	100%	0	0%	16	100%	0	0%	16	100%	0	0%	16	100%	0	0%	15	100%	0	0%	1
STKN	2	15%	11	85%	1	8%	12	92%	8	62%	5	38%	4	31%	9	69%	7	54%	6	46%	3	23%	10	77%	11	85%	2	15%	0				
MRSA	0	0%	6	100%	2	33%	4	67%	3	50%	3	50%	6	100%	0	0%	6	100%	0	0%	0	0%	6	100%	6	100%	0	0%	0				

Původce	Antibiotikum																				Celkem					
	CN					VA					TEC					RD						LZD				
	C	%	R	%	N	C	%	R	%	N	C	%	R	%	N	C	%	R	%	N		C	%	R	%	N
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	100%	0	0%	1	15	100%	0	0%	1	15	100%	0	0%	1	15	100%	0	0%	1	15	100%	0	0%	1	16
STKN	8	62%	5	38%	0	13	100%	0	0%	0	13	100%	0	0%	0	13	100%	0	0%	0	13	100%	0	0%	0	13
MRSA	6	100%	0	0%	0	6	100%	0	0%	0	6	100%	0	0%	0	6	100%	0	0%	0	6	100%	0	0%	0	6

Tabulka 13. Testování citlivosti k antibiotikům sady HEM.

Původce	Antibiotikum																Celkem								
	AMP				AMC				CXM				DO					AZM				SXT			
	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%		C	%	R	%	C	%	R	%
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1
<i>Haemophilus influenzae</i>	4	80%	1	20%	5	100%	0	0%	5	100%	0	0%	5	100%	0	0%	5	100%	0	0%	5	100%	0	0%	5

Tabulka 15. Testování citlivosti k antibiotikům sady PS1 a PS2.

Původce	Antibiotikum																											
	TZP				CN				OFL				CIP				CAZ				CFP				CT			
	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	77%	3	23%	9	69%	4	31%	5	38%	8	62%	5	38%	8	62%	11	85%	2	15%	10	77%	3	23%	13	100%	0	0%
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	0	0%	1	100%

Původce	Antibiotikum																				Celkem				
	AK				SCF				ATM				FEP				IMP					MEM			
	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%		C	%	R	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	100%	0	0%	11	85%	2	15%	11	85%	2	15%	10	77%	3	23%	12	92%	1	8%	12	92%	1	8%	13
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	1	100%	0	0%	0	0%	1	100%	1	100%	0	0%	1

Tabulka 16. Testování citlivosti k antimykotikům sady KVA.

Původce	Antimykotikum																Celkem
	AMB				FLU				ITR				KET				
	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	C	%	R	%	
<i>Candida krusei</i>	2	100%	0	0%	1	50%	1	50%	1	50%	1	50%	2	100%	0	0%	2
<i>Candida tropicalis</i>	8	100%	0	0%	8	100%	0	0%	8	100%	0	0%	8	100%	0	0%	8
<i>Candida albicans</i>	36	100%	0	0%	36	100%	0	0%	34	94%	2	6%	33	92%	3	8%	36
<i>Candida glabrata</i>	6	100%	0	0%	6	100%	0	0%	6	100%	0	0%	6	100%	0	0%	6

Na základě kontroly tvaru inhibičních zón při testování izolátů na citlivost k antibiotikům byli zachyceni celkem 4 producenti ESBL a 7 producentů AmpC. Produkce ESBL byla zaznamenána pouze u dvou bakteriálních druhů, a to *Klebsiella pneumoniae* (75 %) a *Escherichia coli* (25 %). Produkci AmpC vykazovala opět v největším počtu případů *Klebsiella pneumoniae* (43 %), následoval *Enterobacter aerogenes* (29 %) a shodně, pouze s jedním záchytem, *Morganella morganii* a *Serratia marcescens*. Přehled jednotlivých druhů a počty zachycených producentů ESBL a AmpC udává Tabulka 17.

Tabulka 17. Počty a podíly záchytu producentů ESBL a AmpC v souboru izolátů.

Původce	ESBL	%	AmpC	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	75 %	3	43 %
<i>Morganella morganii</i>	0	0 %	1	14 %
<i>Escherichia coli</i>	1	25 %	0	0 %
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	0 %	2	29 %
<i>Serratia marcescens</i>	0	0 %	1	14 %
Celkem	4	100 %	7	100 %

3 DISKUSE

3.1 Soubor izolátů

Výsledky této práce vycházejí ze souboru 188 izolátů odebraných od 113 pacientů, a to žen i mužů. Poměr pohlaví však není stejný, u mužů byla pneumonie diagnostikována častěji, konkrétně v 60,2 % případů, u žen pouze ve 39,8 % případů. Výskyt pneumonie jakéhokoliv typu není přímo vázán na pohlaví jedince. Vyšší počet onemocnění u mužů tak lze vysvětlit společenskými návyky evropské populace, kdy se starší muži vystavují rizikovým faktorům, jako jsou kouření a zvýšená konzumace alkoholu, častěji než ženy stejného věku.

Věkové rozložení pacientů přibližně odpovídá údajům v literatuře. Je zde patrný nárůst onemocnění u pacientů starších 60 let, přičemž nejčastěji pneumonie postihuje osoby ve věku 80 – 85 let. Vezmeme-li v úvahu, že pacienti mladší 60 let čítají 17,7 % ze sledovaného souboru, zatímco pacienti starší 60 let představují zbývajících 82,3 % souboru, lze prohlásit věk nad 60 let za významný rizikový faktor vzniku pneumonie.

Izoláty byly získávány na několika různých pracovištích. Největší zastoupení měly I. interní kardioangiologická klinika a II. interní klinika, tedy pracoviště, na kterých jsou pacienti s typickými příznaky pneumonie hospitalizováni nejčastěji. Z interních klinik pocházelo 85,1 % izolátů, z ostatních klinik pak 10,1 % izolátů. V komunitě byl výskyt onemocnění poměrně malý, na ambulancích bylo zachyceno pouze 4,8 % izolátů.

Do sledovaného souboru byly zahrnuty izoláty pocházející z šesti druhů klinického materiálu. Nejčastěji byl prováděn výtěr z krku a odběr sputa. Výtěry z dutiny ústní, nosní a z krku tvořily celkem 53,7 % klinického materiálu. Podle mnohých autorů však není možné určovat etiologické agens pneumonií na základě mikrobiologického vyšetření materiálu odebraného výtěrem. Tyto výsledky bývají značně zkresleny výskytem běžné mikrobiální flóry. Zároveň situace v oblasti horních cest dýchacích nemusí odpovídat situaci v dolních dýchacích cestách. Význam této metody spočívá v záchytu patogena, který za běžných okolností nemůže být součástí slizniční mikroflóry. Ačkoliv se tento případ ve sledovaném souboru izolátů nevyskytl, byly všechny izoláty pocházející z klinických materiálů odebraných výtěrem do souboru zahrnuty.

Podobně u vyšetření sputa, jež bylo odebráno v 36,2 % případů, je zapotřebí opatrnosti při interpretaci výsledků, kdy existuje možnost kontaminace běžnou ústní mikroflórou. Odběr sputa navíc může komplikovat neschopnost některých pacientů sputum vykašlat. Při dodržení pravidel správného odběru a rychlém transportu sputa do laboratoře se však vyšetření sputa stává cennou a nenákladnou diagnostickou metodou. Právě z těchto důvodů se s odběrem sputa setkáváme na všech sledovaných pracovištích.

Nejpřesnější výsledky jsou zpravidla získávány vyšetřením endotracheálních aspirátů a zejména pak vyšetřením bronchoalveolární tekutiny. Jelikož je odběr těchto materiálů vázán na specializovaná pracoviště a v případě bronchoalveolární laváže také na vhodný zdravotní stav pacienta, není možné získávat materiál pravidelně a u všech nemocných. Ve sledovaném souboru byl vyšetřován endotracheální aspirát pouze z interních klinik a kliniky anesteziologicko-resuscitační. Bronchoalveolární tekutina byla získána pouze ve dvou případech z I. interní kardiologické kliniky. Celkem tvořily odběry endotracheálních aspirátů a bronchoalveolární tekutiny 10,1 % klinického materiálu. Výsledky získané v těchto případech lze považovat za přesné.

V rámci sledovaných pracovišť byl dále hodnocen výskyt pneumonií komunitních a nozokomiálních. Celkem bylo zaznamenáno 129 případů (68,6 %) komunitní pneumonie a 59 případů (31,4 %) nozokomiální pneumonie. Tento poměr se přibližně vyskytoval i na jednotlivých pracovištích. Výjimkou byla pouze I. chirurgická klinika, kde počet případů nozokomiální pneumonie dosáhl 75 %. Výsledky zde však mohou být výrazně zkresleny nízkým počtem vyšetřovaných izolátů. V rozsahu ambulanční péče byly vzhledem k charakteru léčby zaznamenány pouze případy komunitní pneumonie.

3.2 Identifikované mikroorganismy

Během sledovaného období bylo zachyceno celkem 27 různých druhů, rodů či skupin mikroorganismů. Spektrum zachycených patogenů tak bylo poměrně široké. Identifikovány byly jak druhy běžně izolované od pacientů s komunitní pneumonií, tak druhy typické pro pneumonii nozokomiální. Zachyceny byly i mikroorganismy, které jsou pro imunokompetentní jedince zpravidla nepatogenní.

Procentuální zastoupení některých mikroorganismů však neodpovídalo předpokladům a údajům uváděných v literatuře. Jednalo se zejména o druh *Streptococcus pneumoniae*, který je považován za nejčastějšího původce pneumonií vůbec. *Streptococcus pneumoniae* byl

z klinického materiálu izolován pouze ve 2 případech, což znamená přibližně v 1 % izolátů. Naopak nejčastěji, tj. v 36 případech (19 % izolátů), byla izolována kvasinka *Candida albicans*, která bývá běžnou součástí mikroflóry orofaryngu a jako nebezpečný patogen se uplatňuje pouze u oslabených jedinců. Je velice nepravděpodobné, že by se bakteriální druh zapříčínující dle studií záněty plic ve více než jedné třetině případů skutečně vyskytoval u sledovaných pacientů v tak nízkém počtu a byl nahrazen oportunně patogenní kandidou. Důvodem možného zkreslení tak může být již zmíněný odběr klinického materiálu výtěrem z krku či z dutiny ústní. V těchto případech může docházet k zachycení mikrobiálního obrazu, jež neodpovídá situaci v dolních dýchacích cestách nebo může být materiál silně kontaminován běžnou mikroflórou. Jelikož výtěry z dutin tvořily více než polovinu zkoumaného klinického materiálu, nelze vyloučit, že se *Streptococcus pneumoniae* vyskytoval jako původce onemocnění u mnohem většího množství pacientů. Podobně je možné vysvětlit také vysoký výskyt koaguláza negativních stafylokoků, které byly zachyceny ve 13 případech, což odpovídá 7 % izolátů. Koaguláza negativní stafylokoky nejsou, stejně jako *Candida albicans*, považovány za běžně se uplatňující patogeny.

V porovnání se staršími studiemi byl zachycen poměrně vysoký podíl enterobakterií a druhu *Staphylococcus aureus* jako etiologických agens komunitní pneumonie. Naopak výskyt bakterie *Haemophilus influenzae* v izolátech byl nižší, než obvykle literatura uvádí. Za zmínku stojí též vysoký záchyt druhu *Klebsiella pneumoniae* u pacientů s nozokomiální pneumonií. Počet izolovaných klebsiel převyšoval dokonce počet izolátů *Pseudomonas aeruginosa* i jiných bakterií, např. *Escherichia coli* či *Enterobacter*, také typických pro způsobování nozokomiálních infekcí. Oproti jiným studiím byl u nozokomiálních pneumonií výrazný pokles výskytu druhů *Staphylococcus aureus*, včetně MRSA kmenů, a *Haemophilus influenzae*.

Z výsledků práce tedy vyplývá, že za nejčastějšího původce obou typů pneumonií lze na sledovaných pracovištích považovat enterobakterii *Klebsiella pneumoniae*. V případech komunitní pneumonie se k ní pak přidává *Staphylococcus aureus*, naopak u nozokomiálních pneumonií je spektrum nejčastějších patogenů doplněno o bakteriální druh *Pseudomonas aeruginosa*.

3.3 Testování citlivosti k antibiotikům

Všechny identifikované bakterie a kvasinky byly podrobeny testu citlivosti k příslušným sadám antimikrobiálních látek. U vyšetřovaných izolátů byly potvrzeny se 100% úspěšností primární rezistence rodu *Klebsiella* k ampicilinu, rodu *Providentia* k ampicilinu, cefalotinu a cefuroximu, rodu *Serratia* k ampicilinu, cefalotinu, cefuroximu a kolistinu a rodu *Burkholderia* ke kolistinu. Druh *Proteus mirabilis*, pro který je také typická primární rezistence ke kolistinu, vykazoval tuto rezistenci pouze v 75 % případů. Citlivost u zbývajících kmenů protea je možné zdůvodnit charakterem růstu proteů při kultivaci. Často totiž překrývají jiné bakteriální kultury a při odběru kolonie tak může dojít ke kontaminaci odebírané kultury protea, která se následně v diskovém difúzním testu jeví jako ke kolistinu citlivá. Kontaminací kultury lze zdůvodnit také v jednom případě citlivosti k cefuroximu rodu *Enterobacter*, jež by měl vykazovat stejnou primární rezistenci jako rod *Providentia*.

Citlivost k antibiotikům sady G1 - G3 byla zjišťována u zástupců čeledi *Enterobacteriaceae* a zástupců ze skupiny gramnegativních nefermentujících bakterií. Nejčastěji izolované patogeny, kmeny *Klebsiella pneumoniae*, byly 100% citlivé pouze ke karbapenemům a amikacinu. Poměrně vysoká citlivost *Klebsiella pneumoniae* byla zjištěna také ke kolistinu. Citlivost k cefalosporinům I. až IV. generace, chinolonům, kotrimoxazolu a tetracyklinům byla zjištěna pouze u 45 - 58 % kmenů. Naopak kmeny *Klebsiella oxytoca* dosahovaly plné citlivosti k většině použitých antibiotik s výjimkou kolistinu. Vyšetřované kmeny druhu *Escherichia coli* vykazovaly poměrně nízkou citlivost k běžně užívaným antibiotikům. Citlivost *E. coli* k cefalosporinům I. až IV. generace se pohybovala okolo 60 - 70 % případů. Plně citlivé pak byly kmeny escherichií ke karbapenemům a amikacinu. Dobře citlivé k cefalosporinům III. generace se jevily vyšetřované kmeny rodů *Serratia*, *Enterobacter*, *Morganella* a *Citrobacter*. Kmeny druhu *Providentia stuartii* vykazovaly u cefalosporinů I. - III. generace rezistenci, citlivost byla zaznamenána až k cefepimu ze IV. generace cefalosporinů. Zatímco u kmenů rodu *Enterobacter* a rodu *Providentia* byla potvrzena přirozeně nízká citlivost k cefalosporinům I. a II. generace a k ampicilinu, rod *Citrobacter* vykazoval nezvykle vysoký počet k těmto antibiotikům citlivých kmenů. Dále byla potvrzena dobrá citlivost kmenů *Proteus mirabilis* k cefalosporinům II. generace. Kmeny rodu *Acinetobacter* se ke všem antibiotikům sady netestovaly, byla však u nich zjištěna 100% citlivost k ceftazidimu.

V souvislosti s testováním kmenů k antibiotikům pomocí sady G2 byl kladen důraz na sledování výskytu producentů širokospektrých beta-laktamas a beta-laktamas typu AmpC mezi vyšetřovanými kmeny. V rámci druhu *Klebsiella pneumoniae* se vyskytovali celkem 3 producenti ESBL a beta-laktamas typu AmpC, u druhu *Enterobacter aerogenes* to byli 2 producenti AmpC a po jednom producentovi beta-laktamas u druhů *Morganella morganii*, *Escherichia coli* a *Serratia marcescens*. Jak je patrné, v souboru izolátů bylo zachyceno relativně malé množství těchto producentů, které je však i přesto významné z hlediska šíření rezistence tohoto typu a také pro volbu vhodné antibiotické léčby u pacienta.

Bakteriální druhy *Pseudomonas aeruginosa* a *Burkholderia cepacia* byly testovány pomocí antibiotických sad PS1 a PS2. V souboru izolátů se nacházel pouze jeden kmen burkholderie. Tento kmen byl citlivý ke všem testovaným antibiotikům. V případě kmenů pseudomonád byla zjištěna 100% citlivost pouze k amikacinu a kolistinu. Ke všem ostatním antibiotikům vykazovaly kmeny určité procento rezistence. Citlivost k uvedeným antibiotikům se tak pohybovala v rozmezí 38 - 92 % kmenů. Byla tak prokázána pro pseudomonády typická variabilita v rezistenci k užívaným druhům antibiotik. Ta je způsobena zejména schopností pseudomonád přenášet plazmidy, které nesou geny kódující rezistenci k antibiotikům.

Pomocí dalších antibiotických sad byly testovány kmeny hemofilů, které byly ve všech případech k vybraným antibiotikům citlivé. Citlivost ke všem použitým antibiotikům vykazovaly také všechny kmeny *Streptococcus pneumoniae* a *Streptococcus pyogenes*. V jednom případě byl zachycen kmen *Streptococcus agalactiae* rezistentní k erythromycinu, k ostatním antibiotikům byl však citlivý. Citlivé ke všem antibiotikům byly také všechny vyšetřované kmeny *Staphylococcus aureus* s výjimkou kmenů MRSA, které vykazovaly typickou rezistenci k oxacilinu a cefoxitinu a nízký počet citlivých kmenů k erythromycinu a clindamycinu. Nízký počet citlivých kmenů k testovaným antibiotikům byl zaznamenán také u druhu *Enterococcus faecalis*, jehož všechny vyšetřované kmeny byly ve 100 % případů citlivé pouze k vankomycinu a teicoplaninu.

K antimykotikům sady KVA byly testovány kandidy druhu *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. albicans* a *C. glabrata*. Většina kmenů byla k testovaným antimykotikům citlivá. Pouze v jednom případě byla zachycena rezistence k flukonazolu a itrakonazolu kmene *C. krusei*.

Ačkoliv se v souboru izolátů ojediněle vyskytovaly zvýšeně rezistentní kmeny, včetně producentů beta-laktamas, nebyla zjištěna přítomnost obávaných producentů karbapenemáz, vankomycin rezistentních kmenů enterokoků či stafylokoků. Na základě výsledků citlivosti k

testovaným antibiotikům lze tedy konstatovat, že na sledovaných pracovištích lze k léčbě pneumonií používat standardizovaná schémata předepisování antibiotik s přihlédnutím k aktuálnímu trendu vývoje mikrobiální rezistence u nozokomiálních kmenů.

4 ZÁVĚR

Cílem této práce byla charakterizace nejrozličnějších druhů mikroorganismů izolovaných z klinického materiálu jako původců pneumonií. Problematika pneumonie je v současné době diskutovaným tématem, jelikož se jedná o nejčastější plicní onemocnění a jednu z nejzávažnějších respiračních infekcí vůbec.

Existuje několik hledisek klasifikací pneumonií, největšího významu však dnes nabývá hledisko epidemiologické, které rozděluje pneumonie na komunitní, získané v běžném životním prostředí, a nozokomiální, získané během pobytu ve zdravotnickém zařízení. Také tato práce byla zaměřena na rozdělení charakterizovaných mikroorganismů na původce pneumonie komunitní a nozokomiální.

Izolovaný mikroorganismus měl být identifikován a následně podroben stanovení citlivosti k antibiotikům, případně průkazu tvorby širokospektrých beta-laktamas či beta-laktamas typu AmpC. K dispozici bylo několik druhů klinického materiálu odebraného na různých klinikách a ambulancích Fakultní nemocnice u sv. Anny a již zpracovaného v mikrobiologické laboratoři Mikrobiologického ústavu odborným personálem. Na základě získaných dat měl být určen typ pneumonie a následně zhodnocen výskyt těchto typů v závislosti na pohlaví, věku, místě odběru a druhu klinického materiálu. Výsledky měly být porovnány s obdobnými studiemi.

Zpracováno bylo celkem 188 izolátů a následně identifikováno 28 mikroorganismů na různých systematických úrovních. U všech izolátů byl proveden test citlivosti k antibiotikům. Výsledky byly zhodnoceny a porovnány s obdobnými publikovanými studiemi. Podle vyhodnocení testu citlivosti k antibiotikům bylo dále posouzeno využití standardizovaných schémat předepisování antibiotik na zúčastněných pracovištích. Tímto byly zadané cíle práce splněny.

Seznam použité literatury

Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe (2009). European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm. 221s.

Arancibia F., Bauer T. T., Ewig S., Mensa J., Gonzalez J., Niederman N. S., Torres A. (2002) Community-Acquired Pneumonia Due to Gram-Negative Bacteria and *Pseudomonas aeruginosa*. Incidence, Risk, and Prognosis. *Archives of Internal Medicine*. 162: 1849-1858.

Bartoš V., Koblížek V. (2010) Pneumonie u starších pacientů. *Medical tribune*. 6: C7-C8.

Bartošová D., Husa P., Chalupa P., Krbková L., Holčíková A. (2005) Infekční lékařství. Masarykova univerzita, Brno. 141s.

Bartůňková J. (2002) Imunodeficiency. Grada, Praha. 228s.

Basic Concepts of Infection Control (2011). International Federation of Infection Control, Portadown. 380s.

Bednář M., Fraňková V., Hájek V., Horák P., Chaloupecký J., Chalupský J., John C., Kalvodová D., Kaprálek F., Kolářová L., Kozák K., Kubín M., Manych J., Menčíková E., Nohýnková E., Pavlík E., Russo-Marie F., Scharfen J., Schindler J., Souček A., Součková A., Vávra J., Volf P., Zavadová M. (1996) Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie. Marvil, Praha. 558s.

Beneš J. (2009) Infekční lékařství. Galén, Praha. 651s.

Beran J., Havlík J. (2005) Chřipka: klinický obraz, prevence a léčba. Maxdorf, Praha. 175s.

Brennan S. (2008) Innate immune activation and cystic fibrosis. *Paediatric Respiratory Reviews*. 9(4): 271-280.

Brewer S. C., Wunderink R. G., Jones C. B., Leeper K. V. (1996) Ventilator-Associated Pneumonia Due to *Pseudomonas Aeruginosa*. *Chest*. 109(4): 1019-1029.

Cetkovský P., Kouba M. (2009) Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných pacientů. Triton, Praha. 259s.

Daneš L. (2003) Přírodně ohniskové nákazy. Karolinum, Praha. 167s.

Dhople V., Krukemeyer A., Ramamoorthy A. (2006) The human beta-defensin-3, an antibacterial peptide with multiple biological functions. *Biochim Biophys Acta* 1758: 1499-1512.

Drábek J., Dubanský V. (2006) Zoonózy: Bakteriální zdroj infekce, příznaky, léčba a prevence závažných chorob z povolání. Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno. 197s.

- Ganong, W. F.** (2005) Přehled lékařské fyziologie. Galén, Praha. 890s
- .
- Garnacho-Montero, J., Ortiz-Leyba C., Fernández-Hinojosa E., Aldabó-Pallás T., Cayuela A., Marquez-Vácaro J. A., García-Curiel A., Jiménez-Jiménez F. J.** (2005) *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: epidemiological and clinical findings. *Intensive Care Medicine*. 31(5): 649-655.
- Girard M. P., Tam J. S., Assossou O. M., Kieny M. P.** (2010) The 2009 A (H1N1) influenza virus pandemic: A review. *Vaccine*. 28: 4895–4902.
- Govan J. R. W., Hughes J., E., Vandamme P.** (1996) *Burkholderia cepacia*: medical, taxonomic and ecological issues. *J. Med. Microbiol.* 45(6): 395-407.
- Greenwood D., Slack R. C. B., Peutherer J. F.** (1999) Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie. Grada, Praha. 686s.
- Havlík J., Göpfertová D., Marešová V., Roháčová H., Vaništa J.** (2002) Infekční nemoci. Galén, Praha. 186s.
- Heinz F., Hronovský V.** (1991) Adenovirové infekce člověka. Avicenum, Praha. 173s.
- Hrabák J., Vaniš V., Bergerová T., Urbášková P.** (2007) Průkaz β -laktamáz širokého spektra (ESBL) a typu AmpC u enterobakterií. *Zprávy Centra mikrobiologie a epidemiologie, SZÚ Praha*. 16(1): 31-36.
- Hubálek Z., Rudolf I.** (2007) Mikrobiální zoonózy a sapronózy. Masarykova univerzita, Brno. 176s.
- Karlen A.** (1997) Člověk a mikroby: Choroby a nákazy v dějinách moderní doby. Columbus, Praha. 379s.
- Kašák V., Koblížek V.** (2008) Naléhavé stavy v pneumologii. Maxdorf, Praha. 535s.
- Kishore U., Greenhough T. J., Waters P., Shrive A. K., Ghai R., Kamran M. F., Bernal A. L., Reid K. B. M., Madang T., Chakraborty T.** (2006) Surfactant proteins SP-A and SP-D: Structure, function and receptors. *Molecular Immunology*. 43(9): 1293-1315.
- Kittnar O., Jandová K., Kurišćák E., Langmeier M., Marešová D., Mlček M., Mysliveček J., Pokorný J., Riljak V., Trojan S.** (2011) Lékařská fyziologie. Grada, Praha. 790s.
- Klener P.** (2006) Vnitřní lékařství. Galén a Karolinum, Praha. 1158s
- .
- Klener P., Homolka J.** (2001) Vnitřní lékařství. Svazek III, Pneumologie. Galén, Praha. 126s.
- Kolář M.** (2000) Antibiotická léčba nozokomiálních infekcí. Triton, Praha. 181s
- .

- Kolář M.** (2007) Antibiotická léčba bakteriálních zánětů plic. *Ambulantná terapie*. 5 (3 – 4): 154 – 156.
- Kolek V.** (2003) Pneumonie - diagnostika a léčba. Triton, Praha. 155s.
- Kolek V., Kašák V.** (2010) Pneumologie. Vybrané kapitoly pro praxi. Maxdorf, Praha. 423s.
- Kolek V., Kolář M., Kašák V., Beneš J., Dindoš J.** (2011) Klinické doporučení: Diagnostika a léčba komunitní pneumonie dospělých. [online]. Dostupné z WWW: < www.infekce.cz/Legislativa/Pneumonie%20DP170311.pdf>.
- Kontseková E., Kontsek P.** (2004) Základy imunologie. Univerzita Komenského, Bratislava. 217s.
- Krejsek J., Kopecký O.** (2004) Klinická imunologie. Nucleus HK, Hradec Králové. 941s.
- Křížová P., Prymula R., Marešová V., Motlová J., Beneš Č.** (2009) Pneumokoková onemocnění. Solen, Olomouc. 46s.
- Mad'ar R., Podstatová R., Řehořová J.** (2006) Prevence nozokomiálních nákaz v klinické praxi. Grada, Praha. 178s.
- Matthey S., Nicholson D., Ruhs S., Alden B., Knock M., Schultz K., Schmucker A.** (1992) Rapid detection of respiratory viruses by previous shell vial culture and direct staining by using pooled and individual monoclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 30: 540–544.
- Mazanec M. B., Huang Y. T., Pimplikar S. W., Lamm M. E.** (1996) Mechanisms of inactivation of respiratory viruses by IgA, including intraepithelial neutralization. *Seminars in Virology*. 7(4): 285-292.
- Murray P. R., Holmes B., Aucken H. M.** (2005) Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Plesiomonas, Serratia, and other members of Enterobacteriaceae. Topley and Wilson's microbiology and microbial infections. 1474-1506.
- Murray P. R., Rosenthal K. S., Kobayashi G. S., Pfaller M. A.** (2002) Medical microbiology. Mosby, St. Louis. 826s.
- Murray R. K.** (1998) Harperova Biochemie. H & H, Praha. 872s.
- Musil J., Petřík F., Trefný M.** (2005) Pneumologie: učebnice pro studenty lékařství. Karolinum, Praha. 248s.
- Nester E. W.** (1998) Microbiology: a human perspective. WCB/McGraw-Hill, Boston. 848s.
- Palmer L. P., Kos V. N., Gilmore M. S.** (2010) Horizontal Gene Transfer and the Genomics of Enterococcal Antibiotic Resistance. *Current Opinion in Microbiology*. 13(5): 632–639.
- Pauk N.** (2006) Moderní přístup k infekcím dolních dýchacích cest u dospělých. *Medicina pro praxi*. 5: 214-216.

Pillai A., Mitchell J. L., Hill S. L., Stockley R. A. (2000) A case of *Haemophilus parainfluenzae* pneumonia. *Thorax*. 55: 623-624.

Pířová H., Jelínek P. (2004) Sledování výskytu a prevence nozokomiálních nákaz respiračního traktu. XXVIII. Brněnské onkologické dny a XVIII. Konference pro sestry a laboranty. Brno.

Prymula R., Šplíňo M. (2006) SARS: syndrom akutního respiračního selhání. Grada, Praha. 141s.

Rotta J., Bícová R., Havlíček J., Jelínková J., Rýc M., Sit'aj Š., Šrámek J. (1983) Patogenní streptokoky. Avicenum, Praha. 260s.

Říhová M. (2005) Kapitoly z dějin lékařství. Karolinum, Praha. 139s.

Sedláček I. (2007) Taxonomie prokaryot. Masarykova univerzita, Brno. 270s.

Sedlák K., Tomšíčková M. (2006) Nebezpečné infekce zvířat a člověka. Scientia, Praha. 167s.

Ševčík P., Skřičková J., Šrámek V. (2004) Záněty plic v intenzivní medicíně. Galén, Praha. 189s.

Ševčík V. (1997) Sepse v intenzivní medicíně. Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, Brno. 155s.

Šmarda J., Doškař J., Pantůček R., Růžičková V., Koptíková J. (2005) Metody molekulární biologie. Masarykova univerzita, Brno. 188 s.

Špičák V., Panzner P. (2004) Alergologie. Galén, Praha. 348s.

Šrámová H., Benešová V., Melicherčíková V., Pazdziora E., Polanecký V., Toršová V. (2001) Nozokomiální nákazy II. Maxdorf, Praha. 303s.

Šterzl I. (2005) Základy imunologie pro zubní a všeobecné lékaře. Karolinum, Praha. 207s.

Tůmová B. (2008) Ptačí chřipka: trvalá hrozba pandemie. Grada, Praha. 136s.

Urbášková P. (1996) Vybrané metody. IPVZ, Praha. 32s.

Urbášková P., Žemličková H. (2011) Antibiotická rezistence *Streptococcus pneumoniae* a *Streptococcus pyogenes* v letech 1996–2009. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 60(1): 10–20.

Věžník Z., Pospíšil L. (1997) Chlamydiové infekce. Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, Brno. 163s.

Vokurka M., Hugo J. (2007) Velký lékařský slovník. Maxdorf, Praha. 1069s.

Votava M. (2005) Lékařská mikrobiologie obecná. Neptun, Brno. 351s.

Votava M., Černohorská L., Heroldová M., Holá V., Mejzlíková L., Ondrovčík P., Růžička F., Dvořáčková M., Woznicová V., Zahradníček O. (2003) Lékařská mikrobiologie speciální. Neptun, Brno. 495s.

Výmola F., Buda J., Hájek V., Krčméry V., Maršálek E., Pillich J., Rosypal S., Rýc M., Schön E., Šourek J., Ticháček B., Vacek V. (1983) Stafylokokové infekce. Avicenum, Praha. 236s.

Wilkinson M., Woodhead M. (2004) Pneumonia. *Medicine*. 32(2): 129-134.

Zadák Z., Havel E. (2007) Intenzivní medicína na principech vnitřního lékařství. Grada, Praha. 335s.

Žemličková H., Hrabák J. (2011) Doporučení k aktivní surveillanci multirezistentních gramnegativních bakterií. [online]. Dostupné z WWW: <www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/doporucene_postupy/surveillance_g/aktivni_surveillance_multirezistentnich_gramnegativnich_bakterii.pdf>.