

SPRÁVY KLINICKEJ MIKROBIOLÓGIE

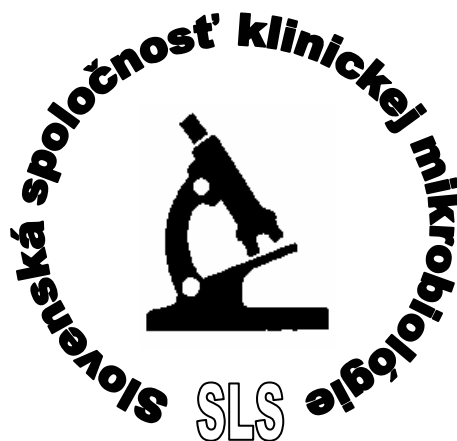
ISSN 1338-645X

EV 2992/09

Ročník XVII.

Číslo SA/2017

Časopis
Slovenskej spoločnosti klinickej mikrobiológie
Slovenskej lekárskej spoločnosti
a
Sekcie klinickej mikrobiológie
Slovenskej lekárskej komory



XXVI. Dni klinickej mikrobiológie

22. - 24. mája 2017

Nový Smokovec - Hotel ATRIUM

PROGRAM A ZBORNÍK SÚHRNOV

XXVI. Dni klinickej mikrobiológie
22. - 24. mája 2017
Nový Smokovec - Hotel ATRIUM

Organizačný a vedecký výbor konferencie

Doc. MUDr. Milan Nikš, CSc.,
MUDr. Rudolf Botek
MUDr. Monika Czirfuszová, PhD.
RNDr. Daniela Lacková, PhD.,
Doc. MUDr. Adriana Liptáková, PhD.
RNDr. Monika Poľanová

Usporiadatelia

Slovenská spoločnosť klinickej mikrobiológie SLS
Sekcia klinickej mikrobiológie SLK

Odborné zameranie

Antibiotická terapia – možnosti optimalizácie
Identifikácia patogénnych mikroorganizmov
Molekulárne metódy v mikrobiologickej diagnostike
Varia

Kredity sústavného medicínskeho vzdelávania (ARS CME), číslo podujatia: CN222SK

- 1. deň 1
- 2. deň 5
- 3. deň 2
- + 1. autor príspevku 10
- 2. a 3. autor príspevku 5

**Organizátori ďakujú všetkým partnerom konferencie, ktorí prispeli
k úspešnému priebehu podujatia**

Abbott Laboratories Slovakia s.r.o.

Bio G spol. s.r.o.

Biohem s.r.o.

BIOMEDICA SLOVAKIA s.r.o.

bioMerieux CZ s.r.o.

CARL ZEISS SLOVAKIA, s.r.o.

CEEMED s.r.o.

DYNEX SERVIS spol. s r.o.

Erba Lachema s.r.o.

Eurolab Lambda a.s.

GTRADE s.r.o.

JEMO TRADING s.r.o.

LABOSERV.SK s.r.o.

Merck Sharp & Dohme, s.r.o.

Roche Slovensko s.r.o.

SIEMENS s.r.o.

Stapro s.r.o.

TRIGON s.r.o.

ODBORNÝ PROGRAM

Pondelok 22.5.2017

12:00-16:00, 18:00 až 20:00 Registrácia
(*počas otvorenia podujatia bude registrácia prerušená*)

16:00 – 16:45 Slávnostné otvorenie podujatia

16,45 – 18,00 Úvodné prednášky

Akčný plán boja s mikrobiálnou rezistenciou
Schréterová E., Takáčová V.

Antibiotic stewardship in UK
Ťavodová M.

Analýza kmeňov *Cronobacter* pomocou celogenómového sekvenovania
Drahovská H., Kajsík M., Belanová V., Szemes T., Šoltýs K., Turňa J.

18.00 Zasadnutie výboru SSKM SLS

20.00 Večera

Utorok 23.5.2017

09:00 – 10:00

Blok I Antibiotic stewardship

Predsedá: A. Purgelová, E. Schréterová

**Klinická mikrobiológia a účelná antibiotická liečba v praxi
Nikš M.**

**Antibiotická terapia – možnosti optimalizácie
Purgelová A., Nikš M.**

**Aplikácia zásad racionálnej antibiotickej liečby na úrovni okresnej
nemocnice
Kónyová Z.**

10:30 -12:00

Blok II Monitorovanie antibiotickej rezistencie

Predsedá: D. Kotulová, M. Nikš

**Prehľady antibiotickej rezistencie – metodika, možnosti a výpovedná
hodnota
Nikš M.**

**Rezistencia na antituberkulotiká - situácia v SR
Porvazník I., Mokry J., Solovič I.**

**Aktuálny stav výskytu karbapenemázy produkujúcich enterobaktérií
na Slovensku
Katonová K., Horniačková M., Nikš M.**

**Výskyt multirezistentných kmeňov baktérií s produkciou betalaktamáz
a karbapenemáz u pacientov všeobecnej nemocnice
Nad'ová K., Daviničová S., Tomíková, K.**

Antimikrobiálna rezistencia enterokokov

Koreň J., Longauerová A., Vaculíková A., Slobodníková L., Blažeková M., Záborská M., Havelová J., Liptáková A.

12:00 – 14:00 **Obed**

14:00 – 15:00

Blok III Identifikácia patogénnych mikroorganizmov

Predsedá: D. Lacková, R. Botek

Problematika fenotypovej identifikácie menej obvyklých kmeňov Externej kontroly kvality INSTAND

Botek R., Melicháčová V., Vašková S., Gašpar E., Hájková K.

MALDI TOF – „neobmedzené možnosti identifikácie“

Bojňanský J.

Využitie hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF v diagnostike anaeróbných infekcií

Lacková D., Brucková B.

15:30 – 16:30

Blok IV Molekulárne metódy v mikrobiologickej diagnostike

Predsedá: V. Kmeť, M. Poľanová

Fingerprintové metódy v epidemiológii a vyhľadávanie ohnísk TBC

Poľanová M., Zemanová I., Poľan M., Zientek J.

Naše skúsenosti s diagnostikou „Human papillomavirus“ /HPV/.

Ohlasová D., Botek R., Olekšáková T.

Molekulárna diagnostika herpetických infekcií CNS

Bečková Z., Helmová L., Dekíšová M.

Faktory virulencie karbapeném-rezistentných *Klebsiella pneumoniae*

Kmeť V., Ohlasová D., Kmeťová M., Nikš M.

17:00 – 18:00

Diskusia pri posteroch

Moderuje: R. Botek

Analýza kmeňov LAB pomocou celogenómového sekvenovania

Drahovská H., Lichvariková A., Hýblová M., Szemes T., Kuchta T.

Porovnanie potenciálu in vitro tvorby biofilmu bakteriálnych kmeňov izolovaných pri recidivujúcich IMC a kmeňov izolovaných pri akútnych nekomplikovaných IMC

Vašková S., Slobodníková L., Melicháčová V., Botek R.

The Human BK Polyomavirus (BKV) Urine and Plasma Monitoring in Kidney Transplant Recipients

Mazurová J., Pastvová L., Gala I., Bena L., Rosenberger J.

Prevalencia a antibiotická citlivosť *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis* izolovaných z genitálnych a močových vzoriek zozbieraných v roku 2016 v KNsP Čadca

Ficik J., Liščáková J.

Charakterizácia klinických kmeňov *Salmonella enterica* sérovar 4,(5), 12:i:- fágovou typizáciou, citlivosťou na antibiotiká a markermi virulencie a PFGE.

Majtánová Ľ.

Karbapeném rezistentné enterobaktérie v komunitě

Pidíková M., Tomková T.

Screening MRSA v nemocnici Bojnice v r. 2015 – 2017

Minčíková K., Teslíková J.

18:00 **Spoločná schôdza SKM SLK a SSKM SLS**
(problematika nového zoznamu zdravotných výkonov)

20:00 **Spoločenský program**

Streda **24.5.2017**

9:00 – 10:30 **Blok V Varia 1**

Predsedá A. Liptáková, D. Hučková

Mikrobiologický ústav LF UK a UNB: súčasný stav vs vízia do roku 2027
Liptáková A.

Mikrobiologické príčiny opakovaných cystitíd
Slobodníková L.

Infekcie bedrových endoprotéz – kazuistiky
Jacák Š., Csölleyová E., Kayser J.

Závery z konferencie ECCI 2016 a naše skúsenosti s diagnostikou
kongenitálnych CMV infekcií
Kollárová K., Hučková D.

Kvantitatívny HBSAg – prvé skúsenosti
Helmová L., Bečková Z.

11:00 – 12:00 **Blok VI Varia 2**

Predsedá: F. Ondriska, L. Slobodníková

10 rokov preventívneho programu na toxoplazmózu u rizikových skupín na Slovensku.

Ondriska F., Ondrušková M., Lesný P., Boldiš V., Lipková S. a kol.

Úskalia skríningu toxoplazmózy v gravidite
Botek R., Melicháčová V., Vašková S., Gašpar E., Hájková K.

Ďalší prípad očnej dirofilariózy v SR

Ondriska F., Stanislavová M., Miterpáková M., Antolová D., Hanáček A.,
Jančovič I., Boldiš V.

**Rickettsie, Coxiella burnetii a iné kliešťami prenášané patogény
na Slovensku**

Špitálska E., Palkovičová K., Tarageľová V., Fumačová S., Štefanidesová K.

12:00 **Ukončenie podujatia**

12:30 **Obed**

Akčný plán boja s mikrobiálnou rezistenciou

Schréterová E., Takáčová, V.

Ústav lekárskej a klinickej mikrobiológie, Univerzitná nemocnica Louisa Pasteura Košice

Antibiotiká tvoria základ liečby mnohých infekčných ochorení a sú nevyhnutné na zníženie rizika komplikácií pri zložitých lekárskech výkonoch. Mikrobiálna rezistencia predstavuje vážne ohrozenie verejného zdravia a zároveň obmedzuje terapeutické možnosti modernej medicíny. Boj s mikrobiálnou rezistenciou patrí medzi hlavné priority Európskej komisie. Užívanie antimikrobiálnych látok nie je viazané len na humánnu oblasť, keďže antibiotiká sa v terapeutickej aj neterapeutickej rovine používajú aj vo veterinárnej medicíne a poľnohospodárstve. Antibiotiká používané v humánnej a veterinárnej medicíne majú rovnaké alebo veľmi podobné molekuly a ich nesprávnym užívaním vzniká neúmerne veľký selekčný tlak na baktérie v prostredí. Za posledných 15 rokov preto vydala Európska komisia viacero odporúčaní na zníženie šírenia mikrobiálnej rezistencie ako pre humánny, tak aj pre veterinárny sektor v rámci koncepcie „Jedno zdravie“. V roku 2011 bol spustený prvý päťročný Európsky akčný plán proti rastúcim hrozbám z mikrobiálnej rezistencie a mal charakter komunikácie Európskej komisie s Európskym parlamentom a Európskou radou (COM (2011) 748). Iba opatreniami prijatými súbežne vo všetkých sektoroch je možné bojovať s mikrobiálnou rezistenciou. Akčný plán pokrýva 7 oblastí, kde sú opatrenia najpotrebnejšie a stanovuje 12 konkrétnych opatrení v humánnom a veterinárnom sektore, ktoré majú byť implementované členskými štátmi. Medzi základné opatrenia, ktoré sa týkajú humánnej aj veterinárnej medicíny, patrí správne užívanie antibiotík, prevencia a kontrola šírenia infekcií, monitoring výskytu mikrobiálnej rezistencie a vzdelávanie zdravotníckych profesionálov a verejnosti. Na základe týchto odporúčaní 21 členských štátov Európskej únie implementovalo do roku 2016 Národné akčné plány boja s mikrobiálnou rezistenciou.

Napriek snahám o spomalenie šírenia mikrobiálnej rezistencie nie je budúcnosť antibiotík pri terajšom trende vývoja priaznivá. Odhaduje sa, že v roku 2050 v prípade nečinnosti umrie na infekcie spôsobené multirezistentnými baktériami na celom svete až 10 miliónov ľudí. Keďže pre šírenie rezistencie neexistujú hranice, nie je možné pristupovať k problému rezistencie inak ako v globálnom meradle. Je potrebné zjednotiť prístup a ciele všetkých krajín, aby bolo možné udržať účinnosť antibiotík, ktoré máme k dispozícii a zároveň podporiť vývoj nových antimikrobiálnych látok a diagnostických metód na rýchlu detekciu mikrobiálnej rezistencie. Svetové zdravotnícke zhromaždenie (WHA) v roku 2015 prijalo rezolúciou 68.7 Globálny akčný plán boja s mikrobiálnou rezistenciou. Globálny akčný plán je založený na piatich strategických cieľoch s príslušnými opatreniami pre členské štáty, pre sekretariát (vrátane opatrení pre FAO, OIE a WHO v rámci tripartity) a pre medzinárodné organizácie a ďalších partnerov. Medzi strategické ciele akčného plánu patrí zlepšenie vzdelávania a odbornej prípravy v problematike mikrobiálnej rezistencie, zlepšenie dohľadu a výskumu mikrobiálnej rezistencie, posilnenie prevencie a kontroly šírenia mikrobiálnej rezistencie, optimalizovanie užívania antimikrobiálnych preparátov v humánnej a veterinárnej liečbe a vyvinutie ekonomicky udržateľného stavu investícií, ktorý zvýši investície do nových liekov, diagnostických nástrojov, vakcín a podobne. Prijatím rezolúcie sa členské štáty zároveň zaviazali implementovať Národné akčné plány k 70. zasadnutiu WHA v súlade so strategickými cieľmi Globálneho akčného plánu.

Slovenský Národný akčný plán sa dokončuje. Jeho tvorbu koordinuje MZ SR prostredníctvom Ústrednej komisie pre antiinfekčnú liečbu a antibiotickú politiku (ÚKALAP). Národný akčný plán je plánovaný ako intersektorový projekt, ktorý bude spájať aktivity v oblasti zdravotníctva, veterinárnej medicíny a potravinárstva. Hlavnými bodmi bude monitorovanie mikrobiálnej rezistencie a spotreby antibiotík v zdravotníckych zariadeniach ako aj vo veterinárnej medicíne, koordinácia činností nemocničných antibiotických komisií, zvyšovanie kvality práce nemocničnej hygienickej služby, zvyšovanie kvality pregraduálneho a postgraduálneho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov a zvyšovanie povedomia verejnosti o antibiotikách a mikrobiálnej rezistencii.

Kontakt: eva.schreterova@unlp.sk

Antibiotic stewardship in UK

Ľavodová M.,

Pathology department, Bedford hospital, Bedford, United Kingdom

“Antibiotic stewardship”, čo v preklade znamená správne používanie antibiotík, je dôležitou súčasťou práce klinického mikrobiológa vo Veľkej Británii.

Hlavnou úlohou klinického mikrobiológa je prispievať svojou odbornou radou k manažmentu pacienta s predpokladanou alebo potvrdenou infekciou. Okrem tejto úlohy, mikrobiológ je súčasťou manažmentu mikrobiologického laboratória a zároveň stojí na čele tímu, ktorý sa stará o predchádzanie rozširovania nemocničných nákaz, tzv. “infection control team”.

Okrem týchto funkcií prispieva ku vzdelávaniu lekárov v oblasti antibiotickej liečby infekcií počas telefomických konzultácií alebo osobných stretnutí a taktiež formou prednášok v rámci nemocnice a na lokálnej úrovni pre obvodných lekárov a ostatných zdravotníckych pracovníkov.

Zodpovednosť za správne používanie antibiotík nesie vo Veľkej Británii vedenie nemocnice, ktoré je za nedodržanie centrálne vytyčených cieľov finančne sankcionované. Tento fakt prispieva k tomu, že používanie antibiotík je v centre záujmu vedenia nemocnice.

V každej nemocnici pracuje “Antibiotic management team”, ktorý má za úlohu v spolupráci s expertami v rôznych medicínskych disciplínach pripraviť lokálne návody na empirickú antibiotickú liečbu. Tieto sú uverejnené na intranetovej stránke nemocnice a každý lekár sa musí s nimi oboznámiť pred začiatkom práce v nemocnici a počas periodického vzdelávania.

“Antibiotic stewardship” je hlavnou náplňou práce antimikrobiálneho farmaceuta, ktorý veľmi úzko spolupracuje s klinickým mikrobiológom a ostatnými lekármi v nemocnici. Táto funkcia sa postupne zavádzala do praxe v priebehu posledných 5 – 10 rokov a dnes má každá nemocnica vo Veľkej Británii antimikrobiálneho farmaceuta.

Jeho hlavnou úlohou je pripravovať rozboru spotreby antibiotík v nemocnici pre potreby vedenia nemocnice, informovať o spotrebe antibiotík lekárov, pripravovať podklady pre klinického mikrobiológa a zúčastňovať sa pravidelných vizít, ktoré sú zamerané na revíziu antibiotickej terapie u vybraných pacientov, napríklad u pacientov, ktorí sú liečení antibiotikami zo zoznamu restriktívnych antibiotík. Zameranie na určitú skupinu pacientov sa môže líšiť od nemocnice k nemocnici.

Hlavné zásady správnej antibiotickej liečby sú vytyčované centrálnymi inštitúciami, ako Ministerstvo zdravotníctva, National Institute for Health and Care Excellence a odbornými spoločnosťami. Dodržiavanie týchto zásad je pravidelne kontrolované a vyhodnocované v každej nemocnici. Frekvencia a obsah týchto auditov sú buď odsúhlasené lokálne antibiotickou komisiou, alebo sú dopredu zadané centrálnymi inštitúciami. Momentálne v tomto kalendárnom roku každá nemocnica musí preukázať, že antibiotická liečba bola revidovaná za 72 hodín od začatia liečby a spotreba antibiotík bola zredukovaná o určité percento v porovnaní s minulým obdobím. Používanie karbapenémov sa reviduje pravidelne.

Kontakt: milada.tavodova@gmail.com

Analýza kmeňov rodu *Cronobacter* pomocou celogenómového sekvenovania

Drahovská H.¹, Kajsík M.², Belanová V.¹, Szemes T.¹, Šoltýs K.², Jánošíková L.³, Ferencová Z.³, Slobodníková L.³, Turňa J.^{1,2}

¹Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Ilkovičova 6, 84115 Bratislava

²Vedecký park Univerzity Komenského, Bratislava

³Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava

Úvod a cieľ práce: Kmene zaradené do rodu *Cronobacter* sú oportunistické patogény vyvolávajúce zriedkavé ale závažné infekcie u novorodencov. Zároveň boli popísané aj infekcie u dospelých, hlavne starých a imunooslabených ľudí. Cieľom práce bolo stanoviť výskyt kmeňov *Cronobacter* u hospitalizovaných pacientov, charakterizovať získané izoláty a stanoviť ich vzájomnú príbuznosť.

Metodika: V práci sme analyzovali 400 vzoriek výteru z tonzíl alebo spúta pomocou kultivácie v pufrovanej peptónovej vode a na DFI agare. Získané izoláty boli identifikované pomocou druhovo-špecifickej PCR (Lehner a kol. 2006, Mohan Nair a Venkitanarayanan 2006). Celogenómová sekvencia bola stanovená na prístroji MiSeq s využitím knižnice pripravenej pomocou Nextera kitu (Illumina). Genómy boli zložené pomocou programu CLC genomics, anotované pomocou RAST a analyzované v databáze *Cronobacter* MLST.

Výsledky a zhodnotenie: Zo 400 vzoriek bolo 18 pozitívnych na prítomnosť *Cronobacter* sp. (prevalencia 4,5%). Izolované kmene boli zaradené k druhom *C. sakazakii* a *C. malonaticus*, čo je v súlade s dominanciou druhu *C. sakazakii* v klinických vzorkách. Celogenómovú sekvenciu sme získali u 11 kmeňov. Na základe multilokusovej sekvenčnej analýzy (MLST) bolo osem kmeňov zaradených k vzájomne príbuzným sekvenčným profilom ST513-ST515, ktoré sú unikátne v MLST databáze a patria do klonálneho komplexu CC4. Kmene z tohto komplexu sa vyznačujú zvýšenou virulenciou, nachádzajú sa často v klinických vzorkách aj v prostredí a sú zodpovedné za väčšinu prípadov meningitídy u novorodencov. Jeden sekvenovaný kmeň *C. sakazakii* patril k MST profilu ST8. Podľa údajov v MLST databáze do tohto profilu patria klinické aj enviromnenátlne kmene. Dva kmene *C. malonaticus* patrili k profilu ST7, často sa vyskytujúcemu v klinických vzorkách od dospelých pacientov. Pri porovnávaní kmeňov sme zistili, že vzájomne blízko príbuzné kmene boli izolované od pacientov z rovnakej nemocnice po dobu troch mesiacov. K dlhodobému prežívaniu kmeňov v nemocničnom prostredí môže prispievať prítomnosť ostrova termotolerancie s veľkosťou 14 kbp, ktorý bol prítomný u všetkých izolátov v tejto štúdií.

Práca je výsledkom riešenia projektu APVV-14-0025

Kontakt: hana.drahovska@gmail.com

Klinická mikrobiológia a účelná antibiotická liečba v praxi

M. Nikš

Národné referenčné centrum pre sledovanie rezistencie na antibiotiká, Odbor lekárskej mikrobiológie, Úrad verejného zdravotníctva SR, Bratislava

Antibiotiká patria k najčastejšie predpisovaným liečivám tak v nemocnici, ako aj v ambulantnej praxi. Na rozdiel od iných skupín liekov už samotné používanie antibiotík môže predstavovať priamu hrozbu nielen pre pacienta, ale aj pre verejné zdravie. Neodôvodnený antibiotický tlak prispieva k postupnej strate účinnosti antibiotík na mnohých pôvodcov infekčných ochorení. Pritom sa predpokladá, že až 50% antibiotickej preskripcie je dnes neopodstatnenej, či nevhodnej.

Pre progredujúci nárast a globalizáciu rezistencie sa dnes účelné používanie antibiotík stalo aktuálnou témou na celom svete. Koordinované intervencie zamerané na optimalizáciu výberu antibiotického liečiva, správnu voľbu cesty jeho podania, dávky, intervalu dávkovania a dĺžky liečby sa dnes v literatúre popri termínoch ako „antibiotická politika“, „manažment antibiotík“, či „kontrola antibiotickej preskripcie“ označujú najčastejšie ako „antibiotic stewardship“. Cieľom intervencie je dosiahnuť optimálny klinický výsledok antibiotickej terapie pri minimalizácii jej vedľajších negatívnych účinkov, nižšej indukcie rezistencie a znížení celkových nákladov na liečbu infekčného ochorenia. Rozhodovanie o optimálnej terapii stále zložitejšie. Príčinou je narastanie rezistencie a zmeny jej charakteru, klesanie počtu účinných antibiotík, pribúdajúce informácie o farmakokinetike a farmakodynamike a aj zavádzanie nových liečiv a ich kombinácií. Ako tímový proces antibiotic stewardship tak predpokladá úzku spoluprácu viacerých odborníkov (ošetrojúci lekár, infektológ, farmakológ, klinický mikrobiológ a hygienik/epidemiológ).

V procese optimalizácie voľby antibiotickej terapie má klinický mikrobiológ nezastupiteľnú úlohu, keďže práve on poskytuje základné laboratórne diagnostické informácie o pôvodcovi ochorenia a jeho antibiotickej citlivosti. Mikrobiológ poskytuje tiež konzultácie pri správnom odbere materiálu a posudzovaní klinickej významnosti získaného laboratórneho nálezu. Medzi ďalšie nezastupiteľné úlohy klinickej mikrobiológie patrí monitorovanie mechanizmov antibiotickej rezistencie a spracovávanie pravidelných prehľadov antibiotickej citlivosti. Tie sú v zariadení podkladom pre priebežnú aktualizáciu miestne platných odporúčaní pre (často prevládajúcu) empirickú antibiotickú liečbu infekčných ochorení a aj pre realizáciu nutných protiepidemických opatrení pri výskyte multirezistentných baktérií.

Nemocničné programy zamerané na „antibiotic stewardship“ sa dnes postupne stávajú neoddeliteľnou súčasťou ošetrovania pacientov a úzko súvisia s novým ponímaním bezpečnosti pacienta. Predpokladajú vždy aj zainteresovanie a podporu manažmentu zariadenia. Úspešné zavedenie intervencií na optimalizáciu antibiotickej liečby a kontrolu rezistencie sa odráža v znížení počtu infekčných komplikácií, nozokomiálnych nákaz a v skracovaní ošetrovacej doby. Tie v konečnom dôsledku nezanedbateľne ovplyvňujú aj dnes tak pozorne sledované ekonomické výsledky zdravotníckeho zariadenia.

Kontakt: milan.niks@uvzs.sk

Antibiotická terapia – možnosti optimalizácie

Purgelová A.¹, Nikš, M.²

¹CLK-Pracovisko klinickej mikrobiológie, FNŠP FDR Banská Bystrica, ²Národné referenčné centrum pre sledovanie rezistencie na antibiotiká, Odbor lekárskej mikrobiológie, Úrad verejného zdravotníctva SR, Bratislava

Antibiotiká predstavujú nenahraditeľné, často život zachraňujúce liečivá. Podpora uvážlivého používania antibiotík a prevencia a kontrola infekcií spojených so zdravotníckou starostlivosťou sú významné aktivity nutné pre obmedzovanie výskytu infekčných komplikácií a antibiotickej rezistencie v súčasnej medicíne.

Pre zachovanie účinnosti antibiotík je nevyhnutné ich uvážlivé a efektívne používanie, ktoré predpokladá:

- indikovať antibiotickú liečbu len vtedy, keď je to nevyhnutné
- optimalizovať/individualizovať cestu podania a dávkovanie antibiotika
- zohľadňovať nové poznatky o farmakokineticke a farmakodynamike antibiotík
- pri empirickej (kalkulovanej) liečbe sa opierať o aktuálne miestne prehľady citlivosti
- pri cielenej (racionálnej) liečbe uprednostňovať preparáty s úzkym spektrom účinku
- kombinovať antibiotiká len keď je to nevyhnutné
- dodržiavať obvyklú dĺžku liečby a zbytočne ju nepredlžovať
- nenahrádzať hygienické opatrenia tzv. „antibiotickým krytím“

Zmyslom použitia antibiotík je ovplyvnenie patologického stavu, ktorý vzniká interakciou makroorganizmu s primárne alebo podmienene patogénnymi mikroorganizmami, tvoriacimi súčasť špecifického mikrobiálneho ekosystému.

Správna antibiotická liečba vedie dokázateľne k vyliečeniu závažných infekcií a je klinicky a epidemiologicky bezpečná.

Kontakt: apurgelova@nspbb.sk

Aplikácia zásad racionálnej antibiotickej liečby na úrovni okresnej nemocnice

Kónyová Z.

OKL – pracovisko klinickej mikrobiológie, NsP Brezno, n.o.

NsP Brezno, n.o. poskytuje predovšetkým akútnu zdravotnú starostlivosť (90-95% hospitalizácií). Náklady na antibiotiká vždy predstavovali najvyššiu časť celkových nákladov na lieky (16,2% v roku 2009). V snahe znížiť náklady a racionalizovať použitie ATB nemocnica zriadila v roku 2009 antibiotickú komisiu pod vedením klinického mikrobiológa. Už pri prvotnej analýze prevalencie rezistencie na antibiotiká, indikácie a spotreby antibiotík, boli na väčšine oddelení zistené nedostatky: nadmerné užívanie fluorchinolónov (napr. empirická liečba komunitných pneumónií) a betalaktámových antibiotík, len sporadické indikovanie aminoglykozidov, chýbanie regulácie viazaných ATB, neprávna interpretácia mikrobiologických vyšetrení (liečba kolonizácií) a laboratórnych markerov zápalu (liečba zvýšeného CRP pri neprítomnosti ložiska infekcie), chýbanie pravidiel pri indikovaní profylaxie a empirickej liečby, chýbajúci odber materiálu na mikrobiologické vyšetrenie, časté poddávkovanie pacientov a nerešpektovanie PK/PD parametrov antibiotík (prienik do ložiska infekcie, časovo závislé/koncentračne závislé ATB) a nedodržiavanie zásad sekvenčnej liečby.

Ďalším dôležitým krokom bola príprava záväzných dokumentov upravujúcich antibiotickú a antimykotickú liečbu (*Zásady racionálnej antiinfekčnej liečby, Usmernenie k liečbe infekcií Cl. difficile, Liečba a terapeutický monitoring vankomycínu a gentamicínu*). Následne sme sa snažili o ich aplikáciu v praxi, predovšetkým konzultačnou, vzdelávacou a prednáškovou činnosťou a reguláciou indikácie viazaných ATB.

Vďaka týmto opatreniam sa nám podarilo znížiť náklady na antiinfekčné lieky na historické minimum 8,7% z celkových nákladov na lieky v roku 2012. Od roku 2012 náklady na ATB znova postupne stúpali až na 14,8% v roku 2016. Po analýze sa nám potvrdil súvis s postupným zvyšovaním rezistencie na antibiotiká. Čoraz častejšie sa vyskytujú ťažké invazívne infekcie vyvolané multirezistentnými patogénmi vyžadujúce nákladnú liečbu viazanými antibiotikami a antimykotikami. Multirezistentné patogény sa postupne prenášajú aj do komunity a nie je už žiadnou vzácnosťou ťažká komunitná infekcia vyvolaná MRSA, či ESBL kmeňom.

Pri aplikácii zásad racionálnej antibiotickej liečby má klinická mikrobiológia nezastupiteľnú úlohu. Nie je možné racionalizovať používanie antibiotík bez správnych podkladov – prehľady rezistencie na ATB komunitných a nozokomiálnych patogénov ako podklad empirickej liečby, izolácia pôvodcu infekcie a vyšetrenie citlivosti na antibiotiká pri indikovaní cielej liečby, sledovanie výskytu mechanizmov rezistencie a interpretácia výsledkov mikrobiológom. Výhodná je účasť klinického mikrobiológa na vizitách oddelení intenzívnej starostlivosti pre obe strany.

Na záver zhrniem 5 základných princípov racionálnej antibiotickej liečby:

1. **správna klinická diagnóza** – len liečba potvrdených alebo vysoko pravdepodobných infekcií (identifikácia primárneho ložiska),
2. **správna mikrobiologická diagnóza** – pred každým podaním ATB vždy vykonať odber materiálu na mikrobiologické vyšetrenie,
3. **správne antibiotikum** – zohľadniť prienik do ložiska infekcie, lokálne prehľady, aktuálny mikrobiologický nález a stav pacienta (imunita, poškodenie obličiek a pečene),

4. **správna dávka a podanie antibiotika** – PK/PD parametre – dostatočne vysoká dávka a správny dávkový interval
5. **správna dĺžka liečby** – nepodávať zbytočne dlho.

Samotná aplikácia zásad racionálnej antibiotickej liečby dnes už nestačí, je nevyhnutné dôsledne zamedziť šíreniu multirezistentných kmeňov v nemocničných podmienkach.

Kontakt: konyova@nspbr.sk

Prehľady antibiotickej rezistencie – metodika, možnosti a výpovedná hodnota

Nikš M.

Národné referenčné centrum pre sledovanie rezistencie na antibiotiká, Odbor lekárskej mikrobiológie, Úrad verejného zdravotníctva SR, Bratislava

Monitorovanie stavu a vývoja antibiotickej rezistencie je základným predpokladom pre prijatie efektívnych opatrení na kontrolu nebezpečne narastajúcej rezistencie na antibiotiká. Aktuálne a miestne orientované prehľady citlivosti/rezistencie umožňujú optimalizáciu antibiotickej preskripcie v praxi a sú aj nevyhnutným predpokladom pre realizáciu cielených protiepidemických opatrení na zabránenie nekontrolovaného šírenia rezistentných baktérií. Vyhodnocovanie vývoja rezistencie je súčasne aj hlavným kritériom pre posudzovanie účinnosti prijatých opatrení.

Národná surveillanca antibiotickej rezistencie je u nás koordinovaná od roku 2001 NRC pre sledovanie antibiotickej rezistencie pri Úrade verejného zdravotníctva SR. Kvalita údajov, z ktorých monitorovanie vychádza, súvisí s metodickým vedením, konzultačnou činnosťou a národným systémom externej kontroly kvality testovania citlivosti v SR, realizovanými NRC. Technicky je surveillanca zabezpečovaná prostredníctvom Národnej databázy antibiotickej rezistencie, dostupnej na internete (<https://www.snars.sk/>). Databáza je koncipovaná ako otvorený systém, ktorý od roku 2004 eviduje a vyhodnocuje približne 70% rutinne vykonaných vyšetrení antibiotickej citlivosti klinicky významných bakteriálnych a mykotických pôvodcov infekčných ochorení. Cieľom databázy je poskytnúť aktuálne informácie o antibiotickej citlivosti tak pre lekárov predpisujúcich antibiotiká v praxi, ako aj pre činnosť príslušných orgánov riadiacich antibiotickú politiku (na úrovni zdravotníckych zariadení, ale aj na územnej, resp. celoštátnej úrovni - antibiotické, nozokomiálne komisie atď.). Popri národnej databáze antibiotickej rezistencie Slovensko v rámci projektu ECDC EARS-Net poskytuje údaje o antibiotickej rezistencii vybraných pôvodcov infekčných ochorení izolovaných z hemokultúr a likvorov aj pre túto európsku databázu rezistencie.

Primárnym cieľom surveillance antibiotickej rezistencie je ovplyvňovanie empirickej antibiotickej preskripcie, ktorá v praxi prevláda. Uvedenú požiadavku môžu splňať len aktuálne a miestne príslušné údaje. Aktualizácia prehľadov pre komunitnú preskripciu je vhodná v intervaloch 6 – 12 mesiacov, pričom pre preskripciu perorálnych liečív všeobecne postačujú údaje získavané z kvalitatívneho laboratórneho testovania citlivosti (S/I/R).

V nemocničných zariadeniach je nevyhnutné poskytovať antibiotické prehľady pre riadenie empirickej preskripcie a zabezpečovanie protiepidemických opatrení pri výskyte multirezistentných pôvodcov infekčných ochorení v 1-mesačných intervaloch, prípadne aj kratších. Príčinou sú dynamické zmeny rezistencie a potenciálne exponenciálne šírenie multirezistentných pôvodcov nozokomiálnych infekcií. Optimalizovaná preskripcia v nemocnici prevažne parenterálne podávaných antibiotických preparátov by sa mala opierať o laboratórne testy s kvantitatívnym stanovovaním citlivosti (MIC), ktoré súčasne umožňujú individualizáciu a farmakologickú optimalizáciu liečby.

Spracovanie antibiotických prehľadov má mať jednotnú metodiku, ktorá však musí zohľadňovať miestne charakteristiky. Výsledky surveillance by sa mali priamo premietat' do priebežne aktualizovaných miestnych odporúčaní pre antibiotickú liečbu ochorení s infekčnou etiológiou.

Kontakt: milan.niks@uvzs.sk

Rezistencia na antituberkulotiká - situácia v SRPorvazník I^{1,2}, Mokry J², Solovič I¹¹Národný ústav tuberkulózy, pľúcnych chorôb a hrudníkovej chirurgie, Vyšné Hágy, ²Ústav farmakológie JLF UK, Martin

Rezistencia na antituberkulotiká (AT) bola pozorovaná už krátko po ich objavení. Napriek tomu, že tuberkulóza (TB) patrí v súčasnosti na území SR k zriedkavejším respiračným ochoreniam a Slovenská republika (SR) sa zaraďuje ku krajinám s jej nízkym výskytom, aj u nás sa objavujú kmene *M. tuberculosis* rezistentné na jedno, ale mnohokrát aj na viac AT.

Cieľom našej práce je sumarizácia bakteriologicky overených prípadov tuberkulózy na Slovensku. Pri testovaní citlivosti na antituberkulotiká sme overili všetky prípady bakteriologicky overenej tuberkulózy v Slovenskej republike za roky 2009 – 2016. Zistili sme, že percento pacientov infikovaných rezistentným kmeňom *M. tuberculosis* je približne rovnaké a pohybuje sa v rozmedzí 6 – 12 %. Prevažujúcim typom rezistencie bola monorezistencia, pričom v neskorších rokoch sa postupne zvyšoval počet prípadov multirezistentnej tuberkulózy, s ojedinelým výskytom prípadov sekundárnej extenzívnej liekovej rezistencie.

Napriek niektorým prípadom, v ktorých sme detegovali vysoký stupeň rezistencie na AT, môžeme konštatovať, že rezistencia na antituberkulotiká v súčasnosti nie je častým prípadom, a že multirezistentné, resp. x – liekovo rezistentné kmene, ktoré sú problémom hlavne v krajinách bývalého Sovietskeho zväzu a Afriky, sa u nás vyskytujú ojedinele. V porovnaní s týmito krajinami je na Slovensku nízky výskyt MDR – TB a môžeme konštatovať, že patríme k vyspelým európskym krajinám, kde sa výskyt takýchto kmeňov pohybuje okolo 2 %.

Kľúčové slová: Rezistencia, Antituberkulotiká, Tuberkulóza

Kontakt: porvaznik@hagy.sk

Aktuálny stav výskytu karbapenemázy produkujúcich enterobaktérií na SlovenskuKatonová K.¹, Horniačková M.², Nikš M.¹¹Národné referenčné centrum pre sledovanie rezistencie na antibiotiká, Odbor lekárskej mikrobiológie, Úrad verejného zdravotníctva SR, Bratislava²Ústav mikrobiológie, Lekárska fakulta, Slovenská zdravotnícka univerzita v Bratislave

Úvod: Najefektívnejšími hydrolytickými enzýmami, ktoré degradujú bata-laktámy u Gram-negatívnych baktérií sú karbapenemázy. Spočiatku bola produkcia karbapenemáz detegovaná najmä u *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter* spp., od roku 1990 sa však začali vyskytovať aj u príslušníkov čeľade Enterobacteriaceae (CPE). Takéto kmene sa môžu extrémne rýchlo šíriť. CPE sa dnes vyskytujú globálne a v niektorých oblastiach/štátoch má výskyt už endemický charakter. Najčastejšie sa produkcia karbapenemáz u enterobaktérií zaznamenáva u *Klebsiella pneumoniae* a tiež aj u *Escherichia coli*, v menšej miere aj u ďalších enterobaktérií. Najčastejšie sa vyskytujúce karbapenemázy sú KPC, OXA-48, NDM, VIM a IMP. Na Slovensku sa do roku 2011 CPE nevyskytovali. Od konca roka 2012 však aj na Slovensku zaznamenávame ich výskyt v dôsledku importu zo zahraničia a následného šírenia sa v našich zdravotníckych zariadeniach.

Cieľom prezentácie je poskytnúť prehľad o súčasnom stave výskytu a šírenia sa CPE u nás.

Súbor a metodika: Konfirmáciu uvedeného mechanizmu rezistencie zabezpečuje od roku 2012 s celoslovenskou pôsobnosťou NRC pre sledovanie rezistencie mikroorganizmov na antibiotiká. Konfirmácia sa vykonáva enzymatickým fenotypovým Carba NP testom, u pozitívnych kmeňov sa typ produkovaného enzýmu ďalej bližšie charakterizuje molekulárno-genetickými metódami (PCR). Pri pozitívnom záchyte sú realizované epidemiologické opatrenia v zmysle OU MZ SR pre diagnostiku a protiepidemické opatrenia pri výskyte bakteriálnych pôvodcov infekčných ochorení s klinicky a epidemiologicky významnými mechanizmami rezistencie (čísťka 27 – 32, ročník 62, 2014).

Výsledky: Od januára 2012 do konca roka 2016 bolo zo Slovenska do NRC na konfirmáciu zaslaných spolu 1878 suspektných izolátov. Z nich sa produkcia karbapenemáz potvrdila u 622 izolátov (585 *Klebsiella* sp., 31 *Enterobacter* spp., 6 *Escherichia coli*). Počet karbapenemáza pozitívnych kmeňov narastá; kým v roku 2013 to bolo 17, v roku 2016 sa ich počet vyšplhal na 304 izolátov. Pomocou molekulárnej metódy PCR boli identifikované všetky 4 typy karbapenemáz (NDM, KPC, VIM, OXA-48), pričom v roku 2015 bol prvýkrát zaznamenaný výskyt enzýmu OXA-48. Šírenie CPE bolo pozorované medzi pacientmi v jednotlivých nemocniciach, ako aj do ďalších zdravotníckych zariadení.

Záver: CPE predstavujú veľkú hrozbu vzhľadom na obmedzené možnosti liečby, vysokú kontagiozitu, hrozbu prenosu do komunity a rýchle šírenie sa, ktoré je zaznamenané v zahraničí a aj na Slovensku. Zabránenie ich rozšíreniu predstavuje v súčasnosti jediný účinný spôsob boja proti nim (ich eliminácie). Kľúčové je preto sústredenie sa na aktívne vyhľadávanie CPE – aktívny skrining infikovaných ako aj kolonizovaných pacientov. Potrebné je zavádzanie rýchlych laboratórnych metód detekcie CPE, systém rýchleho hlásenia výsledkov, vhodná liečba a prísne dodržiavanie zavedených účinných hygienicko - epidemiologických opatrení.

Kontakt: miroslava.horniačková@szu.sk

Výskyt multirezistentných kmeňov baktérií s produkciou betalaktamáz a karbapenemáz u pacientov všeobecnej nemocnice

Nadžová K., Daviničová, S., Tomíková, K.
Fakultná nemocnica s poliklinikou Skalica, a.s.

Ciel': Informovať o výskyte a cirkulácii jednotlivých druhov MDRO u pacientov všeobecnej nemocnice v sledovaných obdobiach. Analyzovať ich prejavy u pacientov v zmysle kolonizácie a klinickej manifestácie počas poskytovania zdravotnej starostlivosti.

Metódy: Aktívna surveillance MDRO, vykonávaná tímom (klinický mikrobiológ, nemocničný epidemiológ a ošetrojúci lekár) prostredníctvom nemocničného informačného systému.

Výsledky: V sledovaných obdobiach sme zaznamenali výskyt MDRO u 3,5 % hospitalizovaných pacientov. Z celkového počtu MDRO pacientov, 50 % boli tieto kmene izolované pri prijíme na hospitalizáciu. Kým v prvom období bolo počas hospitalizácie kolonizovaných 18,4% (CI95%; 12,3 % - 24,4 %) v nasledujúcom tvorili 35,9 % podiel (CI95 %; 29,4% - 42,5%) z celkového počtu. Nozokomiálne nákazy boli diagnostikované najmä v I. polroku 2012, kedy infekciu získalo 63 pacientov, čo predstavuje 39,8 % (CI95%; 32,3 % - 47,5 %). V nasledujúcom období ochorelo NN 30 pacientov, títo tvorili 14,5% (CI95 %; 9,8 % - 19,4 %). Vo výskyte NN došlo k signifikantne významnému poklesu. Najčastejšou klinickou manifestáciou MDRO bola v oboch obdobiach infekcia močového systému, s izoláciou *Escherichia coli* produkujúcou ESBL, *Enterobacter sp.* s produkciou AmpC a *Klebsiella pneumoniae* s nálezom ESBL. Tieto infekcie postihli najmä pacientov oddelenia vnútorného lekárstva a urológie. Infekcie krvného riečiska sme zaznamenali najmä v roku 2012, kedy tvorili 20,6% (CI95; 10,6% - 30,6 %) s incidenciou 0,3/100 UH. V nasledujúcom období tieto infekcie tvorili 10% (CI95%; 0% - 20,7%). Na vzniku infekcie mali 70% podiel Gram negatívne paličky patriace do čeľade Enterobacteriaceae s produkciou betalaktamáz typu ESBL a AmpC. Infekcie v mieste operačného výkonu tvorili 19,4 % (CI95%; 9,4% - 28,7%), pri incidencii 0,3/100 UH. V mieste operačnej rany boli najčastejšie izolované Enterobaktérie s produkciou betalaktamáz typu ESBL a AmpC. Ako pôvodca sa uplatnil aj Vankomycin rezistentný *Enterococcus* (VRE) a MRSA.

Záver: Sledovanie cirkulácie MDRO kmeňov u hospitalizovaných pacientov má význam z hľadiska možnosti priebežného zavádzania protiepidemických opatrení a tým možnosti ovplyvnenia ich šírenia v zdravotníckych zariadeniach.

Kontakt: katarinanadova@npskalica.sk

Antimikrobiálna rezistencia enterokokov – trendy a možnosti liečby

Koreň J., Longauerová A., Vaculíková A., Slobodníková, L., Blažeková M., Záborská M., Havelová J., Liptáková A.

Mikrobiologický ústav Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice Bratislava

Streptokoky skupiny D, od roku 1980 reklasifikované ako enterokoky, sú významnými pôvodcami infekcií močových ciest, rán, ale aj infekcií krvného prúdu a endokarditíd. Sú primárne rezistentné na cefalosporíny, majú nízky stupeň rezistencie (LLR) na aminoglykozidy a ciprofloxacín nie je klinicky odporúčaný v liečbe enterokokových infekcií. Pre ochorenia zapríčinené kmeňmi *Enterococcus faecalis* je ampicilín liekom voľby a *Enterococcus faecium* je naň prirodzene rezistentný (mutácia na *pbp5*). Zmena na aminokyselinových zvyškoch NAM/NAG peptidovej podjednotky D-alanýl–D-alanín a vznik D-alanýl–D-laktátu môže viesť ku vankomycínovej rezistencii.

Cieľom našej práce bolo zistiť rezistenciu u kmeňov *Enterococcus spp.* izolovaných od pacientov hospitalizovaných v UNB Staré Mesto a porovnať ju s enterokokovou rezistenciou v súvislosti s celoslovenským priemerom. Naším zámerom v predkladanej štúdií bolo tiež prezentovať možné alternatívy liečby v prípade výskytu antimikrobiálnej rezistencie.

Na analýzu a porovnanie rezistencie enterokokov sme použili výsledky získané z databázy Mikrobiologického ústavu bakteriologického laboratória, kým údaje pre celoslovenský priemer sme čerpali zo Slovenského národného informačného systému antimikrobiálnej rezistencie – SNARS-u.

Za predchádzajúce 10-ročné obdobie, rezistencia u kmeňov *Enterococcus spp.* izolovaných na Mikrobiologickom ústave LF UK a UNB zaznamenala nasledujúce hodnoty: voči ampicilínu vzrástla zo 7% (2007) na 17% (2016), gentamicínu zo 43% na 63%, ciprofloxacínu z 32% na 80%, chloramfenikolu z 11% na 39% a na nitrofurantoín bol zistený nárast rezistencie z 3% na 6%. Iba voči tetracyklínu rezistencia minimálne poklesla z 83% na 79%, ako aj ku vankomycínu i teikoplanínu sa rezistencia znížila z 2% na 1%. Na linezolid v rokoch 2007 a 2016 nebolo zaznamenané žiadne zníženie citlivosti. Na základe databázy SNARS o celoslovenskom priemere, rezistencia kmeňov *Enterococcus spp.* evidovala na piperacilín v 2007 roku nárast z 32% na 61% v 2016 roku, na tetracyklín zo 71% na 81% a nitrofurantoín z 0% na 1%. Podľa dát zo Slovenského národného informačného systému antimikrobiálnej rezistencie, pokles rezistencie celkovo u enterokokov bol zaznamenaný voči gentamicínu z 89% na 39%, kým rezistencia minimálne poklesla na ciprofloxacín z 30% na 29% a glykopeptidy (vankomycín, teikoplanín) z 1% (2007) na 0% (2016). Podľa údajov zo SNARS-u, rezistencia voči linezolidu nebola zaznamenaná.

Záverom našej štúdie je celkovo zvyšujúci sa trend rezistencie v UNB Staré Mesto u kmeňov *Enterococcus spp.* voči testovaným antimikrobiálnym látkam. Rezistencia voči glykopeptidom zostala minimálna (1%). Naše výsledky priemerov rezistencie boli vyššie v porovnaní s celoslovenským priemerom za rok 2016, voči gentamicínu (63% vs. 39%), ciprofloxacínu (80% vs. 29%), nitrofurantoínu (6% vs. 1%), vankomycínu a teikoplanínu (1% vs. 0%). Na konci skúmaného obdobia voči linezolidu nebola zaznamenaná žiadna rezistencia ako v našich, tak i vo výsledkoch zo SNARS-u. Pri infekciách vyvolaných vankomycín rezistenými kmeňmi je v prípade dostupnosti na Slovensku možné podať nasledujúce antimikrobiálne látky: tigecyklín, daptomycín, oritavancín, telavancín (+ rifampicín), tedizolid a pri ochoreniach zapríčinených *E. faecium* aj quinupristín/dalfopristín.

Kontakt: jan.koren@fmed.uniba.sk

Problematika fenotypovej identifikácie menej obvyklých kmeňov Externej kontroly kvality INSTAND

Botek R.^{1,2}, Melicháčová V.¹, Vašková S^{1,2}., Gašpar E¹., Hájková K¹.

¹Laboratóriá Piešťany s.r.o., ²Trnavská univerzita v Trnave, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce

Úvod

Správna a presná identifikácia infekčného agensu je nevyhnutná jednak pre správnu interpretáciu citlivosti na antibiotiká, ale aj, čo je rozhodujúce, pre stanovenie kauzálnej súvislosti. V súčasnosti zažívame revolúciu v „diagnostickej bakteriológii“ (Gilbert Greub, *Recent revolution in diagnostic bacteriology, Diagnostic Bacteriol. & Gen. Microbiol., Keynote Lecture, 27. ECCMID 2017*). Rozvinuté molekulárne metódy a nástup „MALDI - TOF“ prináša každý deň nové baktérie a reklasifikáciu stávajúcich rodov a druhov. Zlatý štandard fenotypovej identifikácie baktérií - VITEK bioMérieux – dnes nahrádza hmotnostná spektrofotometria technológie MALDI- TOF. Rutinne používané fenotypové „home made“ i komerčné systémy nestačia držať krok s progresiou nových metód a upgdredovať identifikačné matrice. Jednou z možností ako nestratiť orientáciu, je externá kontrola kvality. EQUAS INSTAND e.V. zaraďuje pomerne pravidelne do svojich identifikačných cyklov zriedkavé druhy baktérií, ktorých presná identifikácia v obmedzenom časovom priestore je prakticky nemožná bez najmodernejších metód. Autori vybrali tri zaujímavé druhy z cyklov 2013 a 2014.

Materiál/metódy/výsledky*Paracoccus yeei:*

Gram negatívne nepohyblivé, katláza pozitívne a oxidáza negatívne koky zaradené od roku 1910 (Beijerinck, Minkman 1910; Verhoeven, Koster, Van Nievelt 1954; Vogt 1965) boli v roku 1969 zaradené do novovytvoreného rodu *Paracoccus* s jedným druhom *Paracoccus denitrificans*. (D. H. Davis, M. Doudoroff, R. Y. Stanier, M. Mandel: *International Journal of Systematic Bacteriology*; 1969, 375-390) V roku 1999 bol rod rozšírený o *Paracoccus pantotrophus* (dovtedy skupina *Hydrogenomonas* (1995) a *Thiosphaera* (1999)) a konečne v roku 2003 bol taxonomicky zaradený *P. yeei* z humánnych izolácií (Daneshvar, M., et al.: *J. of Clin. Microbiology*, 2003, 1289-94) a v roku 2010 bol opísaný prvý nález peritonitídy u dialyzovaného pacienta. Rast na krvnom agare v mukózných kolóniách. V komerčných fenotypových systémoch okrem VITEK 2 GN neidentifikovateľný.

Neisseria zoodegmatis:

Pôvodne CDC EF-4a a EF-4b, zaradená Vandamme, P., et al. 2006 ako *Neisseria animaloris* a *Neisseria zoodegmatis* sp. nov.. Oba druhy sú GLU pozitívne, redukujú nitrát a líšia sa len prítomnosťou arginin hydrolázy. Komerčne používané fenotypové systémy ich v databáze neobsahujú, BBL CRYSTAL NH kmeň vyhodnotil ako *Neisseria weaveri* s nízkou druhovou pravdepodobnosťou. V roku 2013 Anna Heydecke a kol. identifikovali oba druhy z rán po uhryznutí zvierat'om pomocou MALDI –TOF a sekvenácie.

Corynebacterium macginleyi:

V roku 1995 vyčlenené zo skupiny lipofilných korynebaktérií (CDC skupina G-1, G-2) ako *Corynebacterium macginleyi* sp. nov. (Riegel, p., et al., *J. of Syst. Bacteriol.*:1995, 128-133). Od roku 1998 bolo publikovaných (PubMed) 24 článkov s etiopatogenézou tohto korynebaktéria. Epidémia konjunktivitídy bola popísaná v roku 2010 s fenotypovou identifikáciou API Coryne. V BBL Crystal GP bol kmeň identifikovaný ako *Corynebacterium*

spp./jejkeium s biotypovou validitou/konfidenciou 8/0,5134, resp. 8/0,4729, tzn. druhovo neidentifikovaný.

Záver

Komerčné identifikačné systémy používané v rutinej praxi aj pri dodržaní všetkých kautiel predpísaných výrobcom, nehladiac na biologickú variabilitu jednotlivých kmeňov, nemusia zaistiť spoľahlivý výsledok, hlavne pokiaľ sa jedná o zriedkavé rody a druhy, ktoré nie sú v zaradené v jednotlivých databázach profilov. Napriek automatizácii nesmieme zabúdať na neustále prehľbovanie a rozširovanie vedomostí a kriticky hodnotiť výsledky automatizovaných systémov, čo je edukačnou stránkou externej kontroly kvality.

Kontakt: botek@laboratoria.sk

MALDI TOF MS – „neobmedzené možnosti identifikácie”

Bojňanský J.

Medirex a.s., Bratislava

MALDI TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry) je moderná metóda, ktorá umožňuje rýchlu a pomerne veľmi presnú identifikáciu baktérií, kvasiniek a vláknitých húb izolovaných z humánnych, veterinárnych, prípadne enviromentálnych vzoriek a potravín. Jej zavedenie do rutinej laboratórnej praxe spôsobilo doslova revolúciu v klinických mikrobiologických laboratóriách, pretože došlo k zmene zaužívaných postupov, zmenila sa organizácia práce v laboratóriu a skoršia identifikácia patogénov umožňuje lepší manažment pacienta.

Princípom metódy je ožiarenie vzorky laserom pričom matrica absorbuje energiu pulzu a jej rozklad ionizuje molekuly ribozomálnych proteínov identifikovaného mikroorganizmu. Jednotlivé ióny sa potom pohybujú vo vákuu v závislosti od ich hmotnosti a náboja. Doba letu sa potom veľmi presne deteguje a na jej základe sa vytvorí hmotnostné spectrum tzv. MSP (Main Spectrum Profile) vyšetrovaného patogénneho mikroorganizmu. Takto získané hmotnostné spektrá, ktoré sú druhovo špecifické, sú potom porovnávané s databázou referenčných MSP. Výsledkom porovnávacieho algoritmu je druhová identifikácia mikroorganizmu s priradenou hodnotou identifikačného skóre, vyjadrujúceho zhodu hmotnostného spectra vzorky s referenčným spektrom. Hlavná referenčná knižnica obsahuje 6903 MSP, ktoré zodpovedajú 424 rodom a 2461 druhom. A táto knižnica je neustále dopĺňaná o nové druhy.

Súčasťou prezentácie budú aj krátke kazuistiky týkajúce sa identifikácie veterinárnych vzoriek.

Kontakt: jaroslav.bojnansky@medirex.sk

Využitie hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF v diagnostike anaeróbných infekciíLacková D.¹, Brucková B.¹¹HPL spol. s r.o., prevádzka Levice, člen skupiny MEDIREX GROUP

Anaeróbne baktérie sú častou príčinou infekcií, ktoré môžu mať vážny až život ohrozujúci priebeh. Identifikácia anaeróbných baktérií konvenčnými metódami je časovo a finančne náročná, založená na použití Gramovho farbenia a biochemických testov, ktoré majú obmedzené taxonomické rozlíšenie. Anaeróby sú často biochemicky inaktívne a problémom je aj ich pomalý rast na kultivačných pôdach. Často sú súčasťou polymikrobiálnych infekcií a na získanie čistej kultúry sú nutné ďalšie izolácie bakteriálneho kmeňa. Pre stanovenie diagnózy a efektívnu terapiu infekcie je však nevyhnutná rýchla a presná identifikácia etiologického agens. Zavedenie hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF MS do bežnej rutinej praxe prinieslo výrazné zmeny. Jednou z dôležitých skupín mikroorganizmov, ktoré profitujú z technologického pokroku v oblasti identifikácie mikroorganizmov sú práve anaeróbne baktérie. Na rozdiel od konvenčných metód identifikácie, pri ktorých je potrebná vysoká hustota inokula si hmotnostná spektrometria vystačí len s niekoľkými drobnými kolóniami (< 10⁴ buniek). Keďže identifikácia (porovnávanie hmotnostných spektier) prebieha automaticky sú vylúčené subjektívne vplyvy a identifikácia je reprodukovateľná. Využívaním aktuálnej databázy údajov narastá počet a rozširuje sa spektrum identifikovaných anaeróbných baktérií v mikrobiologickom laboratóriu, napr.: *Anaerococcus vaginalis*, *Finegoldia magna*, *Peptoniphilus harei*, *Porphyromonas somerae* a iné. Zmeny v nomenklatúre mikroorganizmov a popis nových druhov anaeróbných baktérií spôsobujú, že komerčne dodávané databázy je nutné pravidelne aktualizovať. Rýchlosť a presnosť identifikácie umožňuje ľahšie predikovať citlivosť na antibiotiká a rýchlejšie nasmerovať ciele antibiotickú terapiu, hlavne u závažných infekcií.

Kontakt: daniela.lackova@medirex.sk

Fingerprintové metódy v epidemiológii a vyhľadávanie ohnisk TBC

Poľanová M., Zemanová I., Poľan M., Zientek J.

Národný ústav tuberkulózy, pľúcnych chorôb a hrudníkovej chirurgie

Úvod:

Na infekcie spôsobené **mikroorganizmami**, prežívajúcimi **vo vnútri buniek** reaguje imunitný systém **tvorbou protilátok s nedostatočnou výpovednou hodnotou** a laboratórne testy sú potom pre klinika **často zavádzajúce**. **Bunkové funkčné testy** poskytujú lepšiu odpoveď organizmu na atak infekčného agens u pacienta a majú **lepšiu prognostickú výpoveď** pri diagnostike a monitorovaní ochorenia. Migrácia obyvateľstva v rámci EÚ je dnes vysoká, preto riziko migrácie osôb infikovaných tuberkulózou je často nekontrolovaná. Tuberkulóza aktívna aj latentná sa v súvislosti s utečencami stáva stále vypuklejším a viac diskutovaným problémom. Testovanie TBC aj iných intracelulárnych infekcií sa za posledných 5 rokov posunulo vpred.

Materiál a metódy:

V našom laboratóriu pracujeme s multirezistentnými kmeňmi mykobaktérií – od roku 2002. Ich počty sa v priebehu rokov pohybovali od 0 do 11 pacientov.

Výsledky:

V spolupráci s pracoviskami ECDC a WHO pre sledovanie migrácie MDR a XDR rezistencie sme porovnali kmene od pacientov zo severovýchodných okresov od roku 2015. V práci sme vyhodnotili výsledky a zaznamenali ohniská výskytu kmeňov s rovnakým fenotypom na základe testovania VNTR A miru a tiež sekvenácie DNA sledovaných kmeňov

Diskusia:

Na základe porovnávania a zhody v genetickej informácii kmeňov sme zistili migráciu pacientov a pôvodné ohnisko výskytu kmeňa a rovnako kontakty infikované tým istým kmeňom.

Záver:

Fingerprintové testy sú pre využitie v epidemiologickej praxi veľmi efektívne, uľahčujú vyhľadávanie ohnisk infekcie a zdroja nákazy a tým ich jednoduchšiu identifikáciu a likvidáciu zdroja ako aj sledovanie migrácie konkrétnych pacientov. Bohužiaľ neumožňujú testy s malým počtom vzoriek pre ich finančnú náročnosť a viazanosť na pomerne drahé prístrojové vybavenie pracoviska, preto je aj vo svete tendencia centralizovať tento typ vyšetrení a vytváranie cezhraničnej spolupráce v rámci EÚ.

Kontakt: monika.polanova@gmail.com

Naše skúsenosti s diagnostikou „Human papillomavirus“ (HPV).

Ohlasová D.¹, Botek R.², Olekšáková T.¹

¹ MEDY s.r.o. Košice, ² Laboratória s.r.o. Piešťany

Cieľ práce: Zistiť výskyt genotypov s vysokým karcinogénnym rizikom u pacientov v spádovej oblasti neštátneho nesieťového laboratória klinickej mikrobiológie MEDY s.r.o. Košice a neštátneho nesieťového laboratória klinickej mikrobiológie Laboratória s.r.o. Piešťany.

Úvod: Infekcia ľudskými *papilomavírusmi* (HPV) je považovaná za etiologický faktor zhubných nádorov angiogenitálnej oblasti, obzvlášť krčka maternice, pošvy a vulvy, konečníka, penisu a ďalších kožných a slizničných karcinómov aj v iných lokalizáciách ľudského tela. Infekcia HPV je chronický proces. Perzistujúca infekcia vysokorizikovými genotypmi, hlavne 16 a 18, má kľúčovú úlohu pri vývoji prekanceróz a karcinómov krčka maternice. Čas potrebný na vznik neoplastického procesu môže trvať 10-12 rokov.

Súbor: V období 10 rokov (2007 – 2016) bolo vyšetrených na dôkaz prítomnosti vysokorizikových genotypov HPV v MEDY s.r.o. Košice 3556 gynekologických vzoriek, v Laboratória s.r.o. Piešťany 5441 gynekologických vzoriek. Pacientky mali vek 10 až viac ako 61 rokov.

Metodika: V MEDY s.r.o. Košice boli vzorky vyšetrované molekulárnou metódou RT-PCR na prístroji IQ5 BIORAD. Boli použité diagnostické súbory AmpliSens HPV HCR Genotype FRT (firma E.coli s.r.o., SK) a *Human papillomavirus* high risk 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 types (firma DNK s.r.o., SK). V Laboratória s.r.o. Piešťany boli vzorky vyšetrované hybridizačnou metódou digene HC2 High-Risk HPV DNA (QIAGEN), AmpliSens HPV HCR Genotype FRT (firma E.coli s.r.o., SK) a *Human papillomavirus* high risk (firma DNK s.r.o., SK).

Výsledky: MEDY s.r.o. Košice: z 3556 gynekologických vzoriek, bolo pozitívnych nálezov vysokorizikových genotypov HPV s vírusovou „náložou“ viac ako 10^3 kópií genómu 1273, čo predstavuje 36 %. V Laboratória s.r.o. Piešťany: z 5441 gynekologických vzoriek bolo pozitívnych nálezov s vírusovou „náložou“ viac ako 10^3 kópií genómu 1607, čo predstavuje 30 %. V oboch laboratóriách bol najvyšší pozitívny výskyt vo vekovej skupine 21-30 rokov, za ňou nasledovala veková skupina 31-40 ročných žien. Vo vekovej skupine 21-30 rokov prevládali genotypy: 16, 18, 45, 31, 52. V tejto vekovej skupine bol aj najvyšší nález 2 až 7 vysokorizikových genotypov HPV súčasne.

Záver: Z výsledkov vyplýva, že pozitívne nálezy vysokorizikových genotypov HPV sú podobné v oboch spádových oblastiach dvoch nezávislých neštátnych nesieťových laboratórií, a to v jednotlivých rokoch aj vekových skupinách. Prevláda genotyp 16 v 35-45 % a genotyp 18 v 14 – 30%. Ďalšie genotypy s frekvenciou výskytu 8-21 % sú 31, 39, 55, 52, 51, 56. V nami vyšetrených materiáloch sme zaznamenali aj výskyt ostatných vysokorizikových genotypov HPV 33, 35, 45, 58, 59. Každým rokom sú objavované nové vysokorizikové genotypy HPV (26, 53, 66, 68, 69, 73, 82). Od roku 2008 majú ženy na Slovensku k dispozícii vakcíny. Očkovanie je dobrovoľné. Vakcíny by mali poskytnúť ochranu proti genotypom 16, 18, 31, 45. V 80-90% HPV infekcia má iba tranzitný charakter. Po niekoľkých mesiacoch trvania spontánne odoznie a nenechá morfológické zmeny. Pre posúdenie klinickej významnosti infekcie je však najdôležitejší cytologický a histologický nález.

Kontakt: daniela.ohlasova@gmail.com

Molekulárna diagnostika herpetických neuroinfekcií

Bečková Z., Helmová L., Dekišová M.

Pracovisko klinickej mikrobiológie CLK, FN sP FDR Banská Bystrica

Herpetické neuroinfekcie sú ochorením prevažne CNS, ktoré prebiehajú vo forme encefalitíd s horúčkami, bolesťami hlavy a alterovaným mentálnym stavom. Ich priebeh varíruje od subakútneho až po fulminantý, končiaci exitom, prípadne trvalými následkami. Na druhej strane je k dispozícii kauzálna terapia, ktorej skoré nasadenie môže významne ovplyvniť priebeh a prípadné následky. Preto je nesmierne dôležitá skorá a jednoznačná diagnostika infekčného agens.

Autori uvádzajú kazuistiky pacientov s atypickým priebehom herpetických neuroinfekcií v úvode ochorenia, u ktorých RT-PCR umožnila rýchlú identifikáciu etiologického agens. Nepriame metódy diagnostiky vzhľadom k neskoršiemu nástupu tvorby protilátok potvrdili primárny nález po odoznení akútnej fázy, až v kontrolných vzorkách bol zaznamenaný signifikantný vzostup protilátok v sére ako aj pozitívna intratekálna tvorba špecifických protilátok.

Včasná diagnostika herpetických encefalitíd umožňuje rýchle nasadenie adekvátnej terapie, prispieva k ľahšiemu priebehu a minimalizuje postinfekčné postihnutia CNS.

Kontakt: zbeckova@nspbb.sk

Faktory virulencie karbapeném-rezistentných *Klebsiella pneumoniae*

V. Kmet¹, Ohlasová D.², Kmet'ová M.³, Nikš M.⁴

¹ Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Šoltésovej 4, 040 01 Košice, ² Medy s.r.o., Košice, ³ Ústav lekárskej a klinickej mikrobiológie LF UPJŠ Košice, ⁴ NRC pre sledovanie rezistencie na antibiotiká, ÚVZ SR, Bratislava

Úvod a cieľ práce: Karbapenemáza-pozitívne enterobaktérie, sa môžu ľahko integrovať do normálnej flóry čreva. Naviac kmene *K. pneumoniae* majú schopnosť tvoriť biofilm. Cieľom práce bolo určiť výskyt vybraných faktorov virulencie (adherencia a vychytávanie železa) u karbapeném rezistentných izolátov *K. pneumoniae*.

Metodika: Vyšetřili sme 27 epidemických karbapeném- rezistentných nepříbuzných izolátov *K. pneumoniae* (zbierka ÚVZ SR z rokov 2013-2016), na porovnanie sa použilo 5 citlivých klinických izolátov (izoláty z hrdla). Pomocou PCR (Compain a kol. 2014) sme určili prítomnosť génov *ybtS*, *kfu*, *entB* (železo), *ompA*, *mrkD*, (adherencia).

Výsledky a zhodnotenie: Všetky vyšetřované karbapeném-rezistentné klebsiely mali yersinia-baktínový siderofór *ybtS* a fimbrie typu 3 *mrkD*. Enterochelín *entB* slúžil ako pozitívna kontrola, bol pozitívny u všetkých kmeňov. Regulátor mukoidného fenotypu A *ompA* sme zistili len u troch citlivých klebsiel a tie iste kmene mali aj gén *mrkD*. U oboch skupín kmeňov (rezistentných a citlivých) sme ani v jednom prípade nedetekovali gén *kfu* kódujúci transport železa. Rozdiel vo výskyte faktorov virulencie medzi nami vyšetřenými citlivými a rezistentnými kmeňmi klebsiel sme nezistili. Podobný poznatok o absencii korelácie tvorby karbapenemáz a virulencie klebsiel zaznamenali aj Siu a kol. (2012). Lavigne a kol. (2013) pomocou biologického modelu s nematódom *Caenorhabditis elegans* zistili, že epidemicky úspešná KPC-2 pozitívna *K. pneumoniae* typu ST258 má vyššiu virulenciu ako iné klony klebsiel produkujúcich KPC-2 karbapenemázu. Podporuje to hypotézu, že samotná tvorba karbapenemáz nesúvisí priamo s virulenciou kmeňa.

Práca je výsledkom riešenia projektu APVV-14-0274

Kontakt: kmetv@saske.sk

Mikrobiologický ústav LF UK a UNB: súčasný stav vs vízia do roku 2027

Liptáková A.

Mikrobiologický ústav LF a UNB, Bratislava

Mikrobiologický ústav je potrebné revitalizovať, aby bol na úrovni porovnateľnej s kvalitnými laboratóriami iných nemocníc v pôsobnosti Ministerstva zdravotníctva (MZ SR), ako sú Košice a Nitra. Preto sme v spolupráci s ministerstvom, univerzitnou nemocnicou (UNB) a Všeobecnou zdravotnou poisťovňou (VšZP) pripravili projekt na vybudovanie kvalitného univerzitného mikrobiologického pracoviska:

Projekt Revitalizácie Mikrobiologického ústavu obsahuje analýzu a návrhy riešení v troch oblastiach: Výkony, priestorové, personálne a materiálno-technické vybavenie a financie. V tejto štúdii poukazujeme na súčasný stav pracoviska a identifikujeme oblasti, v ktorých je možné skvalitniť doterajšiu úroveň poskytovaných služieb tak, aby boli splnené tieto ciele:

1. Správne diagnostikovaný pacient
2. Vybudovať špičkové mikrobiologické pracovisko na slovenskej, resp. stredo európskej úrovni
3. Byť spoľahlivým partnerom pre kolegov a externých zákazníkov

Projekt nie je možné realizovať bez súčinnosti hlavných organizácií, ako je MZ SR, UNB, VšZP a LF UK.

Institute of Microbiology Medical Faculty Comenius University and University Hospital in COMBACTE partnership

Institute of Microbiology Medical Faculty Comenius University and University Hospital joins LAB-Net the Laboratory Network of COMBACTE (Combating Bacterial Resistance in Europe), a project under the Innovative Medicines Initiative (IMI) funded New Drugs for Bad Bugs (ND4BB) program.

About IMI ND4BB program

Antibiotic-resistant bacteria kill 25 000 people in the EU every year, and cost the economy €1.5 billion. The Innovative Medicines Initiative (IMI) New Drugs 4 Bad Bugs (ND4BB) program has been launched to stimulate antibiotic development in Europe. ND4BB represents an unprecedented partnership between industry, academia and biotech organizations to combat antibiotic resistance in Europe by tackling the scientific, regulatory, and business challenges that are hampering the development of new antibiotics. For more information on IMI and the ND4BB program, please visit www.imi.europa.eu.

COMBACTE: improving clinical trials for antibiotics

The COMBACTE project focusses on addressing the barriers to clinical development of new drugs in the anti-infections field. One of the key outcomes will be a high quality European clinical trial and laboratory network in which new antibiotics for treatment and prevention of infections caused by antibiotic-resistant bacteria can be evaluated. For more information on COMBACTE and the ASPIRE-ICU trial please visit www.combacte.com.

innovative
medicines
initiative

This research project receives support from the Innovative Medicines Initiative Joint Undertaking under grant agreement n° 115523 | 115620 | 115737 resources of which are composed of financial contribution from the European Union Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013) and EFPIA companies in kind contribution.

Kontakt: adriana.liptakova@fmed.uniba.sk

Mikrobiologické príčiny opakovaných cystitíd

Slobodníková L.

Mikrobiologický ústav Lekárskej Fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice v Bratislave

Infekcie močových ciest patria k pomerne častým zdravotným problémom. Napriek cielej antibiotickej terapii sa u časti pacientov po kratšom alebo dlhšom bezpríznakovom období opätovne objavuje močová infekcia, ktorá môže byť vyvolaná rovnakým kmeňom s rovnakou in vitro citlivosťou na antimikrobiálne liečivá. Môže ísť o reinfekciu, ale aj o reaktiváciu pôvodného kmeňa, ktorý prežil antibiotickú terapiu v stave perzistencie. Perzistujúce baktérie vznikajú v ložisku infekcie obvykle v súvislosti s biofilmovou formou rastu na cudzích povrchoch (katéter, stent, kameň), alebo na poškodenom vlastnom tkanive (zjazvený povrch sliznice močového mechúra). Ďalšou možnosťou je intracelulárny prienik infikujúcej baktérie do slizničných buniek uroepitelu a s ním spojený vznik intracelulárne perzistujúcich bakteriálnych buniek. Opakovaná liečba antibiotikami nemusí v tomto prípade viesť k trvalému terapeutickému úspechu. V takýchto prípadoch je možné podávať komerčne dostupné imunomodulátory mikrobiálneho pôvodu, alebo autovakcíny, ktoré obvykle vedú k zníženiu počtu recidív, alebo aj k eradikácii perzistujúceho infikujúceho pôvodcu.

Kontakt: livia.slobodnikova@fmed.uniba.sk

Infekcie totálnych endoprotéz bedrového kĺbu , kazuistiky

Jacák Š.¹, Csölleyová E.¹, Kayser J.²

¹ *Medirex a.s., sekcia HPL, Odd. bakteriológie, Galanta*

² *Nemocnica s poliklinikou sv. Lukáša, Odd. ortopédie a traumatológie, Galanta*

V prednáške autori popisujú priebeh ochorenia dvoch pacientov s totálnymi endoprotézami, u ktorých bolo potrebné pristúpiť k revíznej operácii z dôvodu infekčných komplikácií. Jedna kazuistika hovorí o povrchovej skorej infekcii, druhá o chronickej infekcie šírenej hematogénnou cestou.

V prednáške sú uvedené poznatky o infekciách ortopedických implantátov , ich klasifikácia a ich najčastejší mikrobiologickí vyvolávatelia.

Autori predstavujú úskalia spojené s diagnostikou periprotetických infekcií, ktoré v praxi dodnes pretrvávajú. Dôraz kladú na to, aby diagnostický postup a následná terapeutická intervencia boli výsledkom vzájomnej kooperácie lekárov z kliník a v laboratóriách mikrobiologických a biochemických. Súčasťou mikrobiologických analýz by mali byť okrem klasickej kultivácie a kultivácie predĺženej na 14 dní aj molekulárno-biologické metódy. Väčšinu infekcií majú na svedomí bakteriálne druhy bežne sa vyskytujúce na koži pacienta, preto je potrebné, aby lekári prvého kontaktu s pacientom vedeli, ako správne postupovať pri odbere vzoriek. Vylúčiť kontamináciu pomôže vhodný druh vzorky, jej odber podľa sterilných postupov a vykonať niekoľko sterov z rôznych lokalít. Preferujú sa periprotetické tkanivá, aspiráty abscesov alebo tekutiny v kĺbovej dutine zapáleného kĺbu, ktorú je výhodnejšie odoslať na mikrobiologickú analýzu v nádobách systému BACTEC. Odber vzorky z povrchu extrahovanej endoprotézy sa neodporúča v podobe steru, ale mal by sa použiť sonikátor na uvoľnenie biofilmu a na kultiváciu odoslať vzorku z tekutiny (Ringer's), do ktorej sa dostali planktonické formy etiologického agens. Najčastejšími vyvolávateľmi týchto infekcií sú stafylokoky koaguláza-negatívne, ktorých patogenita je podmienená schopnosťou tvoriť biofilm. Veľké množstvo falošne negatívnych kultivácií pripadá na vrub antibiotickej profylaxie v čase odberu vzoriek, forme small colony cells väčšiny kmeňov, ktoré žijú intracelulárne a ťažko sa kultivujú. V neposlednom rade je príčinou biofilmová forma existencie etiologických agens.

U oboch pacientov boli kultivačné analýzy negatívne. Kultivácia nebola predĺžená na dva týždne. Išlo o stery z povrchov endoprotéz odobrané peroperačne. Pri hematogénnej forme sa nepodaril objasniť fokus ako zdroj infekcie. Napriek tomu biochemické parametre a klinický obraz pacientov svedčili pre infekčnú príčinu rejeckie a zlyhania endoprotézy. Aseptické uvoľnenie vylúčili ortopédi na základe elevácie CRP, FW, IL-6, rádiologických obrazov, bolestivosti a začervenania okolo kĺbu. V oboch prípadoch boli správne realizované profylaktické režimy v čase primoimplantácie, aj v čase revízneho zákroku. Povrchovú formu infekcie sa podarilo vyriešiť opakovanými antiseptickými lavážami, debridementom. Hlboká chronická infekcia bola zvládnutá v dvoch epatách: za pomoci dočasného spaceru a následne zavedením novej endoprotézy

Kontakt: stefanjacak@gmail.com

Závery z konferencie ECCI 2016 a naše skúsenosti s diagnostikou kongenitálnych CMV infekcií

Kollárová K., Hučková D.

Medirex, a.s., Bratislava

Cieľom prednášky je zhrnúť závery medzinárodnej konferencie, ktorá sa konala 24.-26.4.2016 v San Servolo (Benátky) pod záštitou Európskej iniciatívy pre kongenitálne cytomegalovírusové (cCMV) infekcie (ECCI – European Congenital Cytomegalovirus Initiative) a tiež prezentovať naše výsledky vyšetrení v súvislosti s diferenciálnou diagnostikou cCMV infekcií za obdobie 8 rokov.

Teoretická časť zahŕňa najnovšie poznatky z oblasti epidemiológie, laboratórnej diagnostiky, prevencie a terapie cCMV infekcií.

Výsledky vyšetrení vzoriek od matiek a novorodencov z obdobia 04/2008 až 04/2016 sme rozdelili na laboratórnu diagnostiku cCMV infekcií: a) v gravidite (detekcia CMV DNA, resp. stanovenie nálože DNA metódou kvantitatívnej real-time PCR v amniotickej tekutine); b) u symptomatických novorodencov (pozitivita CMV DNA PCR z moču, príp. krvi odobratých 0-14 dní po narodení dieťaťa, niekedy doplnené i o sérologické stanovenie špecifických protilátok triedy IgM a IgG proti CMV); c) u detí, ktoré boli pri narodení asymptomatické a je u nich podozrenie na neskoré následky cCMV infekcie (vyšetrenie CMV DNA PCR zo suchej kvapky krvi odobratej pri narodení dieťaťa na perinatálnu kartu (Guthrie card)). Pozitivitu CMV DNA sme stanovili v 3 vzorkách z 58 celkovo vyšetrených amniotických tekutín, v 7 z 23 perinatálnych kariet a z moču/krví u 18 novorodencov (0-14 dní po narodení) z 502 detí so suspektnou kongenitálnou infekciou.

Nakoľko sa skrining cCMV infekcií u novorodencov nevykonáva, predpokladáme (i podľa diagnózy) 18 symptomatických novorodencov a minimálne 7 detí s neskorými následkami cCMV infekcií.

Kongenitálne CMV infekcie sú relatívne bežné a nerozpoznané/podceňované. Je potrebné zvýšiť povedomie o cCMV infekciách nielen u odbornej ale i laickej verejnosti, najmä u žien vo fertilnom veku.

Kontakt: katarina.kollarova@medirex.sk

Kvantitatívny HBsAg – prvé skúsenosti.

Helmová L., Bečková Z., Dekišová M.

CLK-Pracovisko klinickej mikrobiológie, FNsP FDR Banská Bystrica

Podľa WHO (apríl 2017), vírusovou hepatítidou B je postihnutých celosvetovo približne 257 miliónov pacientov. Jej priebeh môže byť akútny alebo chronický, v závislosti od imunitného stavu pacienta. Chronická hepatitída B môže po rokoch prejsť do inaktívneho nosičstva HBsAg, ale aj vyústiť do cirhózy alebo hepatocelulárneho karcinómu. Preto je dôležité určiť aktivitu vírusu ako aj mieru infikovanosti hepatocytu. Ideálnou možnosťou by bol monitoring cccDNA v hepatocytoch. Táto metóda by vyžadovala punkciu pečene, a nie je použiteľná na monitoring pacienta. Preto sa hľadajú možnosti menej invazívnych vyšetrovacích metód.

Autori prezentujú svoje prvé skúsenosti s kvantifikáciou HBsAg, markera miery infikovanosti buniek pečene a porovnávajú údaje s výsledkami sledovania vírusovej nálož metódou RT PCR v periférnej krvi.

Chronická vírusová hepatitída B je dlhodobý proces a výsledky krátkodobého sledovania neumožňujú priniesť definitívny záver. Zhodnotenie významu kvantifikácie HBsAg ako možného indikátora prognózy priebehu infekcie si vyžaduje dlhšie sledovanie.

Kontakt: lhelmova@gmail.com

Desať rokov preventívneho programu na toxoplazmózu u rizikových skupín v SR

Ondriska F.^{1,2}, Lesný P.³, Ondrušková M.⁴, Boldiš V.¹, Lipková S.¹ a kol.

¹Medirex Group a.s., Bratislava, ²FVZ TU, Trnava, ³NÚSCH, Bratislava,

⁴KIGM LF UK, SZU a UNB, Bratislava

Toxoplazmóza je najväčším rizikom pre plod v dôsledku primoinfekcie tehotnej ženy a pre pacientov s oslabenou imunitou, u ktorých môže spôsobiť vážne ochorenie končiacie často fatálne. Preto v mnohých krajinách majú za účelom včasného odhalenia infekcie, resp. redukcie následkov toxoplazmózy zavedený pre rizikové skupiny preventívny sérologický skrining. V SR je program prevencie toxoplazmózy obsiahnutý v Odbornom usmernení MzD SR č. 106/2006 o diagnostike toxoplazmózy, ktoré je v platnosti od 1. 10. 2006. Cieľom prednášky je vyhodnotiť a porovnať efektivitu plnenia ustanovení Odborného usmernenia za obdobie 10. rokov jeho platnosti v skupine tehotných žien a pacientov v transplantačnom programe srdca (HTx) od roku 1998.

Súbor pacientov: V rokoch 1998 – 2016 sme vyšetrili 69138 tehotných žien na toxoplazmózu (8637 tehotných žien v rokoch 1998 – 2006 a 60501 v rokoch 2007 – 2016) zo zdravotníckych zariadení Bratislavy a okolia a 273 recipientov srdca operovaných a dispenzarizovaných v NÚSCH Bratislava.

Metódy: U každej vzorky sme vyšetrili celkové protilátky reakciou väzby komplementu a protilátky IgG a IgM imunoenzymatickou reakciou (EIA). Pre potreby determinácie toxoplazmového statusu sme v druhom kroku vyšetrovali IgA protilátky, aviditu IgG protilátok. V plodovej vode a plnej krvi sme vyšetrovali DNA *T. gondii* metódou PCR, postnatálne sme overovali susp. kongenitálnu infekciu paralelným vyšetrením krvi matky a novorodenca komparatívnym blotom IgG.

Výsledky: Primárnu toxoplazmovú infekciu sme dokázali u 99 (0,14 %) tehotných žien V 1. trimestri sa infikovalo 94 žien, päť žien akvirovalo infekciu v III. trimestri; u týchto piatich žien sme zistili kongenitálnu infekciu. Dvaja novorodenci sa narodili s chorioretinitídou a kalcifikátmi v mozgu, u ostatných troch neboli zaznamenané symptómy toxoplazmózy. Štyri ženy porodili mŕtvy plod a sedem žien podstúpilo interrupciu. Ani v jednom prípade nebolo vykonané patologické vyšetrenie. 85 žien bolo liečených rovamycínom, porodili zdravé deti. Incidencia primoinfekcií bola za obdobie pred a po aplikácii prenatalného skriningu približne rovnaká, ale v období po roku 2006 významne narástol počet narodených zdravých detí (86,7 %, $\chi^2 = 3,4$, $p < 0,05$). Z 273 pacientov v transplantačnom programe sme séropozitivitu zistili u 148 pacientov ($54,2 \pm 6,7$ %), primárnu toxoplazmózu sme dokázali u 10 (3,7 %) pacientov po HTx, pred transplantáciou sérologicky negatívnych. Z nich 8 recipientov srdca akvirovalo primárnu toxoplazmovú infekciu približne 1 – 2 roky po HTx, u dvoch pacientov došlo k prenosu infekcie transplantátom, čo potvrdila endomyokardiálna biopsia nálezom cýst *T. gondii*. U jedného pacienta sa toxoplazmóza manifestovala myokarditídou, u druhého obojstrannou bronchopneumóniou. V spúte a pľúcnom výplachu sme potvrdili DNA *T. gondii* metódou PCR. Štyria pacienti s akvirovanou toxoplazmózou boli bez symptómov, u troch pacientov sa toxoplazmóza manifestovala miernymi príznakmi chrípky. Jeden pacient zomrel.

Záver: V našej práci sme dokázali význam a efektivitu preventívneho skriningu na toxoplazmózu čoho dôkazom je rastúci počet odhalených toxoplazmových primoinfekcií v tehotenstve i u príjemcov srdca.

Úskalia skríningu toxoplazmózy v gravidite

Botek R.^{1,2}, Melicháčová V.¹, Vašková S.^{1,2}, Gašpar E.¹, Hájková K.¹

¹Laboratóriá Piešťany s.r.o. ²Trnavská univerzita v Trnave, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce

Úvod

Toxoplazmóza je celosvetovo rozšírená nákaza s incidenciou v Európskej únii 0,76/100 000 a na Slovensku 3,2/100 000 obyvateľov (ECDC 2010). Primárna infekcia počas gravidity môže viesť k vážnym až fatálnym dôsledkom pre plod. Od roku 2008 ECDC prestala sledovať incidenciu toxoplazmózy v populácii a sleduje len overené prípady kongenitálnej toxoplazmózy s incidenciou v rokoch 2010 - 2014 7,9 – 1,6/100000 živonarodených. Slovensko od roku 2007 nehlásilo žiaden prípad kongenitálnej toxoplazmózy.

Materiál a metódy

Skrínigové vyšetrenie v gravidite vykonávame stanovením protilátok triedy IgA/M/G metódou ELISA (Platelia toxo, Biorad), pozitívny nález confirmujeme imunoblotom (recmoLine Toxoplasma, ALL DIAG), NFT s antiHuman total Ig (Fluolin H, IFAT, bioMérieux) a aviditu IgG Elecsys Toxo IgG Avidity (Roche).

Výsledky

V období 2015 - 2016 sme z 3154 skrínigových vyšetrení 2634 gravidných žien zaznamenali pozitívitu IgM v 49 prípadoch gravidity. Špecifickosť IgM sme imunoblotom potvrdili v 10 (20%) prípadoch, pričom u troch žien sme vykonali opakované vyšetrenie. U týchto siedmich žien sme potvrdili aj špecifickosť IgG. Nízkoavidné IgG sme zaznamenali v štyroch prípadoch u troch gravidných (u jednej pacientky sme zaznamenali rozdielne hodnoty avidity v opakovanom vyšetrení). Titer protilátok v nepriamom imunofluorescenčnom teste sa pohyboval v rozmedzí 64 až 1024, pričom hodnoty titru 512 a 1024 sme zaznamenali u matiek s nízkoavidnými IgG. Vo všetkých prípadoch sa podľa hodnotenia výrobcu nízkoavidné IgG pohybovali tesne pod hornou hranicou (tab. 1). V štyroch prípadoch sme získali informáciu, že matky porodili zdravé dieťa. Vzhľadom na pôrod mimo región výsledky u novorodencov nemáme k dispozícii.

Záver

Detekcia primárne toxoplazmózy v gravidite je pre matku i zdravotnícky personál stresujúce zistenie, ktoré môže viesť k závažným dôsledkom. Diagnostika musí byť presná a precízna a každú pozitívitu v triede IgA a IgM je nevyhnutné confirmovať. Hodnotenie avidity IgG a NFT (KFT) je nevyhnutné hodnotiť kriticky a konzultovať s ošetrojúcim lekárom.

Tab. 1

Matka 1	IgM	Imunoblot IgM	NFT titer	IgG avidita %%
Matka 1	POS	POS	128	88
Matka 2	POS	POS	128	86
Matka 3	POS	POS	512	56
Matka 3	POS	POS	1024	66
Matka 4	POS	POS	1024	72
Matka 5	POS	POS	64	91
Matka 6	POS	POS	128	88
Matka 7	POS	POS	256	77
Matka 7	POS	POS	512	61
IgG avidita *	POS	POS	1024	65

*IgG avidita hodnotenie Roche < 70 nízkoavidné 70 – 80 nejasné > 80 vysokoavidné
Elecsys

Kontakt: botek@laboratoria.sk

Ďalší prípad očnej dirofilariózy v SR

Ondriska F.^{1,2}, Boldiš V.¹, Stanislavová M.³, Miterpáková M.⁴, Antolová D.⁴, Hanáček A.⁵, Vešperová S.⁶, Jančovič I.⁷

¹Medirex Group a.s., úsek parazitológie, ²FVZ TU, Trnava, ³UNB NsP Ružinov, ⁴Parazitologický ústav SAV Košice, ⁵FN Trnava, očná ambulancia Trnava, ⁶FN Trnava, infektologická ambulancia Trnava, ⁷ORL ambulancia Bánovce nad Bebravou

Dirofilarióza je zoonóza s rastúcou incidenciou v mnohých európskych krajinách, kde sa predtým nevyskytovala a považuje sa za najrýchlejšie šíriacu sa zoonózu. Infekčné štádium helminta je prenášané na človeka viacerými rodmi komárov vyskytujúcimi sa aj v našich podmienkach z rezervoárových zvierat, ktorými sú najčastejšie psy, mačky, líšky. Človek je slepou vetvou, podkožne migrujúci a dorastajúci helmint nedosahuje spravidla pohlavnej zrelosti a lokalizuje sa pod kožou v uzlíku alebo migruje do oka ako dokumentujeme v našom prípade.

Kazuistika: 58-ročný muž v auguste 2016 dovolenkoval v Kalábrii v Južnom Taliansku. Začiatkom februára 2017 sa mu objavili na ľavej nohe asi 10 cm pod rozkrokom červené pásiky (hrčky), v priebehu 4 – 5 dní zmizli a postupne sa objavili na pravej strane chrbáta nad zadkom, potom pod lopatkou. Hrčky boli podlhovasté, vystúpené približne 0,5 mm, široké okolo 2 cm, boli červené a svrbeli. Pod lopatkou už nesvrbeli ale pocitovo ich vnímal ako vytvorený hnisavý vred. 10. 3. 2017 sa dostavili bolesti na ľavej spánkovej kosti, opuchnutú mal ľavú polovicu tváre a zväčšené lymfatické uzliny pod ľavou sánkou. 18. 3. vo večerných hodinách začal pociťovať ukrutnú bolesť na pozadí pravej očnej bulvy, ktorá trvala asi hodinu, potom ustala a 19. 3. o 4:30 nad ránom sa bolesť opakovala a trvala asi 30 min. V oboch prípadoch to bolo sprevádzané silným dávením a následným vracaním. Očný lekár zistil pod spojovkou stočeného živého helminta. Vo večerných hodinách bol helmint z oka chirurgicky extrahovaný, bol približne 10 cm dlhý. V laboratóriu sme na základe morfológických znakov – priečneho pruhovania a typických pozdĺžnych hrebeňov identifikovali ako *D. repens*. Molekulovou analýzou DNA parazita bol druh *D. repens* potvrdený. Či sa pacient infikoval v Taliansku nie je až tak jednoznačné, býva v Piešťanoch, mohlo ísť aj o autochtónnu infekciu.

Humánna dirofilarióza je nová nozologická jednotka, ktorá bola na Slovensku u človeka prvýkrát diagnostikovaná v roku 2017. Aj s týmto je doposiaľ je známych 12 pravdepodobne autochtónnych prípadov, z toho u 8 pacientov išlo o podkožnú lokalizáciu, u štyroch pacientov bol helmint nájdený a chirurgicky odstránený z oka pacientov. U všetkých pacientov bol identifikovaný druh *Dirofilaria repens*.

Kontakt: ondriska@hpl.sk

Rickettsie, *Coxiella burnetii* a iné kliešťami prenášané patogény na Slovensku

Špitalská E.¹, Palkovičová K.¹, Rusňáková Tarageľová V.², Fumačová S.¹, Štefanidesová K.¹

¹Národné referenčné centrum pre surveillance a laboratórnu diagnostiku rickettsióz, Virologický ústav, Biomedicínske centrum, SAV, Bratislava, ²Ústav zoológie, SAV, Bratislava

Na Slovensku cirkulujú kliešťami prenášané patogény, ktorými môžu byť infikované zvieratá, ale i ľudia prostredníctvom ich vektorov – kliešťov. *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus* a *D. marginatus* sú epidemiologicky najvýznamnejšie kliešte vyskytujúce sa na Slovensku. Sú vektormi viacerých patogénov, napr. *Rickettsia slovaca*, *R. raoultii*, *R. helvetica* a *R. monacensis*, ktoré môžu spôsobiť rickettsiózy. Rickettsie sú prirodzenými endoparazitmi niektorých krv cicajúcich článkonožcov nielen kliešťov, ale aj vší, blých, roztočov. Na stavovce sú prenášané výlučkami slinných žliaz alebo trusom článkonožcov. V prirodzenom cykle rickettsií je človek slepou vetvou. Vstupnou bránou pre infekciu je koža, odkiaľ sa rickettsie šíria krvným obehom a infikujú bunky vaskulárneho endotelu. Pacienti majú typické symptómy: vysoká horúčka, exantémy, viscerálne komplikácie, nevoľnosť, zvracanie, abdominálne bolesti, encefalitída, hypotenzia, akútne zlyhanie obličiek, respiračné ťažkosti. Ďalšie patogény prenášané *I. ricinus* sú vírus kliešťovej encefalitídy, borélie, anaplasmy, babézie spôsobujúce kliešťovú encefalitídu, boreliózu, anaplazmózu a babeziózu. U ľudí spôsobujú lymskú boreliózu: *B. burgdorferi* s.s. (postihuje kĺby), *B. garinii* a *B. bavariensis* (vyvolávajú nervové príznaky), *B. afzelii* (spôsobuje prevažne kožnú formu), *B. spielmanii* (asociovaná s kožnými léziami), *B. bissettii* (chrípkové príznaky). *A. phagocytophilum* napáda neutrofilu, kde sa množí. Klinické príznaky sú podobné chrípke: horúčky, bolesti hlavy a svalov, malátnosť, menej často: nevoľnosť, bolesť kĺbov, zvracanie, hnačky a kašeľ.

V našom NRC vyšetrujeme prítomnosť spomínaných patogénov v kliešťoch a vykonávame sérologický dôkaz IgG, IgM protilátok proti rickettsiám skupiny purpurových horúčok a týfusovej skupiny, a *C. burnetii* fázy I a fázy II v sérach pacientov.

Štúdium je finančne podporované projektami VEGA 2/0068/17 a 2/0119/17.

Kontakt: eva.spitalska@savba.sk

Analýza kmeňov LAB pomocou celogenómového sekvenovania

Drahovská H.¹, Lichvariková A.¹, Hýblová M.¹, Szemes T.¹, Kuchta T.²

¹Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Ilkovičova 6, 84115 Bratislava

²Výskumný ústav potravinársky, NPPC, Bratislava

Úvod a cieľ práce: Baktérie mliečneho kvasenia (LAB, Lactic Acid Bacteria) predstavujú skupinu Gram-pozitívnych nesporulujúcich baktérií schopných fermentovať glukózu primárne na kyselinu mliečnu. Tieto kmene sa tradične využívajú pri príprave fermentovaných potravín. Cieľom práce bolo stanovenie celogenómovej sekvencie štyroch LAB kmeňov určených ako štartovacie alebo pomocné kultúry pre výrobu ovčieho hrudkového syra a analýza vlastností potrebných pre technologické spracovanie, pre chuť výrobkov a pre zdravotnú nezávadnosť potravín.

Metodika: V práci sme analyzovali štyri kmene získané v spolupráci s VÚP Bratislava.

Celogenómová sekvencia bola stanovená na prístroji MiSeq s využitím knižnice pripravenej pomocou Nextera kitu (Illumina). Genómy boli zložené pomocou programu CLC genomics, anotované pomocou RAST a analyzované pomocou programov K-mehr finder a Blast.

Výsledky a zhodnotenie: Pomocou programu K-mehr finder boli kmene zaradené k druhom *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lb. casei* a *Lb. paraplantarum*. Získané genómové sekvencie mali dĺžku 2,5-3,2 Mbp a kodovali 2500-3200 proteín kódujúcich génov. Všetky kmene boli blízko príbuzné ku kmeňom dostupným v DNA databázach, priemerná aminokyselinová podobnosť homologických proteínov s najpríbuznejším kmeňom bola vyššia ako 99%. Na druhej strane 12-15% génov bolo unikátnych pre sekvenovaný kmeň. Unikátne gény sa pravdepodobne nachádzajú na mobilných elementoch a môžu prispievať k dobrým technologickým vlastnostiam kmeňov. Zároveň môžu kódovať gény virulencie alebo rezistencie voči antimikrobiálnym látkam.

Práca je výsledkom riešenia projektu APVV-14-0025

hana.drahovska@gmail.com

Porovnanie potenciálu *in vitro* tvorby biofilmu bakteriálnych kmeňov izolovaných pri recidivujúcich IMC a kmeňov izolovaných pri akútnych nekomplikovaných IMC.

Vašková S.^{1,2}, Slobodníková L.³, Melicháčová V.¹, Botek R.^{1,2}

¹ Laboratóriá Piešťany, spol. s r. o., Piešťany,² Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita, Trnava,³ Mikrobiologický ústav LFUK a FN, Bratislava

Infekcie močových ciest (IMC) sú vzhľadom na početnosť výskytu najčastejšími infekciami vyvolanými bakteriálnymi pôvodcami. Mikrobiálna kolonizácia slizníc močových ciest a tvorba biofilmu je jedným z rizikových faktorov vzniku recidivujúcich IMC. Rast baktérií v biofilme sa spája s odolnosťou baktérií voči účinkom antiinfekčných látok. Hodnoty minimálnych inhibičných koncentrácií (MIC) stanovené pre planktonickú formu nezodpovedajú skutočným koncentráciám antiinfektív potrebným na likvidáciu baktérií v biofilme. Z klinického hľadiska je vyššia antimikrobiálna odolnosť biofilmových foriem mikroorganizmov závažným problémom a je častou príčinou zlyhania antimikrobiálnej terapie týchto infekcií.

Cieľom práce je *in vitro* podmienkach porovnať potenciál tvorby biofilmu bakteriálnych kmeňov izolovaných pri recidivujúcich IMC a kmeňov izolovaných pri akútnych nekomplikovaných infekciách.

V čase napísania abstraktu prebiehal výber a testovanie bakteriálnych kmeňov v *in vitro* podmienkach.

Kontakt: vaskova@laboratoria.sk

The Human BK Polyomavirus (BKV) Urine and Plasma Monitoring in Kidney Transplant Recipients

Mazurová J.¹, Pastvová L.², Gala I.³, Bena L.³, Rosenberger J.⁴

¹Faculty of Medicine, Pavol Jozef Šafarik University in Košice, ²Department of Medical Microbiology and ³Transplant Department of The University Hospital L.Pasteur Košice, ⁴Nephrology and Dialysis Center Fresenius, Košice, Slovakia

Background: BKV is the major cause of polyomavirus-associated nephropathy (BKVAN) putting up to 15% of kidney transplant recipients at risk of premature allograft loss. The aim of the study is BK virus monitoring in urine and plasma samples in kidney transplant patients. Quantifying BKV DNA in urine and plasma specimens by real-time PCR method is a key to initiating the reduction of immunosuppressive therapy.

Material/methods: 813 samples (405 urine and 408 plasma samples) collected from kidney transplant patients of Transplant Department of Louis Pasteur University Hospital Košice were examined. The Versant kPCR Molecular System with MiPLX Software Solution (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, USA) was used to extract DNA from patient samples. BKV amplification, detection and quantification were performed automatically on the AD module of the Versant kPCR Molecular System. kPCR PLX BKV assay kit with internal control and 4 quantitative standards has been used.

Results: 813 urine and plasma samples from 156 kidney transplant recipients have been screened for BK polyomavirus. 648 (79.7%) patient samples had undetectable BK viremia and viruria. 126 (15.5%) urine samples and 39 (4.8%) plasma samples showed BKV DNA positive results. BKV infection has been observed under all combinations of immunosuppression. We document a clear decrease in BKV replication that follows immunosuppression reductions.

Conclusions: We found prospective screening for BKV with subsequent immunosuppression reduction to be an effective prevention and cost effective prophylaxis for kidney transplant patients at increased risk of BKV nephropathy or allograft loss. BK viral load measurements in urine and plasma by real-time PCR technique have high negative predictive value (NPV) for BK nephropathy and 100% sensitivity. We have conducted routine screening of all renal transplant patients for BKV until 5 years post-transplant.

Address: jana.mazurova@siemens.com

Prevalencia a antibiotická citlivosť *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis* izolovaných z genitálnych a močových vzoriek zozbieraných v roku 2016 v KNsP Čadca

Ficik J., Liščáková J.

Oddelenie klinickej mikrobiológie a centrálnej sterilizácie KNsP Čadca

Mycoplasma hominis (*M. hominis*) a *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*) sú oportúnne patogény vyvolávajúce urogenitálne infekcie u detí aj dospelých. V tejto práci sme vyhodnotili prevalenciu a antibiotickú citlivosť urogenitálnych mykoplaziem izolovaných z genitálnych a močových vzoriek zozbieraných v roku 2016 v KNsP Čadca.

Z výsledkov vyplýva, že zastúpenie týchto mikroorganizmov v patogenéze urogenitálnych infekcií je najčastejšie vo fertilnom veku a po šesťdesiatom roku života u oboch pohlaví. Z celkového súboru 1821 vyšetrených materiálov sme zaznamenali výskyt urogenitálnych mykoplaziem u 526 pacientov, čo predstavuje 28,9 %, z toho 31% u žien a 18,6% u mužov. Najčastejšie bola diagnostikovaná *U. urealyticum*, až 71,1%, oveľa menej *M. hominis*, iba 3,6%. Prítomnosť oboidvoch mikroorganizmov sme dokázali u 25,3% vyšetrených materiálov. Pozitívne nálezy urogenitálnych mykoplaziem sme testovali na vybrané skupiny antibiotík, ktoré majú v ich liečbe terapeutický význam. Sú to antibiotiká makrolidovej a tetracyklínovej rady, chinolóny druhej a tretej generácie, zastúpené boli aj linkozamidy (klindamycín) a streptogramíny (pristinamycín). Zistili sme, že v testovanom súbore vzoriek zo spádovej oblasti KNsP Čadca možno v terapii odporučiť v prvom rade doxycyklín, ďalej pristinamycín, josamycín a minocyklín, i keď posledné tri antibiotiká nie sú na Slovensku registrované.

Kontakt: jozef.ficik@gmail.com

Charakterizácia klinických kmeňov *Salmonella enterica* sérovar 4,[5],12:i:- fágovou typizáciou, citlivosťou na antibiotiká, markermi virulencie a PFGE

Majtánová L., Sojka M., Majtán V.

Slovenská zdravotnícka univerzita, Lekárska fakulta, Ústav mikrobiológie, Bratislava

Monofázický variant *Salmonella* Typhimurium s antigénnou formulou 4,[5],12:i:- sa objavil v poslednej dekáde ako jeden z hlavných sérovarov súvisiacich s humánnou salmonelózou. Variácia druhej H fázy je indukovaná tromi génmi (*fljA*, *fljB*, *hin*) v chromozóme a delécia operónu *fljAB* a génu *hin* je hlavná genetická báza monofázického fenotypu. Študoval sa súbor 148 klinických kmeňov *S. enterica* sérovar 4,[5],12:i:-, u ktorých sa PCR analýzou zistil ten istý profil delécie, charakterizovaný neprítomnosťou génov *fljA*, *fljB* a *hin* a s výnimkou 7 kmeňov, aj prítomnosťou génu *iroB*. Cieľom štúdie bola fenotypová charakteristika týchto klinických kmeňov monofázického variantu (fágotyp, citlivosť na antibiotiká), detekcia vybraných markerov virulencie (produkcia biofilmu, 90kb plazmid virulencie) a analýza kmeňov v PFGE. Z 5 identifikovaných fágotypov dominovali kmene fágotypov U302 (12.8%), U311 (10.1%) a DT193 (8.1%). 65.5% kmeňov bolo netyповateľných. Tieto fágotypy sa často vyskytujú u kmeňov monofázického variantu aj v iných Európskych krajinách. Kmene sa vyznačovali multirezistenciou na antibiotiká s prevládajúcim rezistotypom ASSuT (79.7%), ktorý je charakteristický pre „Európsky klon“. U 8 kmeňov sa zistil iný typ multirezistencie, (napr. ASSuSxtTTMP, ACROSSuSxTTMP), typický pre kmene tzv. „Španielskeho“ klonu. Klastrová analýza PFGE ukázala, že študované kmene tvoria heterogénnu skupinu, ktorú je možné rozdeliť do ôsmich klastrov relatívne príbuzných kmeňov. Tieto výsledky naznačujú, že klinické kmene monofázického variantu izolované v SR pravdepodobne sú bez priamej epidemiologickej súvislosti a predstavujú zmes kmeňov viacerých klonov. Silná produkcia biofilmu sa zistila u 81 (54.7%) kmeňov a 90kb plazmid virulencie, ktorý je typický pre sérovar Typhimurium, obsahovalo 25 (16.9%) kmeňov.

„Tento článok bol vytvorený realizáciou projektu „Centrum excelentnosti environmentálneho zdravia“, ITMS č. 24240120033, na základe podpory operačného programu Výskum a vývoj, financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.“

Kontakt: lubica.majtanova@szu.sk

Karbapeném rezistentné enterobaktérie v komunitePidíková M.¹, Tomková T.²¹*synlab slovakia s.r.o., Ilava*, ²*Ambulancia Modra, s.r.o., Bratislava*

Výskyt karbapeném rezistentných enterobaktérií (CRE) u nás postupne narastá. CRE nemožno eradikovať antibiotickou liečbou. Podľa Odborného usmernenia MZ SR pre diagnostiku a protiepidemické opatrenia pri výskyte bakteriálnych pôvodcov infekčných ochorení s klinicky a epidemiologicky významnými mechanizmami rezistencie sú pacienti kolonizovaní CRE dispenzarizovaní. Ich kontakty v zdravotníckom zariadení sa vyšetrojú na prítomnosť CRE. Pacienti kolonizovaní CRE sú často pred plánovanou operáciou odsúvaní do domáceho prostredia, kde sa za predpokladu neužívania antibiotík očakáva u nich spontánna strata kolonizácie. Predpokladá sa, že pri dodržiavaní základných hygienických pravidiel nepredstavujú takýto pacienti pre svoje okolie nebezpečenstvo.

V práci prezentujeme kazuistiku 72-ročného pacienta, nosiča CRE (NDM), ktorý sa v domácich podmienkach stal zdrojom infekcie pre rodinného príslušníka liečeného antibiotikami. Následne sa u tohto rodinného príslušníka potvrdila aj rektálna kolonizácia CRE. Kazuistika potvrdzuje, že u osôb, ktoré prichádzajú v domácom prostredí do kontaktu s nosičmi CRE je treba venovať osobitnú pozornosť epidemiologickému hodnoteniu, laboratórnemu vyšetrovaniu a aj liečbe bežných komunitných infekcií.

Kontakt: michaela.pidikova@gmail.com

Záchyt MRSA pri depistáži u pacientov hospitalizovaných v Bojníckej nemocnici v rokoch 2015 – 2017

Minčíková K., Teslíková J.

Oddelenie klinickej mikrobiológie, NsP Prievidza so sídlom v Bojniciach, 2017

Cieľom tejto analýzy je zodpovedať si otázku, či má význam robiť depistáž MRSA u hospitalizovaných pacientov a v akom rozsahu.

Staphylococcus aureus je stále pôvodcom nozokomiálnych nákaz či už lokálnych infekcií alebo systémových zápalov končiacich často sepsou. Uplatňujú sa hlavne v traumatizovaných a devitalizovaných tkanivách, ako aj v miestach, kde je umiestnené cudzie teleso, napr. kanylá, katéter, endoprotéza, šicí materiál a pod. V ostatných rokoch sa však v nozokomiálnom prostredí zaznamenal alarmujúci nárast incidencie multirezistentných stafylokokov označovaných ako MRSA (methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*).

Šíreniu stafylokokov v zdravotníckych zariadeniach významne napomáhajú asymptomatickí nosiči. Epidemiologicky najzávažnejšie je nosové nosičstvo. U pacientov v nemocnici Bojnice boli v rokoch 2015, 2016 a v prvom štvrtroku 2017 MRSA izolované u 259 pacientov, čo je 2,2 % všetkých skrínovaných pacientov.

V tomto období bolo zistených 33 nozokomiálnych nákaz (NN) spôsobených MRSA, väčšina NN 20 (60,6 %) sa vyskytla ako ranové infekcie u pacientov z chirurgického oddelenia. U polovice chirurgických pacientov s ranovou NN spôsobenou MRSA bol tento mikroorganizmus zistený v depistáži v nose alebo hrdle.

Za obdobie 2 rokov a 3 mesiacov sme zaznamenali nárast priemerného mesačného výskytu MRSA u skrínovaných pacientov na dvojnásobok.

Sledovaný trend výskytu MRSA v nemocnici Bojnice je rastúci.

Je potrebné vykonávať skrínové vyšetrenie u pacientov s plánovanou operáciou hlavne z chirurgických oddelení (chirurgia, ortopédia, urológia, traumatológia), ďalej u všetkých pacientov prijímaných na oddelenia JIS a OAIM, u pacientov prichádzajúcich na hospitalizáciu z ústavov sociálnej starostlivosti alebo preložených z iných zdravotníckych zariadení na ktorékoľvek nemocničné oddelenie.

Kontakt: kmincikova@gmail.com



...riešenie pre Vaše laboratórium

Autorizované obchodné a servisné zastúpenie firiem pre SR a ČR:
THERMO SCIENTIFIC – divízia laboratórnych produktov
ARCTIKO - COMET System - ERLAB - EVERmed - GETTING/LANCER
RUSKINN - SYNBIOBIS - SYNGENE - TECHPLAST - TUTTNAUER

Profesionálne vybavenie, pre profesionálne laboratórium



TRADÍCIA A SKÚSENOSTI
OD **1993**
ROKU



- ▶ CENTRIFÚGY
- ▶ LAMINÁRNE BOXY, DIGESTORY
- ▶ CHOVNÉ BOXY PRE LABORÁTORNE ZVIERATÁ
- ▶ MRAZIACE A CHLADIACE BOXY
- ▶ TERMOSTATY, VODNÉ KÚPELE, SUŠIARNE, AUTOKLÁVY
- ▶ BOXY S ANAERÓBNOU ATMOSFÉROU
- ▶ LABORÁTORNE UMÝVAČKY, SUŠIČKY
- ▶ MOLEKULÁRNA BIOLÓGIA
- ▶ MIKROPLATNIČKOVÁ INŠTRUMENTÁCIA
- ▶ BIO-IMAGING a ANALÝZA
- ▶ KONCENTRÁTORY, LYOFILIZÁTORY
- ▶ POČÍTAČE KOLONIÍ A INHIBIČNÝCH ZÓN
- ▶ MONITORING TEPLoty, VLHKOSTI
- ▶ PURIFIKÁCIA VODY
- ▶ PIPETY, PLASTY
- ▶ SERVIS, VALIDÁCIE IQ/OQ/PQ



TRIGON PLUS s.r.o.
Goralská 40/22B1
851 01 Bratislava



02 835 31 241
0905 707 597



mail@trigon-plus.sk
www.trigon-plus.sk

Pokyny pre autorov:

Správy klinickej mikrobiológie uverejňujú pôvodné práce, prehľadové články, metodické postupy, diskusné príspevky a pod. so zameraním na problematiku lekárskej a klinickej mikrobiológie. Všetky práce sú recenzované oponentom.

Príspevok píšete v elektronickej forme a zasielajte do redakcie e-mailom. Píšete v slovenskom, českom, alebo anglickom jazyku. Pôvodné práce a prehľadové články by nemali presahovať rozsah najviac pätnásť normovaných strán formátu A4 (typ písma Times New Roman, veľkosť 12, 30 riadkov). Rukopis môže obsahovať fotografie, prehľadné grafy a obrázky v čiernobielych a aj vo farebnom prevedení. Príspevky majú mať obvyklú štruktúru (súhrn, úvod, materiál a metódy, výsledky, diskusia, závery a zoznam použitej literatúry). Citácie musia spĺňať požiadavky CSN 010197. Texty majú byť písané jasne, stručne, štylisticky aj jazykovo správne. Cudzie slová musia byť uvádzané v zhode so slovníkom cudzích slov. Za jazykovú úpravu textu zodpovedá autor. V nadpise autor uvedie plný názov pracoviska, z ktorého práca pochádza. Ak má práca viacerých autorov z viacerých pracovísk, uvedú sa všetci autori a všetky pracoviská. Pokiaľ pri pôvodných prácach vedúci pracoviska nie je autorom, ani spoluautorom práce, redakcia môže vyžiadať jeho súhlas s uverejnením textu (imprimatur).

Príspevky posielajte na adresu predsedu redakčnej rady alebo technického redaktora v jednom výtlačku výlučne v elektronickej forme. Uveďte telefonický a e-mailový kontakt na toho z autorov, kto bude komunikovať s redakciou. Všetky uverejnené príspevky sú nehonorované.

SPRÁVY KLINICKEJ MIKROBIOLÓGIE

Vydávajú :

Slovenská spoločnosť klinickej mikrobiológie Slovenskej lekárskej spoločnosti a
Sekcia klinickej mikrobiológie Slovenskej lekárskej komory
ako informačný bulletin pre svojich členov.

Redakčná rada :

RNDr. Jaroslav Bojňanský, Bratislava, jaroslav.bojnansky@medirex.sk
RNDr. V. Boldiš, PhD., Bratislava, vojtech.boldiš@medirex.sk
prof. MUDr. V. Kmeť, DrSc., Košice, kmetv@saske.sk,
doc. MUDr. Milan Nikš, CSc., Bratislava, niks.m@gmx.at
doc. RNDr. František Ondriska, PhD., ondriska@medirex.sk
RNDr. L. Slobodníková, CSc., Bratislava, livia.slobodnikova@fmed.uniba.sk
Doc. RNDr. Danica Staneková, CSc., Bratislava, danica.stanekova@szu.sk
MUDr. V. Takáčová, Košice, viktoriam.takacova@unlp.sk

Čestný člen:

MUDr. Anna Petrovičová, CSc., Bratislava, anna.petrovicova@szu.sk

Vedúci redaktor :

doc. MUDr. Milan Nikš, CSc., Bratislava

Technický redaktor:

RNDr. Jaroslav Bojňanský, Bratislava

Adresa redakcie :

Ústav mikrobiológie SZU,
Limbová 12, 833 03 Bratislava