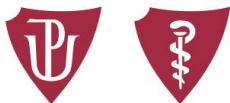


MULTIREZISTENTNÍ NEMOCNIČNÍ PATOGENY

Milan Kolář

Ústav mikrobiologie

FNOL a LF UP v Olomouci



Lékařská fakulta
Univerzity Palackého
v Olomouci



FAKULTNÍ NEMOCNICE
OLOMOUC

Motto:

*Bakterie byly na naší planetě
mnohem dříve než lidé a bezesporu
budou i mnohem déle.*

*Je však důležité udělat vše proto,
aby doba společného soužití člověka
a bakterií byla co nejdelší.*

Milan Kolář

- Nedílnou součástí života lidí jsou bakterie, tvořící normální mikroflóru lidského těla.

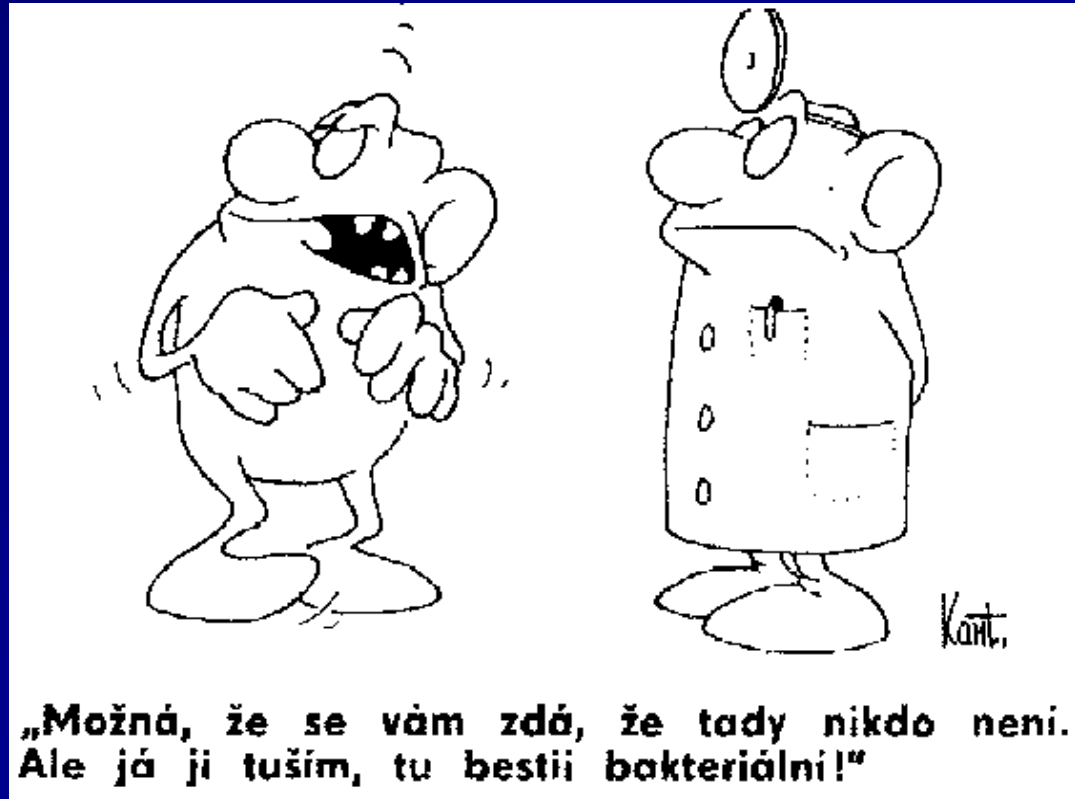


- Vztah mezi bakterií a makroorganismem lze ve většině případů charakterizovat jako fyziologickou interakci, v jejímž rámci je vzájemné působení synergické.
- Bohužel, tento vztah může být i nefyziologický, kdy se bakterie za určitých podmínek uplatňují jako původci infekcí.



- Bakteriální infekce byly, jsou a s velkou pravděpodobností nadále budou jedním z nejzávažnějších problémů v medicíně.
- K hlavním důvodům patří skutečnost, že velká část těchto infekcí má endogenní charakter a vychází z vlastního terapeutického a diagnostického přístupu.
- Bakteriální infekce jsou významně asociovány s prodloužením hospitalizace, vyšší morbiditou a mortalitou.

- Bakteriální infekce mohou být klasifikovány jako exogenní, kdy zdroj patogenní bakterie je mimo lidské tělo.
- Častější jsou však infekce endogenní, kdy původce pochází z mikroflóry lidského těla (a to je většina infekcí na JIP).



Endogenní charakter infekcí a mikrobiom lidského těla

- např. střevní mikrobiom - kolem 10^{14} bakterií
- 10x více buněk než lidské tělo
- 500 - 1000 druhů, obrovská různorodost
- převaha mikrobů, které se nedají klasickými postupy kultivovat (60 - 70 %)
- mikrobiom střeva sehrává klíčovou roli ve vývoji, výživě i imunitě člověka



**„Všechny nemoci začínají ve střevě“
Hippocrates B.C. 470-360**

- Velký problém představuje přítomnost multirezistentních bakterií jako součást normální mikroflóry.
- Arnan et al. popisují u neutropenických pacientů 29% nosičství ESBL-pozitivních kmenů *E. coli* v gastrointestinálním traktu.
- Na základě studie provedené ve FNOL byla prokázána 25% prevalence nosičství ESBL- a AmpC-pozitivních enterobakterií v GIT pacientů s hemato-onkologickým onemocněním.

Arnan M, Gudiol C, Calatayud L, et al. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2011, 30:355-360

Kolář M, Htoutou Sedláková M, Pudova P, et al. Biomedical Papers 2015, 159:100-103

Incidence of fecal *Enterobacteriaceae* producing broad-spectrum beta-lactamases in patients with hematological malignancies

Milan Kolar^a, Miroslava Htoutou Sedlakova^a, Vendula Pudova^a, Magdalena Roderova^b,
Jiri Novosad^a, Marketa Senkyrikova^a, Romana Szotkowska^c, Karel Indrak^c

Aim. Given the steadily increasing numbers of resistant bacteria, the frequency and severity of infections are on the rise. In patients with hematological malignancies, the treatment itself increases the risk of complicating bacterial infections. One important mechanisms of resistance is production of broad-spectrum beta-lactamases, increasingly detected not only in bacterial pathogens but also in bacteria contained in the normal microflora of the human body. The objectives of this study were determination and analysis of the prevalence of multiresistant ESBL- and AmpC-positive *Enterobacteriaceae* in the gastrointestinal tract (GIT) of patients with hematological malignancies.

Methods. For 3 months, rectal swabs were taken from patients with hematological malignancies and analyzed using chromogenic screening plates to isolate ESBL- and AmpC-producing *Enterobacteriaceae*. Beta-lactamase production was determined by phenotype tests and confirmed by detecting genes encoding ESBL and AmpC types. At the same time, ESBL- and AmpC-positive *Enterobacteriaceae* were isolated from clinical samples collected from patients with bacterial infection.

Results. Over the study period, fifteen patients (21%) of all patients treated at the Department of Hemato-Oncology were shown to have ESBL- or AmpC-positive *Enterobacteriaceae* in their GIT. Most frequently identified were ESBL-positive strains of *Klebsiella pneumoniae* and AmpC-positive strains of *Citrobacter freundii*. The ESBL enzymes were mainly of the CTX-M type. Isolates producing AmpC were found to contain genes for enzymes mainly from the CIT and DHA groups.

Conclusion. The study identified patients diagnosed with urinary tract and bloodstream infections caused by ESBL-positive strain of *Klebsiella pneumoniae* and AmpC-positive strain of *Enterobacter cloacae* contained in the GIT microflora.

- Nebezpečí multirezistentních bakterií patřících do normální mikroflóry je nutné spatřovat ve dvou aspektech:
 - jako zdroj genů rezistence pro další bakterie,
 - jako potenciální etiologická agens, jejichž vysoká odolnost vůči antibiotické léčbě může způsobit selhání iniciální antibiotické léčby a tím podmínit vyšší morbiditu a mortalitu.

- Neoral et al. ve své studii uvádějí, že u 15 % pacientů po exstirpaci jícnu a jeho náhradě došlo k rozvoji komplikující infekce, přičemž nejčastěji se jednalo o pneumonie a infekce v místě operační rány.
- Je nutné zdůraznit, že tyto infekce byly asociovány s 31% mortalitou.

Analýza infekčních komplikací u pacientů po náhradě jícnu, které způsobily úmrtí

Pacient	Infekční komplikace	Etiologické agens
1.	Pneumonie	<i>Enterobacter cloacae</i> (AmpC-pozitivní kmen) <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2.	Pneumonie	<i>Acinetobacter baumannii</i>
3.	Mediastinitida	<i>Escherichia coli</i> (ESBL-pozitivní kmen) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ESBL-pozitivní kmen)
4.	Mediastinitida	<i>Enterobacter cloacae</i> (AmpC-pozitivní kmen) <i>Enterococcus faecium</i>

Neoral C. et al. Surgical Infections. 2012,13:159-62.

Horáková M, Ľubušká L, Kolář M, et al. Individualized prophylaxis in patients with esophageal replacement because of cancer. *Surgical Infections*. 2015, 16:513-517

Pacient	Výsledek mikrobiologického vyšetření DC před operačním výkonem	Použitá profylaxe
J.K.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	piperacilin/tazobactam 4,5g i.v. ve 3 dávkách
J.H.	ESBL-pozitivní <i>Klebsiella pneumoniae</i>	meropenem 1g i.v. ve 3 dávkách
M.U.	ESBL-pozitivní <i>Klebsiella pneumoniae</i>	meropenem 1g i.v. ve 3 dávkách
B.S.	ESBL-pozitivní <i>Klebsiella pneumoniae</i>	meropenem 1g i.v. ve 3 dávkách
Z. C.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ceftazidim 1g i.v. ve 3 dávkách
F. K.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	piperacilin/tazobactam 4,5g i.v. ve 3 dávkách
Z. Š.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	imipenem 1g i.v. ve 3 dávkách

- Nozokomiální pneumonie vznikají přenosem bakteriálních patogenů z nemocničního prostředí nebo translokací primární či sekundární mikroflóry pacienta do DCD.
- V případě translokace bakteriálních patogenů se předpokládají dvě cesty průniku:
 - bakterie sestupují z horních cest dýchacích (dutina ústní, oropharynx),
 - *nebo z gastrointestinálního traktu po regurgitaci žaludečního obsahu do dutiny ústní.*

Epidemiology of hospital-acquired pneumonia: Results of a Central European multicenter, prospective, observational study compared with data from the European region

Tomas Herkel^a, Radovan Uvizl^a, Lenka Doubravska^a, Milan Adamus^a, Tomas Gabrhelik^b, Miroslava Htoutou Sedlakova^c, Milan Kolar^c, Vojtech Hanulik^c, Vendula Pudova^c, Katerina Langova^d, Roman Zazula^e, Tomas Rezac^e, Michal Moravec^e, Pavel Cermak^f, Pavel Sevcik^{g,h}, Jan Stasekⁱ, Jan Malaskaⁱ, Alena Sevcikova^j, Marketa Hanslianova^j, Zdenek Turek^k, Vladimir Cerny^{k,l}, Pavla Paterova^m

Grant IGA MZ ČR NT 14263

Background

This project was aimed at collecting multicenter epidemiological data on patients with HAP in the Czech Republic.

Clonality of bacterial pathogens causing hospital-acquired pneumonia

Pudová V, Htoutou Sedláková M, Kolář M,
et working group

Grant IGA MZ ČR NT 14263

Background

This multicenter study of Czech patients with HAP aimed at assessing the clonality of bacterial pathogens.

Definice nozokomiální pneumonie

- Čerstvý nebo progredující infiltrát na skiagramu hrudníku



- Přítomnost nejméně dvou z následujících příznaků infekce respiračního traktu
 - febrilie, hnisavé sputum, leukocytóza $> 10 \times 10^3/\text{mm}^3$ nebo leukopenie $< 4 \times 10^3/\text{mm}^3$, zánětlivý poslechový nález na plicích, kašel a/nebo respirační insuficience s hodnotou oxygenačního indexu $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300 \text{ mmHg}$, které se objevily nejdříve po 48 hodinách od hospitalizace

Identifikace etiologického agens HAP

- Za etiologické agens HAP byla považována bakterie vyskytující se ve vzorku z DCD v kvantitě

$\geq 1 \times 10^5$ CFU/ml v případě endosekretu

$\geq 1 \times 10^3$ CFU/ml u PSB

330 pacientů

214
pozitivní kultivace

116 (35 %)
Negativní kultivace
nebo mikroflóra HCD

CAP
13 pacientů

Časná HAP
26 (13%) pacientů

Pozdní HAP
175 (87%) pacientů

13 agens

26 agens

234 agens

13

26

123 (70 %)

52 (30 %)

monomikrobiální
etiologie

monomikrobiální
etiologie

monomikrobiální
etiologie

polymikrobiální
etiologie

Identifikace etiologického agens HAP

Patient No.:	Strain:	Similarity			
		I	II	III	IV
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	a	a	a	a
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			a	a
2	<i>Staphylococcus aureus</i>			a	a
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		a	a	
3	<i>Staphylococcus aureus</i>			a	a
3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	a	a	a	
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	a	a	a	a
4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	b	a	a	a
5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	a	a	a	
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	a	a	a	
6	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	b	a	a	a
7	<i>Enterococcus faecalis</i>	b	a	a	a
7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		a	a	a
8	<i>Enterococcus faecalis</i>	a	a	a	
8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	a	a	a	
9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			a	a
10	<i>Enterococcus faecalis</i>	a	a	a	

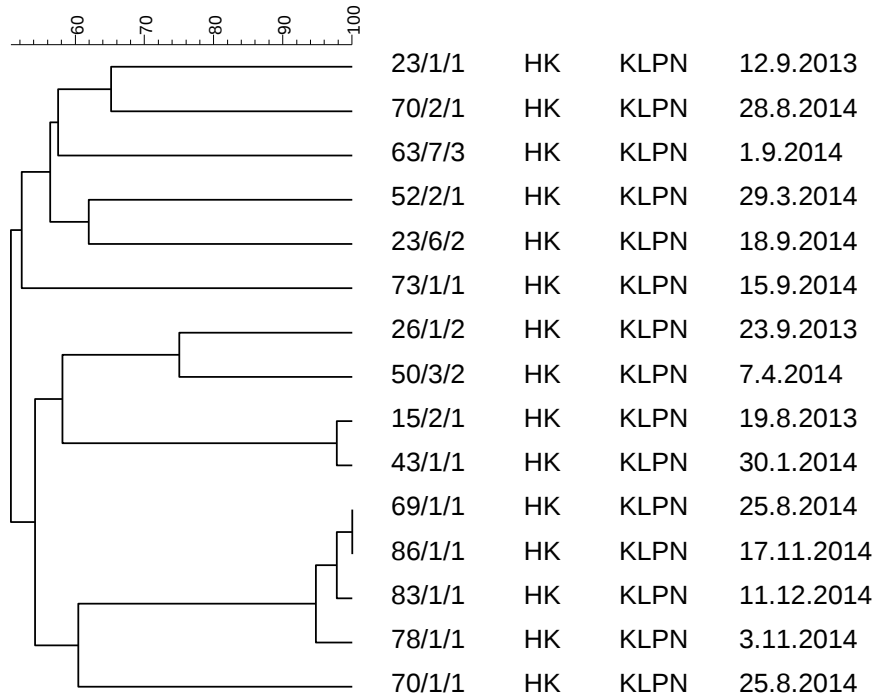
Legend: I – oropharynx, II – gastric fluid, III – tracheal secretion, IV – PSB
a – indentical, b – non identical

- U 73 % pacientů byl identický patogen prokázán v endosekretu i žaludečním obsahu.
- V případě bakterií z endosekretu a orofaryngu byla identita prokázána u 65 % pacientů.

- Výsledky potvrzují, že HAP často vzniká translokací primární či sekundární mikroflóry pacienta do dolních cest dýchacích.
- Mikrobiologické vyšetření odběru z orofaryngu a žaludečního obsahu může tedy vhodným způsobem doplnit vyšetření endosekretu a pomoci při identifikaci bakteriálního původce.

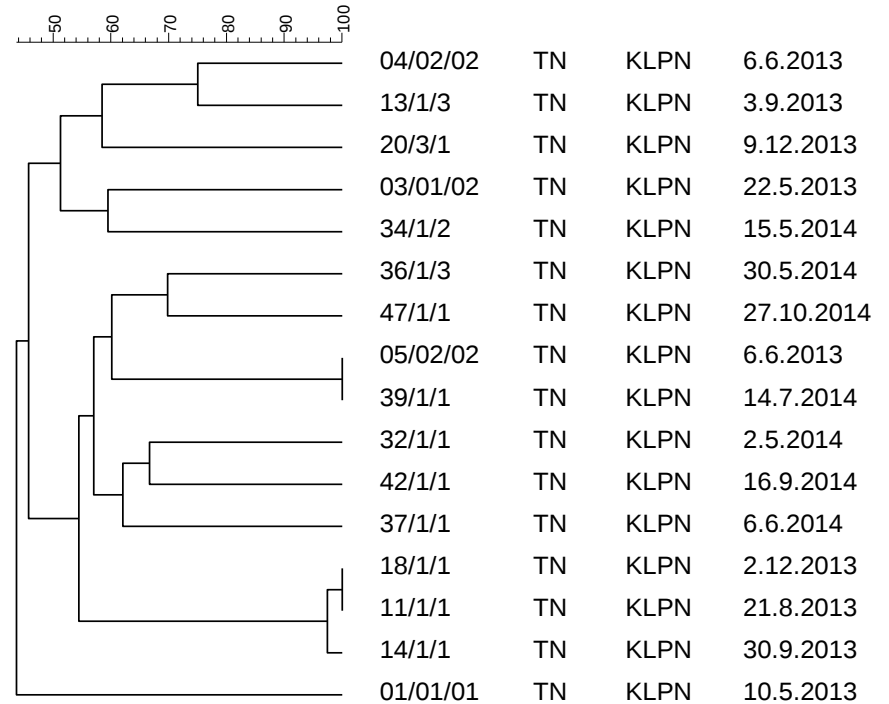
Dice (Opt:1.00%) (Tol 1.0%-1.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

PFGE



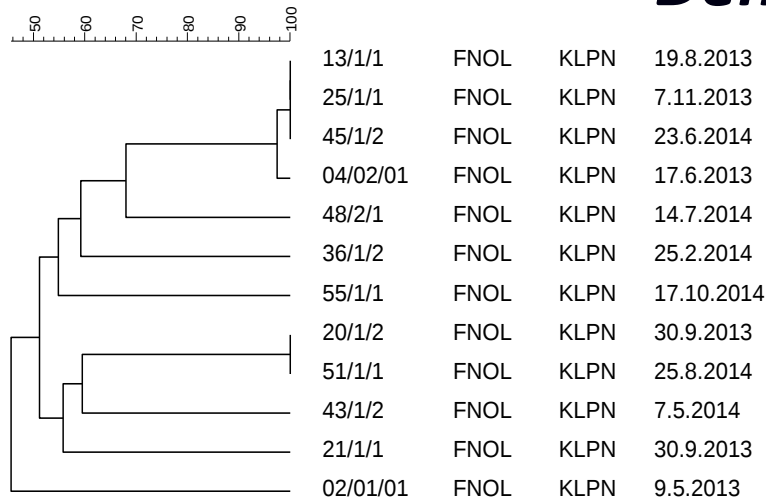
Dice (Opt:1.00%) (Tol 1.0%-1.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

PFGE



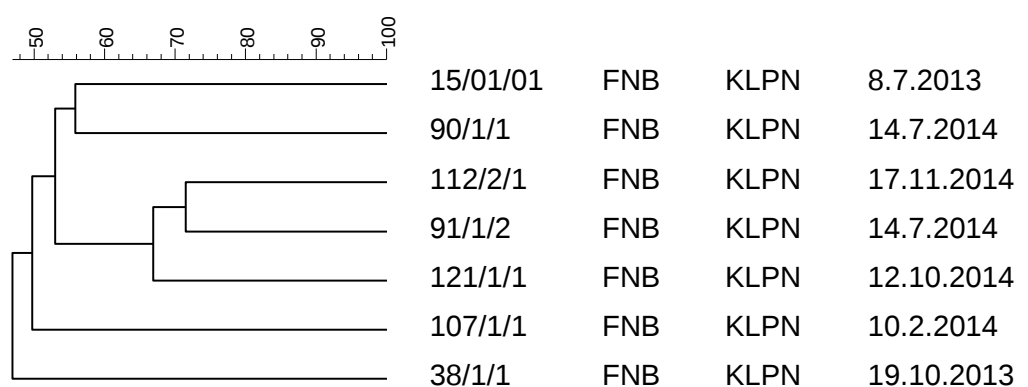
Dice (Opt:1.00%) (Tol 1.0%-1.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

PFGE



Dice (Opt:1.00%) (Tol 1.0%-1.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

PFGE



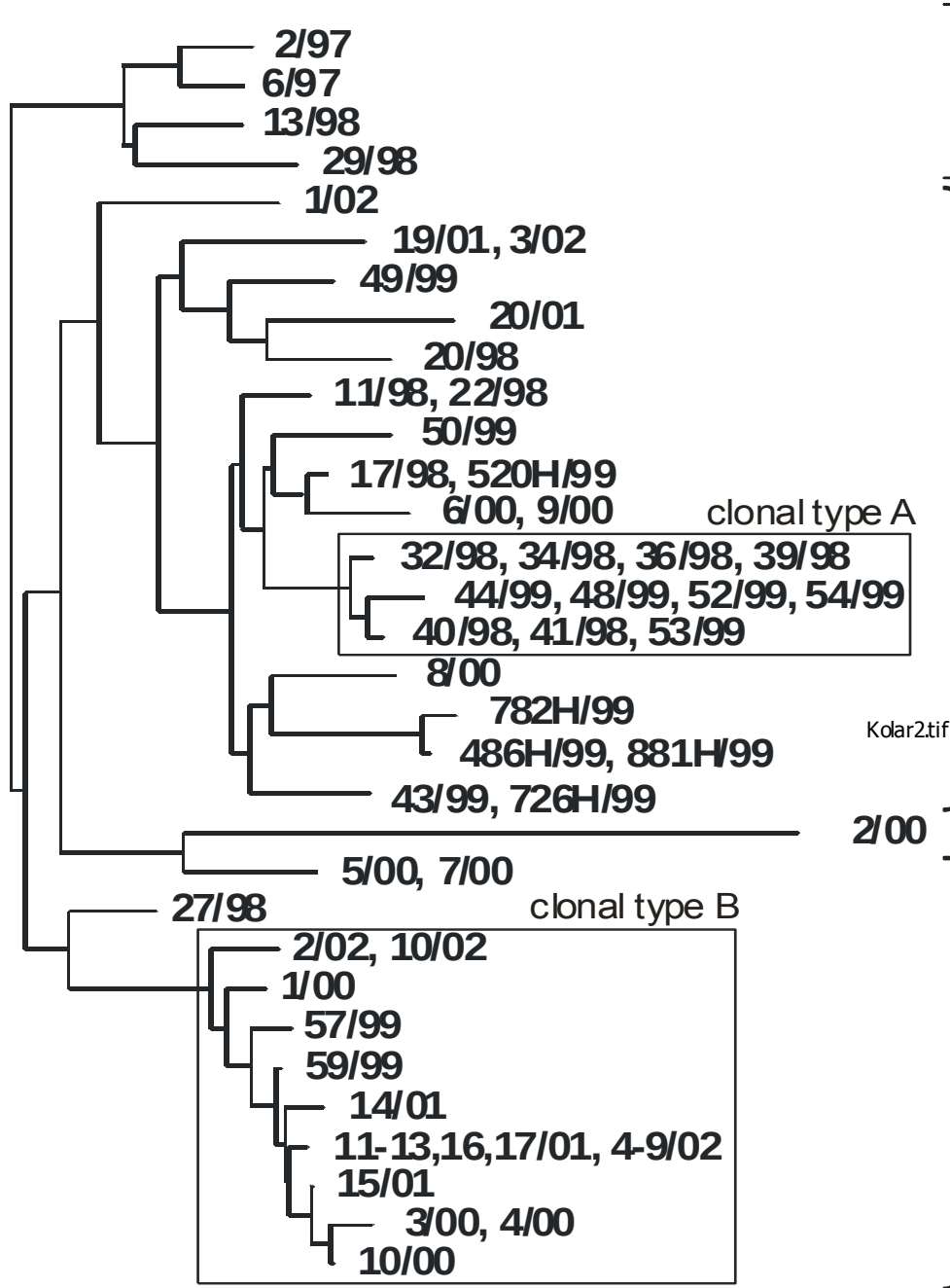
Dendrogramy izolátů *K. pneumoniae*

- Většinu izolátů v naší studii tvořily jedinečné kmeny a hodnocené nozokomiální pneumonie lze charakterizovat převážně jako endogenní.
- Bylo však dokumentováno několik skupin izolátů s identickým restričním profilem poukazující na klonální šíření bakteriálních původců HAP.
 - *pravděpodobná sekundární kolonizace pacientů v průběhu hospitalizace multirezistentními bakteriemi z nemocničního prostředí, které následně způsobily HAP*
- Dodržování preventivních opatření a důkladné hygieny je velmi důležitou součástí prevence vzniku HAP s etiologickou rolí multirezistentních bakterií.

Kolář M, Pantůček R, Vágnerová I. et al. Clinical Microbiology and Infection 2006, 12:353-360

Šíření VRE v nemocničním prostředí

Stanovení genetické příbuznosti 54 kmenů *Enterococcus faecium* VanA, izolovaných z klinického materiálu pacientů Hemato-onkologické kliniky FNOL a 5 kmenů z prostředí uvedené kliniky, včetně biologických materiálů od ošetřujícího personálu.



Mezi uvedenými profily byly identifikovány 2 klonální typy, s podobností DNA-profilu 95 % a vyšší.

Klonální typ A obsahuje 11 VRE.

Klonální typ B obsahuje 17 VRE.

Kmeny 520H/99 a 726H/99 z prostředí jsou identické s VRE od pacientů.

U jednoho pacienta byl stejný *E. faecium* VanA izolován s časovým odstupem 10 měsíců.

Zdroj a šíření VRE v nemocničním prostředí

- Lze potvrdit možnost přežívání VRE v prostředí nemocničního oddělení, včetně ošetřujícího personálu, a následný přenos na hospitalizované pacienty.
- Vzhledem ke skutečnosti, že řada analyzovaných kmenů měla jedinečný profil, byl prokázán i endogenní původ VRE a následná selekce vlivem širokospektré antibiotické léčby.
- Potvrzena kolonizace střeva VRE po dobu nejméně 10 měsíců.

Děkuji za pozornost...



MENTE ET CORDE



Facultas Medicinae
Universitas Palackiana
Olomucensis



FAKULTNÍ NEMOCNICE
OLOMOUC