

## Přirozené a získané $\beta$ -laktamázy AmpC: interpretace indukce, hyperprodukce a dereprese

*Naturally occurring and acquired AmpC beta-lactamases: interpreting induction, hyperproduction and derepression*

Pavla Urbášková, Jaroslav Hrabák, Helena Žemličková

### Souhrn • Summary

Interpretace výsledku vyšetření citlivosti k substrátovým antibiotikům (penicilinům a cefalosporinům) by se u producentů  $\beta$ -laktamázy AmpC měla řídit důsledně podle standardních kritérií vyšetřování citlivosti (hodnot minimálních inhibiční koncentrací, průměrů inhibičních zón) bez ohledu na to, zda je schopnost produkce enzymu inherentní, získaná mutací nebo získkem mobilního elementu.

*The interpretation of result of testing susceptibility to substrate antibiotics such as penicillins and cephalosporins in AmpC beta-lactamase producers should be strictly interpreted based on the standard criteria (minimum inhibitory concentrations, inhibitory zone diameters) regardless of whether the enzyme production is inherent, acquired by mutation or a result of mobile element integration.*

Zprávy EM (SZÚ, Praha) 2009; 18(6): 209–211.

**Klíčová slova:**  $\beta$ -laktamáza AmpC, interpretace  
**Keywords:** AmpC beta-lactamase, interpretation

$\beta$ -Laktamázy skupiny C, označované jako AmpC, jsou serinové enzymy hydrolyzující amidovou vazbu některých  $\beta$ -laktamů. Substrátem těchto  $\beta$ -laktamáz jsou peniciliny, cefalosporiny první až třetí generace, a vzácně i cefalosporiny čtvrté generace. Nejsou inhibovány komerčními serinovými inhibitory  $\beta$ -laktamáz (kyselinou klavulanovou, tazobaktamem, sulbaktamem) [1]. Velmi podrobný, souhrnný článek shrnující recentní informace a vlastní zkušenosti s touto skupinou enzymů byl zveřejněn i u nás [2].

Geny  $\beta$ -laktamáz AmpC jsou běžně přítomny na chromozomu mnoha mikrobiálních druhů, například u většiny enterobakterií, pseudomonád a nokardií [3, 4]. Gen *bla*<sub>AmpC</sub> je u některých bakterií exprimován velmi slabě, produkce enzymu AmpC je tudíž nepatrná a substrátová antibiotika nejsou inaktivována. Klasickým příkladem je velmi dobrá citlivost divokých kmenů *Escherichia coli* k cefalosporinům všech generací navzdory skutečnosti, že gen *bla*<sub>AmpC</sub> je přítomen u téměř všech kmenů tohoto druhu [1, 3]. Slabý promotor tohoto genu u *Escherichia coli* (a divokých populací některých dalších enterobakterií) však neumožňuje produkovat množství enzymu AmpC postačující ke snížení aktivity substrátového antibiotika. Důsledkem mutací v promotoru však může dojít k masivní expresi AmpC a tudíž k hyperprodukci tohoto enzymu.

U některých jiných druhů, např. *Morganella morganii*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, je exprese  $\beta$ -laktamázy obvykle inducibilní. K indukci exprese genu (čili k produkci enzymu AmpC) dochází po interakci induktoru s proteiny vázícími penicilin (PBP) a následným spuštěním signální cesty. Mezi induktory patří např. kyselina klavulanová, sulbak-

tam, imipenem a zejména cefoxitin [1, 2, 3]. Mutacemi v genech signální cesty může dojít k trvalé, konstitutivní produkci  $\beta$ -laktamázy, tzv. derepresi. U inherentních producentů inducibilní AmpC se však signální cesta zdá být relativně stabilní a produkce enzymu trvá pouze po dobu, po kterou je přítomen induktor [5].

Horizontálním přenosem genů *bla*<sub>AmpC</sub> na mobilních elementech DNA (plazmidy, konjugativní transpozony, atp.) dochází k jejich šíření v bakteriálních populacích. Genetické uspořádání způsobuje téměř výlučně klinicky významnou produkci AmpC. Stejně tak i regulační systém zodpovědný za indukci se jeví jako nestabilní [6]. Z toho důvodu je kmenům se získanou AmpC nutné věnovat pozornost z klinického i epidemiologického hlediska.

V případě inherentních AmpC (nesených na chromozomu) se rezistence u různých bakteriálních druhů může vytvářet v několika následných krocích s odlišnou intenzitou. Indukovaná produkce enzymu, s oblibou prokazovaná v laboratořích jako typická inhibice inhibiční zóny substrátového antibiotika v uspořádání double disk test (DDT) s induktorem [7] neopravňuje k primární kategorizaci inherentního producenta AmpC jako rezistentního k cefalosporinům třetí generace [5], neboť distribuce MIC těchto antibiotik u divoké populace inherentních producentů je v citlivé kategorii [8]. Renomovaná standardní metoda vyšetření citlivosti bakterií průkaz tohoto enzymu, na rozdíl od širokospektré  $\beta$ -laktamázy (ESBL<sub>A</sub>), vůbec nezmiňuje [9]. Existuje také dostatek důkazů, že u pacienta s infekcí způsobenou kmenem dočasně produkujícím indukovaný enzym obecně nedochází k selhání léčby ani při podávání kombinace induktora a cefalosporinu třetí generace [5]. Bez ohledu na to, že zmíněná kombinace je nevhodná již primárně, by výjimkou umožňující klinické selhání léčby mohlo být současné podávání cefalosporinů

3. generace s velmi silným induktorem cefoxitinem [5], (který se však již nevyrábí), a snad i s karbapenemy [JH, nepublikované údaje]. Interpretace výsledků vyšetření citlivosti by se u přirozených producentů AmpC měla důsledně řídit podle standardních kritérií vyšetřování citlivosti (minimální inhibiční koncentrace, inhibiční zóny) [9], stanovených na základě distribuce divoké populace [8, 9, 10]. Naopak u kmenů, které v důsledku konstitutivní mutace produkují dereprimovanou inherentní laktamázu AmpC, dochází k výraznému nárůstu MIC, případně k redukci inhibiční zóny. Výsledek vyšetření citlivosti je u těchto kmenů jednoznačně v rezistentní kategorii a jeho interpretace tudíž nečiní potíže.

Kmeny bakterií, které nově získaly mobilní element obsahující gen pro produkci AmpC (nejedná se tedy o přirozené producenty indukované nebo dereprimované produkce tohoto enzymu), se – na rozdíl od producentů získané ESBL<sub>A</sub> – celosvětově vyskytují poměrně vzácně [11]. Klinický význam obou skupin těchto získaných enzymů je však velmi podobný. Na příklad v jedné studii u pacientů s bakteriemickými infekcemi byla zjištěna podobná nebo téměř identická frekvence výskytu faktorů predisponujících infekci, selhání léčby a mortality, bez ohledu na to, zda původcem byl kmen produkující ESBL<sub>A</sub> nebo získanou AmpC [12]. Hodnoty MIC, případně průměry inhibičních zón cefalosporinů jsou u kmenů se získanou AmpC obvykle v rezistentní kategorii, podobně jako je tomu u kmenů s dereprimovanou inherentní AmpC [6, 10, 11, 12].

Obecná pravidla pro klinickou interpretaci citlivosti producentů β-laktamáz jsou zatížena mnoha výjimkami. Jako jeden z příkladů lze uvést možnost podání cefalosporinů třetí generace při infekcích způsobených producentem širokospektré β-laktamázy (ESBL<sub>A</sub>) s velmi nízkou hodnotou MIC [13], i přes obecné doporučení pokládat kmen za rezistentní ke všem penicilinům a cefalosporinům [8, 9]. Totéž platí i u producentů získané AmpC, kde je nutné se řídit podle konkrétní klinické situace s přihlédnutím k laboratorním výsledkům vyšetření citlivosti (hodnoty MIC, nebo průměrů inhibiční zóny). Pro vytvoření všeobecně respektovaných konsensů pro interpretaci citlivosti k cefalosporinům u kmenů se získanou AmpC, u nichž jsou hodnoty MIC cefalosporinů v kategorii citlivosti, však zatím chybí dostatečný počet klinických studií. Vyhledávání producentů indukované AmpC je významné pro epidemiologické účely [10].

## LITERATURA

- [1] Bush K, Jakoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1211–1233.
- [2] Hrabák J. Klinicky významné β-laktamázy gramnegativních bakterií: AmpC. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* 2007; 56: 155–165.
- [3] Moellering RC Jr. Meeting the challenges of β-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 1993; 31 (Suppl A): 1–8.
- [4] Alvarez M, Tran JH, Chow N, Jakoby GA. Epidemiology of conjugative plasmid-mediated AmpC β-lactamases in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 533–537.
- [5] Goldstein FW. Cephalosporinase induction and cephalosporin resistance: a longstanding misinterpretation. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 823–825.
- [6] Hrabák J, Empel J, Bergerová T, Urbášková P, Gniadkowski M. DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in the University Hospital in Plzen (Czech Republic), 10<sup>th</sup> β-Lactamase Meeting, Eretrira, Greece, 2008.
- [7] Hrabák J, Vaniš V, Bergerová T, Urbášková P. Průkaz beta-laktamáz širokého spektra (ESBL) a typu AmpC u enterobakterií. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie (SZÚ Praha)* 2009; 18: 143–145.
- [8] EUCAST. MIC distributions of wild type microorganisms. [http://eucast.www137.server1.mensemedia.net/mic\\_distributions\\_of\\_wild\\_type\\_microorganisms/](http://eucast.www137.server1.mensemedia.net/mic_distributions_of_wild_type_microorganisms/)
- [9] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteen informational supplement. CLSI Document M100-S18. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, Pa, 2008.
- [10] Giske CG, Sundsfjord AS, Kahlmeter G, Woodford N, Nordmann P, et al. Redefining extended-spectrum β-lactamases: balancing science and clinical need. *J Antimicrob Chemother* 2009; 63: 1–4.
- [11] Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22: 161–182.
- [12] Pai H, Kang CI, Byeon JH, Lee, KD, et al. Epidemiology and clinical features of bloodstream infections caused by AmpC-type-β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 3720–3728.
- [13] Paterson DL. Recommendation for treatment of severe infections caused by *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum β-lactamases (ESBLs). *Clin Microbiol Infect* 2001; 6: 460–463.

RNDr. Pavla Urbášková, CSc.

Národní referenční laboratoř pro antibiotika, SZÚ  
Šrobárova 48, 100 42 Praha  
e-mail: [purbaskova@szu.cz](mailto:purbaskova@szu.cz)

Ing. Jaroslav Hrabák, Ph.D.

Ústav mikrobiologie LF UK a FN v Plzni  
Dr. E. Beneše 13, 305 99 Plzeň  
e-mail: [Jaroslav.Hrabak@lfp.cuni.cz](mailto:Jaroslav.Hrabak@lfp.cuni.cz)

MUDr. Helena Žemličková, Ph.D.

Národní referenční laboratoř pro antibiotika, SZÚ  
e-mail: [hzemlickova@szu.cz](mailto:hzemlickova@szu.cz)