

Výskyt *Enterobacteriaceae* produkující karbapenemázy (CPE) v České republice v období červen 2012 – duben 2014

Carbapenemase producing Enterobacteriaceae detected in the Czech Republic from June 2012 to April 2014

Jaroslav Hrabák, Vladislav Jakubů, Petra Španělová, Vendula Študentová, Costas C. Papagiannitsis, Pavla Urbášková, Helena Žemličková

Souhrn

Během necelých dvou let v období 6/2012 až 4/2014 došlo oproti rokům 2010 a 2011 k nárůstu výskytu enterobakterií produkujících karbapenemázu (CPE) v nemocnicích v České republice. Během sledovaného období bylo Národní referenční laboratoří pro antibiotika SZÚ v Praze a Ústavem mikrobiologie LF UK a FN v Plzni potvrzeno 24 případů. Jednalo se o metalo- β -laktamázy typu VIM (n=7) a NDM (n=8) převážně u *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. a *Serratia marcescens*. Dále bylo zaregistrováno 6 případů produkce KPC (*K. pneumoniae*, *C. freundii*). Nově byly zachyceny tři případy *K. pneumoniae* produkující karbapenemázy typu OXA-48. Nejedná se již pouze o importované případy ze zemí s endemickým výskytem CPE. Důsledným dodržováním metodického pokynu Ministerstva zdravotnictví ČR lze zabránit šíření tohoto nebezpečného typu rezistence.

Over less than two years, between June 2012 and April 2014, carbapenemase (CPE) producing Enterobacteriaceae showed an upward trend in Czech hospitals in comparison to 2010 and 2011. During the period specified above, the National Reference Laboratory for Antibiotics of the National Institute of Public Health and the Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital, Plzeň confirmed 24 cases. VIM (n=7) and NDM (n=8) metallo-beta-lactamases with CPE activity were mostly detected in Klebsiella pneumoniae, Enterobacter spp., and Serratia marcescens. Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC) production was identified in six cases (K. pneumoniae, C. freundii). Three K. pneumoniae strains producing OXA-48 carbapenemase were newly detected. CPE production was detected not only in strains imported from endemic countries. Careful adherence to the guidelines of the Ministry of Health of the Czech Republic can prevent the spread of this dangerous type of resistance.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2014; 23(4): 137–140.

Klíčová slova: karbapenemázy, *Enterobacteriaceae*, CPE, rezistence
Keywords: carbapenemase, CPE, *Enterobacteriaceae*, resistance

nemáz [Glasner *et al.*, 2013]. Tento stav je pravděpodobně způsoben schopností klinických laboratoří zachytit izoláty se sníženou citlivostí ke karbapenemům a striktním zavedením izolace u pacientů infikovaných/kolonizovaných CPE [Ministerstvo zdravotnictví, 2012].

ÚVOD

Šíření producentů karbapenemáz představuje závažný problém současné medicíny [Glasner *et al.*, 2013; Grundmann *et al.*, 2010]. Karbapenemy patří mezi léky volby u infekcí způsobených multirezistentními kmeny enterobakterií (např. ES β L, AmpC). Producenti karbapenemáz (např. *Klebsiella pneumoniae*) obvykle zůstávají citliví pouze k polymyxinům (kolistin). V poslední době však narůstá výskyt případů rezistentních k polymyxinům. Jedná se o adaptivní rezistenci způsobenou změnami v syntéze lipopolysacharidu. Takové izoláty mohou být rezistentní ke všem dostupným antibiotikům.

V roce 2013 byla publikována studie popisující molekulární typizaci enterobakterií produkujících karbapenemázu (CPE) izolovaných v České republice v roce 2011 [Hrabák *et al.*, 2013]. V roce 2011 byly identifikovány pouze producenti metalo- β -laktamáz (M β L) typu VIM-1 a VIM-4, a karbapenemáz KPC-2 a KPC-3. Česká republika zůstává zemí s nízkým výskytem získaných karbape-

POPIS PŘÍPADŮ

Výskyt producentů metalo- β -laktamáz (M β L)

Metallo- β -laktamázy patří mezi enzymy skupiny B podle Amblerovy klasifikace. Jejich detekci lze v rutinní laboratoři provádět testy založenými na inhibitech kovových iontů (např. EDTA). M β L typu VIM a IMP jsou nalézány především u *Pseudomonas* spp. V České republice jsou M β L pseudomonád detekovány především v severních Čechách, jižní a na severní Moravě. V roce 2011 byl zachycen jeden importovaný případ karbapenemázy VIM-4 u *K. pneumoniae* z Řecka a 5 případů *K. pneumoniae* produkující VIM-1 v jedné pražské nemocnici [Hrabák *et al.*, 2013].

Lokalita:	Plzeň
Období:	srpen 2012
Počet případů:	1
Bakteriální druh:	<i>Enterobacter cloacae</i>
Typ karbapenemázy:	NDM-4
Sekvenční typ:	---

Stručný popis případu: Kmen *Enterobacter cloacae* produkující karbapenemázu NDM-4 byl zachycen u pacientky repatriované ze Srí Lanky. Pacientka strávila ve třech různých nemocnicích na Srí Lance 28 dní pro závažnou infekci způsobenou pravděpodobně toxigenním kmenem *Streptococcus pyogenes*. Okamžitě při příjmu na metabolickou jednotku intenzivní péče FN Plzeň byl proveden skrínig se zaměřením na multirezistentní mikroby [Ministerstvo zdravotnictví, 2012]. Byly zachyceny multirezistentní kmény *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Enterobacter cloacae* (výtěry HCD, sputum, BAL, katetr, moč). U kmene *Enterobacter cloacae* byla identifikována MβL typu NDM-4. Dva dny po přijetí pacientka zemřela. Nález kmene *E. cloacae* byl hodnocen jako kolonizace. Na oddělení byl zaveden skrínig [Ministerstvo zdravotnictví, 2012], který nepotvrdil přenos na jiné pacienty. Detailní molekulární typizace daného izolátu byla publikována v práci C.C. Papagiannitsis *et al.* [2013].

Lokalita: Praha
Období: listopad 2012, srpen 2013
Počet případů: 2
Bakteriální druh: *Enterobacter cloacae*
Typ karbapenemázy: VIM
Sekvenční typ: ---

Stručný popis případu: Jednalo se o dva izolované případy výskytu *Enterobacter cloacae* produkujícího karbapenemázu typu VIM v jedné nemocnici. Žádné souvislosti mezi oběma pacienty nebyly potvrzeny. Může se proto jednat o izolovaný zdroj u environmentálních bakterií [Papagiannitsis *et al.*, 2013] a náhodný horizontální přenos.

Lokalita: Praha
Období: březen, září, říjen 2013
Počet případů: 3
Bakteriální druh: *Serratia marcescens*
Typ karbapenemázy: VIM
Sekvenční typ: ---

Stručný popis případu: Tyto náhodné izoláty byly zachyceny v nemocnici, kde byl obdobný izolát zachycen již v roce 2009. Nepodařilo se dohledat žádnou epidemiologickou souvislost.

Lokalita: Praha
Období: březen 2013
Počet případů: 1
Bakteriální druh: *Klebsiella pneumoniae*
Typ karbapenemázy: VIM-1
Sekvenční typ: ---

Stručný popis případu: Izolát z moče od pacientky z jedné pražské nemocnice se sníženou citlivostí ke karbapenemům (nejednalo se o rezistenci dle brackpointů EUCAST 2013). Gen karbapenemázy byl lokalizován na shodném plazmidu jako u environmentálního izolátu *Leclercia adecarboxylata* v Nemocnici Na Homolce [Papagiannitsis *et al.*, 2013]. Během hospitalizace pacientky nedošlo k přenosu na další pacienty. Obdobný izolát nebyl do této doby zachycen v žádné další nemocnici.

Lokalita: okres Nový Jičín
Období: říjen 2012
Počet případů: 1
Bakteriální druh: *Enterobacter cloacae*
Typ karbapenemázy: VIM
Sekvenční typ: ---
Stručný popis případu: Jednalo se o jediný případ výskytu *Enterobacter cloacae* produkujícího karbapenemázu typu VIM. Nepodařilo se dohledat žádné epidemiologické souvislosti ani s případem zaznamenaným v říjnu 2011 [Hrabák *et al.*, 2013].

Lokalita: Praha
Období: březen 2013
Počet případů: 1
Bakteriální druh: *Klebsiella pneumoniae*
Typ karbapenemázy: NDM-1
Sekvenční typ: ---
Stručný popis případu: Izolát byl zaznamenán u pacientky dříve hospitalizované ve slovenské nemocnici. Ihned po přijetí byl proveden skrínig [Ministerstvo zdravotnictví, 2012]. Izolát byl zachycen z moče.

Lokalita: Prostějov
Období: prosinec 2013
Počet případů: 1
Bakteriální druh: *Klebsiella pneumoniae*,
Proteus mirabilis
Typ karbapenemázy: NDM-1
Sekvenční typ: ---

Stručný popis případu: Izoláty od jediného pacienta byly zachyceny z katetru a výtěru z rektu. Nepodařilo se potvrdit další epidemiologické souvislosti (zdroj), ani přenos na jiné pacienty.

Lokalita: Benešov
Období: březen 2014
Počet případů: 1
Bakteriální druh: *Klebsiella pneumoniae*
Typ karbapenemázy: NDM-1
Sekvenční typ: ---

Stručný popis případu: Izolát od pacienta byl zachycen z výtěru z rektu. Nepodařilo se potvrdit další epidemiologické souvislosti (zdroj), ani přenos na jiné pacienty.

Lokalita: Praha
Období: březen 2014
Počet případů: 1
Bakteriální druh: *Klebsiella pneumoniae*
Typ karbapenemázy: NDM-1
Sekvenční typ: ---

Stručný popis případu: Izolát byl zachycen od pacienta přijatého z ciziny (Ukrajina). Jednalo se o sčez chirurgické rány. Vzhledem k překladu z nemocnice v cizí zemi, byla u pacienta okamžitě zavedena preventivní izolace, která pravděpodobně zamezila rozšíření kmenu.

Lokalita: Praha
Období: březen 2014
Počet případů: 3
Bakteriální druh: *Klebsiella pneumoniae*
Typ karbapenemázy: NDM-1
Sekvenční typ: ---
Stručný popis případu: Izoláty zachycené od tří pacientů z žilního katetru a moči. V současnosti je prováděno podrobné epidemiologické šetření.

Výskyt producentů karbapenemáz typu KPC

Producenti karbapenemáz typu KPC (skupina 2f podle Bush, A podle Amblera) byly poprvé identifikovány v USA. Následně se rozšířily do mnoha zemí po celém světě. Především se jednalo o Řecko, Izrael, později Itálii a další země. K detekci lze použít schopnost sloučenin kyseliny fenylborité inhibovat karbapenemázy skupiny 2f. Tyto látky jsou schopné inhibovat také β -laktamázy AmpC. Proto u izolátů se sníženou propustností vnější membrány buněčné stěny může tento test poskytovat falešně pozitivní výsledky. Tyto výsledky lze eliminovat zařazením inhibitoru AmpC, např. kloxacilinu. Případně lze pro detekci využít molekulárně-genetické metody (např. PCR).

Lokalita: Praha
Období: únor – květen 2013
Počet případů: 5
Bakteriální druh: *Klebsiella pneumoniae*
Typ karbapenemázy: KPC-3
Sekvenční typ: ST512

Stručný popis případu: Jednalo se o 7 případů infekce/kolonizace pacientů kmenem *K. pneumoniae* produkujícím karbapenemázu KPC-3, mezinárodního klonu ST512. Izoláty pocházely z dolních cest dýchacích, moče, výtěrů z nosu, výtěru z rektu. Pacient, kolonizovaný shodným kmenem v téže nemocnici v roce 2011, byl detekován jako index case tohoto outbreaku. [Hrabák *et al.*, 2013]. Způsob přenosu nebyl jednoznačně potvrzen, s největší pravděpodobností však byl v souvislosti s bronchoskopickými vyšetřeními.

Lokalita: Hradec Králové
Období: prosinec 2013
Počet případů: 1
Bakteriální druh: *Citrobacter freundii*
Typ karbapenemázy: KPC
Sekvenční typ: ---

Stručný popis případu: Jednalo se o jediný izolát. Nebyla dohledána žádná epidemiologická souvislost s jinými případy. Zavedení předepsaných preventivních opatření pravděpodobně zamezilo rozšíření kmenů.

Výskyt producentů karbapenemáz typu OXA-48

Karbapenemázy typu OXA-48 (např. OXA-48, OXA-162, OXA-181, OXA-204) představují vážné epidemiologické riziko pro šíření rezistence ke karbapenemům. Některé kmeny vykazují velice nízké minimální inhibiční koncentrace ke karbapenemům (<0,5 mg/l). Jejich záchyt je proto obtížný. Rovněž neexistuje spolehlivá fenotypová metoda,

kteřá by byla schopná tyto enzymy detekovat. Ani testy založené na detekci karbapenemázové aktivity (MALDI-TOF MS, Carba NP test, spektrofotometrické metody) nemusí poskytovat spolehlivé výsledky. Jedinou možností je proto potvrzení pomocí PCR amplifikace genu a následné sekvenace [Poirel *et al.*, 2012]. V České republice nebyly karbapenemázy OXA-48 zachyceny do poloviny roku 2013.

Lokalita: Plzeň
Období: červen–červenec 2013
Počet případů: 2
Bakteriální druh: *Klebsiella pneumoniae*
Typ karbapenemázy: OXA-48
Sekvenční typ: ST45

Stručný popis případu: Jednalo se o 2 záchyty u novorozenců z výtěru z rektu na neonatologickém oddělení. Kontakt dětí nebyl jednoznačně prokázán.

Byl zaveden intenzivní skríníng veškerých izolátů z čeledi *Enterobacteriaceae* po dobu 3 týdnů zaměřený na detekci producentů OXA-48 [Ministerstvo zdravotnictví, 2012]. Jednalo se především o výtěry z rektu, ale i další materiály zařazené do běžného skríníngu.

Během sledovaného období nebyl zachycen žádný jiný izolát produkující karbapenemázu OXA-48.

Molekulárně-epidemiologickou typizací se podařilo prokázat gen *bla*_{OXA-48} na chromozomu. Tento nález se jeví jako velmi ojedinělý, neboť geny kódující *bla*_{OXA-48} se obvykle nachází na vysoce konjugativních plazmidech. K jejich horizontálnímu přenosu v podmínkách *in vivo* dochází běžně v bakteriální flóře GIT.

Zjištěné skutečnosti podporují domněnku, že jeden z pacientů byl kolonizován kontaktem s rodinným příslušníkem (pravděpodobně matkou). Možný přenos na druhého novorozence nebyl objasněn.

Jedná se o první záchyty karbapenemázy OXA-48 v České republice. Pravděpodobně se nejednalo o kolonizaci nemocničním kmenem, ale kmenem komunitním od rodinného příslušníka. Skutečnost, že se gen *bla*_{OXA-48} nenacházel na plazmidu, ale na chromozomu, snižuje epidemiologickou závažnost tohoto záchytu.

Lokalita: Plzeň
Období: duben 2014
Počet případů: 1
Bakteriální druh: *Klebsiella pneumoniae*
Typ karbapenemázy: typ OXA-48
Sekvenční typ: dosud neurčen

Stručný popis případu: U pacienta přijatého z komunity na jednotku intenzivní péče došlo k záchytu izolátu *Klebsiella pneumoniae* produkujícím karbapenemázu typu OXA-48 ze sputa, stolice a výtěru z krku. Okamžitě po zjištění byl na příslušné jednotce intenzivní péče zaveden intenzivní skríníng s cílem zachycení dalších izolátů produkujících karbapenemázu typu OXA-48. Pacient byl izolován dle platného metodického pokynu Ministerstva zdravotnictví ČR. Během hospitalizace pacient zemřel. Nedošlo k rozšíření na další pacienty. Daný izolát byl odlišný od izolátů detekovaných u novorozenců v roce 2013.

DOPORUČENÍ PRO MIKROBIOLOGICKÉ LABORATOŘE NA ZÁKLADĚ SOUČASNÉ EPIDEMIOLOGICKÉ SITUACE

V roce 2013 a 2014 došlo k záchytu prvních případů karbapenemáz typu OXA-48. Pokud je produkována pouze karbapenemáza OXA-48, zůstává daný izolát citlivý k cefalosporinům III. a IV. generace. Citlivost ke karbapenemům může být snížena, ale nemusí být v rezistentní kategorii. Proto by každý izolát se sníženou citlivostí ke karbapenemům měl být vyšetřen na přítomnost karbapenemázy OXA-48. Jako indikátorové antibiotikum lze použít diskovou difúzní metodu s temocilinem (30 µg). Pokud je inhibiční zóna menší než 12 mm, je izolát podezřelý z produkce této karbapenemázy. Ta musí být dále potvrzena přímou metodou detekce karbapenemázové aktivity (např. MALDI-TOF MS detekce, Carba NP test), případně molekulárně-genetickou detekcí genu *bla*_{OXA-48}. Detekce OXA-48 pomocí MALDI-TOF MS může být usnadněna přidávkou NH_4HCO_3 v koncentraci 50 mM do reakčního pufru [Hrabák, rukopis v revizi].

Pro skrínink producentů OXA-48 nelze použít selektivní půdy pro záchyt producentů ESβL/AmpC. Nejlepší selektivní půdou schopnou zachytit i producenty MβL a KPC, je pravděpodobně MacConkey agar s přidávkou 1 mg/l meropenemu a NaHCO_3 ve výsledné koncentraci 50 mM. Tyto půdy nejsou dosud komerčně dostupné. Lze je uchovávat maximálně 1 týden při chladničkové teplotě [Hrabák, rukopis v revizi].

Laboratoře, které nemají k dispozici MALDI-TOF hmotnostní spektrometrii, mohou k detekci karbapenemáz použít Carba NP test [Nordmann *et al.*, 2012]. Tato metoda využívá k průkazu karbapenemáz změnu pH detekovanou fenolovou červení. U producentů OXA-48 nemusí být výsledky spolehlivé.

Tabulka 1: VÝSKYT CPE V ČESKÉ REPUBLICE PODLE JEDNOTLIVÝCH LET

Typ karbapenemázy	2012 (od 1. 6.)	2013	2014 (do 31. 5.)
VIM	2	5	0
NDM	1	2	5
KPC	0	6	0
OXA-48	0	2	1
Celkem	3	15	6

ZÁVĚR

V posledních letech došlo k nárůstu výskytu CPE v České republice. Ta se však stále řadí mezi země s nízkým výskytem tohoto nebezpečného typu rezistence. Zkušenosti z Řecka a Itálie však poukazují na možný extrémní nárůst (data EARS-Net) CPE při zanedbání preventivních opatření. Metodický pokyn Ministerstva zdravotnictví [Ministerstvo zdravotnictví, 2012] byl vypracován na základě obdobných dokumentů z Polska a Izraele. V těchto zemích se podařilo šíření CPE v posledních letech významně omezit.

Výskyt CPE nelze podceňovat, neboť u infekcí způsobených takovými kmeny obvykle neexistuje optimální antibiotická terapie.

LITERATURA

- Glasner C, Albiger B, Buist G, Tambić Andrašević A, Cantón R, Carmeli Y, Friedrich AW, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Livermore DM, Nordmann P, Poirel L, Rossolini GM, Seifert H, Vatopoulos A, Walsh T, Woodford N, Donker T, Monnet DL, Grundmann H, and the European Survey on Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* (EuSCAPE) working group. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. *Eurosurveillance* 2013; 18(28):pii=20525.
- Grundmann H, Livermore DM, Giske CG, Canton R, Rossolini GM, Campos J, Vatopoulos A, Gniadkowski M, Toth A, Pfeifer Y, Jarlier V, Carmeli Y, CNSE Working Group: Carbapenem-non-susceptible *Enterobacteriaceae* in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Eurosurveillance* 2010, 15(46): pii=19711.
- Hrabák J, Papagiannitsis CC, Študentová V, Jakubů V, Fridrichová M, Žemličková H. and Czech Participants of European Antimicrobial Resistance Surveillance Network. First outbreaks of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in the Czech Republic in 2011. *Eurosurveillance* 2013; 18(45):pii=20626.
- Hrabák J, Papagiannitsis CC, Chudáčková E. Detection of carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: a challenge for diagnostic microbiological laboratories. *Clinical Microbiology and Infection* 2014; v tisku.
- Ministerstvo zdravotnictví. Metodický pokyn ke kontrole výskytu importovaných případů kolonizace a/nebo infekce enterobakteriemi produkujícími karbapenemázu. Věstník Ministerstva zdravotnictví ČR, 2012, 8: 10-19.
- Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis* 2012; 18: 1503–1507.
- Papagiannitsis CC, Studentova V, Chudackova E, Bergerova T, Hrabák J, Raděj J, Novak I. Identification of a New Delhi Metallo-β-lactamase-4 (NDM-4)-producing *Enterobacter cloacae* from a Czech patient previously hospitalized in Sri Lanka. *Folia Microbiologica* 2013; 58:547– 549.
- Papagiannitsis CC, Studentova V, Hrabak J, Kubele J, Jindrák V, Zemlickova H. Isolation from a non-clinical sample of a *Lecteria adecarboxylata* producing a VIM-1 metallo-β-lactamase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2013; 57: 2896– 2897.
- Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2012; 67: 1597–1606.

Jaroslav Hrabák*, Vendula Študentová,
Costas C. Papagiannitsis
Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta
a Fakultní nemocnice v Plzni,
Univerzita Karlova v Praze

Vladislav Jakubů, Petra Španělová,
Pavla Urbášková, Helena Žemličková
Národní referenční laboratoř pro antibiotika,
Státní zdravotní ústav v Praze

*Korespondenční adresa: doc. Ing. Jaroslav Hrabák, Ph.D.
Ústav mikrobiologie
Lékařská fakulta UK a Fakultní nemocnice v Plzni
Alej Svobody 80, 323 00 Plzeň