

# **Výskyt *Enterobacterales* produkujících karbapenemázy (CPE, Carbapenemase-Producing *Enterobacterales*) v České republice v letech 2014–2019**

*The incidence of carbapenemase-producing Enterobacterales (CPE) in the Czech Republic in 2014–2019*

---

*Helena Žemličková, Lucia Mališová, Vladislav Jakubů, Petra Španělová, Anna Šrámková, Kateřina Chudějová, Jaroslav Hrabák*

## *Souhrn • Summary*

*Enterobacterales* produkující karbapenemázu (CPE – Carbapenemase-Producing *Enterobacterales*) představují globální zdravotnický problém. V Evropě dochází zejména v jižních státech ke zvyšování podílu enterobakterií rezistentních vůči karbapenemům. Od roku 2016 dochází také v České republice k plošnému nárůstu počtu případů,

v roce 2019 bylo zaznamenáno 270 případů kolonizace nebo infekce CPE. Tento trend je zčásti způsoben několika epidemickými epizodami, odráží ale i zhoršující se endemickou situaci ve zdravotnických zařízeních. Přesto lze Českou republiku stále hodnotit jako stát s nízkým výskytem CPE.

Carbapenemase-producing *Enterobacterales* (CPE) are a global health problem. In Europe, the proportion of carbapenem-resistant enterobacteria is increasing, particularly in the southern states. Since 2016, there has also been a widespread increase in the number of cases in the Czech Republic, with 270 cases of colonization or CPE infection reported in 2019. This trend is partly due to several outbreaks, but it also reflects the deteriorating endemic situation in healthcare facilities. Nevertheless, the Czech Republic still remains a low CPE incidence country.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2020; 29(3): 114–118

**Klíčová slova:** antibiotikum, rezistence, karbapenemáza, enterobakterie

**Key words:** antibiotic, resistance, carbapenemase, enterobacteria

## ÚVOD

Nárůst výskytu karbapenem rezistentních enterobakterií je celosvětovým problémem. Spotřeba karbapenemových antibiotik se v posledních 20 letech kontinuálně zvyšuje, spolu s narůstající prevalencí enterobakterií, především *Klebsiella pneumoniae* a *Escherichia coli* produkujících širokospektré betalaktamázy (ESBL).

Trendy antibiotické rezistence u izolátů z invazivních infekcí jsou sledovány v rámci mezinárodní evropské surveillance antibiotické rezistence European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) [1]. Zatímco v ČR je u enterobakterií (*K. pneumoniae* a *E. coli*) rezistence ke karbapenemům pouze ojedinělá (0,3 %; respektive 0,1 % v roce 2018), na úrovni Evropy došlo k v řadě zemí k nárůstu podílu rezistence ke karbapenemům zejména u *K. pneumoniae* a v sedmi zemích (Portugalsko, Malta, Bulharsko, Kypr, Itálie, Rumunsko, Řecko) bylo v roce 2018 rezistentních ke karbapenemům více než 10 % kmenů.

Rezistence ke karbapenemům může být způsobena více mechanismy, přičemž k těm epidemiologicky nejzávažnějším patří produkce karbapenemáz. K nejvíce zastoupeným typům karbapenemáz u enterobakterií patří metalobetalaktamázy (především typu NDM nebo VIM), serinové karbapenemázy (typu KPC) nebo oxacilinázy (typu OXA-48). Míra exprese enzymu je různá, navíc zejména u producentů oxacilináz může být zachována *in vitro* citlivost ke karbapenemům i cefalosporinům 3. a 4. generace a záchyt izolátů s tímto mechanismem rezistence tak může být obtížný. U kmenů s produkcí karbapenemázy dochází také často ke kombinaci s dalšími mechanismy rezistence vůči betalaktamovým antibiotikům (např. produkce betalaktamáz typu ESBL a/nebo AmpC, ztráta permeability v důsledku alterace porinů a dalších), což vede ke značné rozmanitosti fenotypů rezistence. K průkazu produkce karbapenemázy je vyjma základního fenotypového screeningu za použití indikátorových antibiotik třeba potvrdit přítomnost enzymu detekcí karbapenemázové aktivity (např. MALDI-TOF MS detekce,

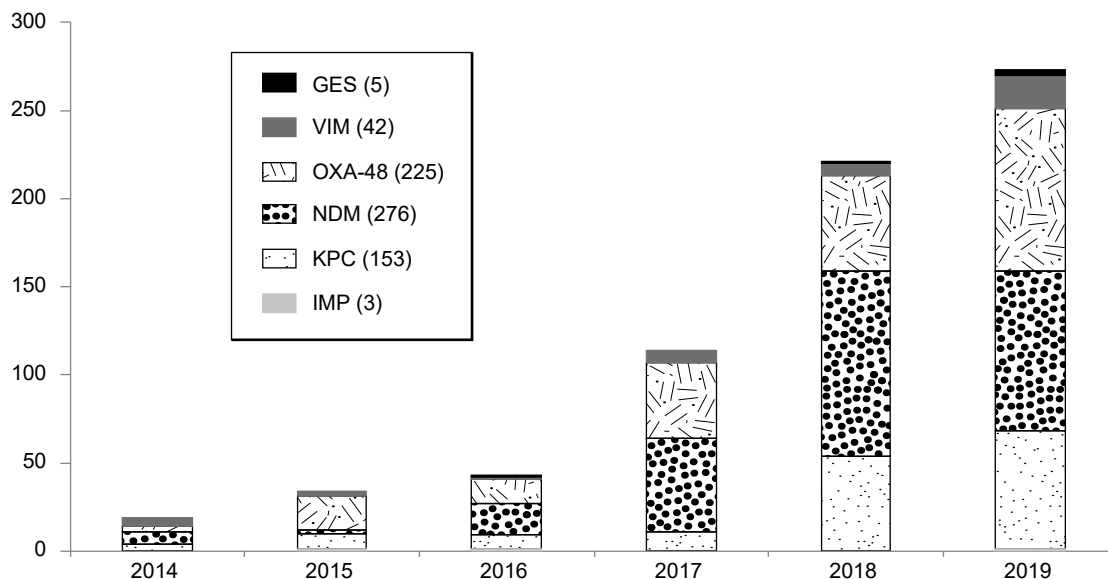
kolorimetrické testy), případně prokázat přítomnost genu rezistence metodou PCR nebo sekvenací celého genomu [2].

## Situace v České republice

Výskyt producentů karbapenemáz je v ČR monitorován od roku 2012. Mikrobiologické laboratoře zasílají izoláty enterobakterií z jakéhokoliv klinického materiálu s pravděpodobnou produkcí karbapenemázy ke konfirmaci do Národní referenční laboratoře (NRL) pro antibiotika Státního zdravotního ústavu (SZÚ) nebo Laboratoře antibiotické rezistence a aplikací hmotnostní spektrometrie v mikrobiologii Ústavu mikrobiologie LF UK v Plzni v souladu s Metodickým pokynem ke kontrole výskytu importovaných případů kolonizace a/nebo infekce enterobakteriemi produkujícími karbapenemázu [3]. Od roku 2016 dochází v České republice k plošnému nárůstu počtu případů, Graf 1. Výskyt CPE izolátů byl potvrzen celkem v 35 laboratořích (2018), respektive 44 laboratořích (2019). Tento trend je zčásti způsoben 3 dokumentovanými epidemickými epizodami, odráží ale i zhoršující se endemickou situaci v dalších nemocnicích, včetně zdravotnických zařízení poskytujících následnou péči [4, 5, 6]. Zatímco v roce 2016 bylo zaznamenáno celkem 30 případů kolonizace nebo infekce CPE a v 10 případech se jednalo o importovanou nákazu, v roce 2017 byl počet případů 114, v roce 2018 pak 220 případů a v roce 2019 bylo zaznamenáno 270 případů.

V roce 2018 pocházela polovina izolátů (49,5 %; 109/220) pouze ze dvou nemocnic. V jedné nemocnici byly zjištěny dvě epidemické epizody způsobené v prvním případě dominantně izoláty *Enterobacter cloacae* produkující NDM metalobetalaktamázu (37), ve druhém případě enterobakteriemi (zejména druhem *K. pneumoniae*; 8 izolátů) produkujícími enzym OXA-48. Příčinou třetí epidemické epizody byly enterobakterie s produkcí KPC [4, 5, 6]. V roce 2019 se pak jednalo spíše o menší epidemické epizody nebo sporadické záchyty omezeného počtu izolátů. V obou letech byl zaznamenán kontinuální nárůst výskytu enterobakterií s produkcí různých typů karbapenemáz (OXA-48, KPC a NDM) v nejméně třech zařízeních následné péče. V obou letech byl výskyt karbapenemáz nejčastější u druhu *K. pneumoniae* (rok 2018 – 40,4 %; 89/220; rok 2019 – 37,4 %; 101/270), následoval druh *Enterobacter cloacae* (rok 2018 – 21,4 %; 47/220; rok 2019 – 22,6 %; 61/270). V roce 2018 byl třetím nejpočetněji zastoupeným druhem *Citrobacter*

Graf 1: Přehled zachycených typů karbapenemáz v letech 2014–2019



Poznámka: Celkem 5 kmenů produkovalo 2 typy karbapenemáz (NDM + OXA-48 [4], IMP + VIM [1]).

*freundii* (15,9 %; 35/220), v roce 2019 pak *E. coli* (21,5 %; 58/270), Graf 2.

### Zapojení České republiky do mezinárodních studií

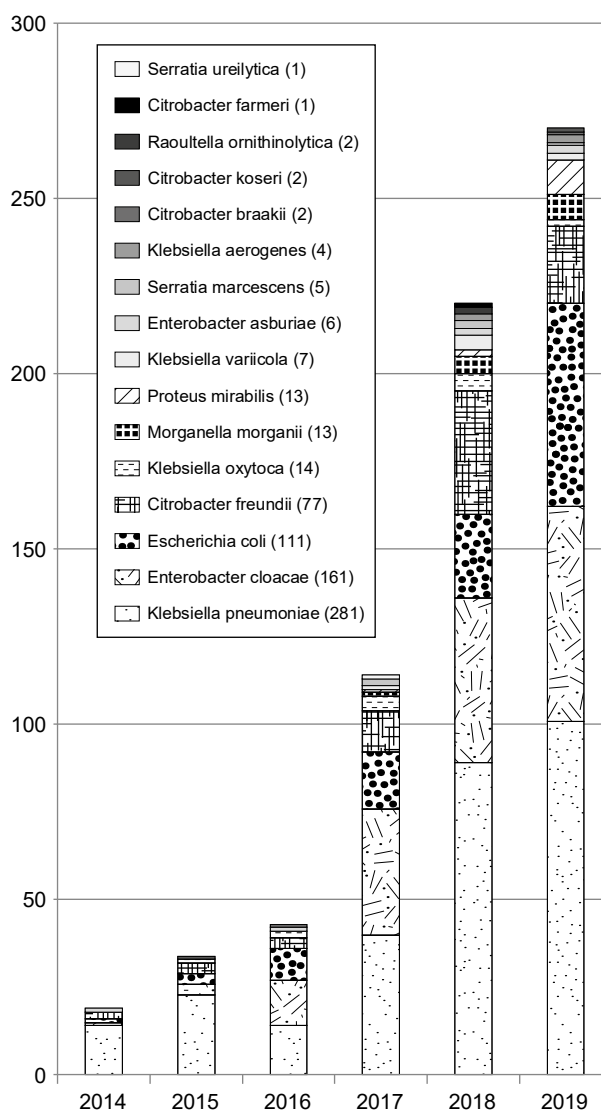
Česká republika je prostřednictvím Ústavu mikrobiologie LF UK v Plzni a NRL pro antibiotika SZÚ zapojena do několika mezinárodních pracovních skupin zaměřených na produkci karbapenemáz u enterobakterií a pseudomonád. Nejvýznamnější aktivitou bylo zapojení do European Study on Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* (EuSCAPE), která byla organizována Evropským centrem pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC). V rámci této studie probíhal sběr izolátů se sníženou citlivostí ke karbapenemům v deseti českých nemocnicích. Data byla publikována na národní [5, 6, 7] i mezinárodní úrovni [8].

V současnosti probíhá další studie organizovaná ECDC pod aktivitou EURGen-Net – CCRE (Survey of Carbapenem- and/or Colistin-Resistant *Enterobacteriaceae*). Metodika studie byla obdobná. Během sledovaného období bylo sbíráno 10 izolátů z řádu *Enterobacterales* rezistentních ke karbapenemům a 10 izolátů citlivých použitých jako komparátory. Rovněž byly sbírány enterobakterie se získanou rezistencí ke kolistinu. V současnosti jsou izoláty charakterizovány na úrovni celogenomové sekvenace, včetně detailního popisu mobilních genetických elementů.

### Doporučení pro detekci karbapenemáz u *Enterobacterales*

U enterobakterií produkujících karbapenemázy může být hodnota minimální inhibiční koncentrace (MIC) karbapenemů v oblasti citlivosti. Pro vyhledávání kmenů s produkcí karbapenemázy proto není rutinní vyšetření citlivosti k antibiotikům dostatečné. Pro screening a vyhledávání potenciálních producentů karbapenemáz lze využít hodnoty

Graf 2: Přehled jednotlivých druhů produkujících karbapenemázy v letech 2014–2019



epidemiologických předělů karbapenemových antibiotik. Doporučení EUCAST uvádí screeningové předěly pro meropenem a ertapenem [2]. Meropenem má vysokou specifitu a poměrně dobrou senzitivitu, ertapenem má vynikající citlivost, ale nízkou specifitu. Screeningové hodnoty jsou uvedeny v tabulce 1. Ovšem karbapenemázy typu OXA-48 mohou mít velmi nízké hodnoty MIC / velké průměry inhibičních zón ke karbapenemům. Proto u kmenů s průměrem inhibiční zóny meropenemu 25–27 mm a současnou rezistencí k piperacilin/tazobaktamu a/nebo temocilinu je nutno produkci enzymu dále ověřit.

**Tabulka 1. Screeningové hodnoty pro karbapenemáza produkující *Enterobacterales* (dle EUCAST)**

	Hodnoty screeningových předělů	
	MIC mg/l	inhibiční zóna (disk 10 µ) mm
Meropenem	>0,125	<28*
Ertapenem	>0,125	<25

\*Izoláty s průměrem inhibiční zóny meropenemu 25-27 mm, které jsou současně rezistentní k piperacilin/tazobaktamu a/nebo temocilinu (ten má vyšší specifitu; hraniční hodnoty pro rezistenci - MIC > 128 mg/l, průměr inhibiční zóny < 11 mm) se dále vyšetřují na produkci karbapenemázy. Vyšetření na produkci karbapenemázy se provádí vždy u izolátů s průměrem inhibiční zóny < 25 mm.

Další možností je testování kombinací disků obsahujících karbapenem a různé inhibitory karbapenemáz. Metoda principiálně vychází z testování citlivosti k antibiotikům pomocí diskové difúze, její nevýhodou je tedy časová prodleva nutná k vyhodnocení testu.

Pro potvrzení karbapenemázové aktivity lze proto spíše doporučit některou z přímých metod detekce hydrolýzy karbapenemu [2]. Mezi tyto metody patří řada komerčně dostupných kolorimetrických testů (např. β Carba test, Carba NP test, Blue-Carba test, Rapidec Carba-NP, apod.), případně MALDI-TOF MS detekce hydrolýzy karbapenemu. Tyto rychlé testy mají celkově vysokou senzitivitu i specifitu, u CarbaNP a BlueCarba testu byla v několika pracích zjištěna nižší senzitivita detekce producentů OXA-48 [9, 10].

V případě epidemických epizod je možné použít PCR pro rychlou detekci producentů karbapenemáz. Tato metoda však detekuje pouze známé varianty karbapenemáz a vyžaduje velké množství specifických oligonukleotidů pro pokrytí alespoň základních skupin karbapenemáz. Negativní výsledek tedy nevyklučuje možnou produkci karbapenemázy jiného typu.

Suspektní izoláty by měly být dále odesílány ke konfirmaci do NRL pro antibiotika nebo Laboratoře antibiotické rezistence a aplikací hmotnostní spektrometrie v mikrobiologii Ústavu mikrobiologie LF UK v Plzni. Zasílané izoláty musí být doplněné průvodkou – tištěnou nebo zadanou prostřednictvím webové aplikace (preferovaná varianta) dostupné na internetových stránkách Národní referenční laboratoře pro antibiotika Státního zdravotního ústavu (viz <http://apps.szu.cz/earsnet/kp/pruvodka.php>).

## ZÁVĚR

Výskyt CPE v České republice je stále nízký ve srovnání s dalšími evropskými státy, přesto nelze situaci podceňovat. Od roku 2016 je patrný trvalý vzestup výskytu CPE a to jak z důvodů několika epidemických epizod v nemocnicích, tak rozšířením CPE do většího počtu zdravotnických zařízení. Zatímco v minulosti nález CPE obvykle souvisel s importem nákazy ze zemí s vysokou prevalencí karbapenemáz, v posledních letech převažuje lokální přenos. Nejvíce jsou v ČR rozšířené karbapenemázy typu OXA-48, jejichž detekce může být velmi obtížná. Zároveň běžně dochází i k mezidruhovému horizontálnímu přenosu plazmidů kódujících geny *bla*<sub>OXA-48-like</sub> i v podmínkách *in vivo* [5, 6]. Epidemické epizody způsobené producenty OXA-48 proto mohou být obtížně zvladatelné.

Každá diagnostická laboratoř na úrovni antibiotického střediska by měla být schopná provádět základní testy pro detekci karbapenemáz. Při výskytu CPE, ať se jedná o kolonizaci nebo infekci pacienta, je nezbytně nutné dodržovat metodický pokyn Ministerstva zdravotnictví ČR [3], neboť jen tak lze šíření těchto bakterií omezit.

## Poděkování

*Děkujeme všem zúčastněným laboratořím za spolupráci. Věříme, že výše publikovaná data pomohou pracovištím v České republice jednak v oblasti diagnostiky CPE, ale i v oblasti prevence šíření tohoto vysoce nebezpečného typu rezistence.*

## LITERATURA

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2018. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2018.
2. EUCAST guideline for the detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance v. 2. 0. Dostupné na [http://www.eucast.org/resistance\\_mechanisms/](http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/)
3. Ministerstvo zdravotnictví. Metodický pokyn ke kontrole výskytu importovaných případů kolonizace a/nebo infekce enterobakteriemi produkujícími karbapenemázu. *Věstník Ministerstva zdravotnictví ČR*, 2012, 8: 10-19.
4. Paskova V, Medvecký M, Skalova A, et al. Characterization of NDM-Encoding Plasmids From *Enterobacteriaceae* Recovered From Czech Hospitals. *Front Microbiol* 2018; 9: 1549.
5. Kukla R, Chudejova K, Papagiannitsis CC, et al. Characterization of KPC-encoding plasmids from *Enterobacteriaceae* isolated in a Czech Hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; 62. pii: e02152-17.
6. Skalova A, Chudejova K, Rotova V, et al. Molecular characterization of OXA-48-like-producing *Enterobacteriaceae* in the Czech Republic and evidence for horizontal transfer of pOXA-48-like plasmids. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61. pii: e01889-16.
7. Hrabák J, Študentová V, Jakubů V, et al. Prevalence study on carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in Czech hospitals--results from Czech

part of European Survey on Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* (EuSCAPE). *Epidemiol Mikrobiol Immunol* 2015; 64: 87-91.

8. David S, Reuter S, Harris SR, et al. Epidemic of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Europe is driven by nosocomial spread. *Nat Microbiol* 2019; 4: 1919-1929.
9. Pasteran F, Veliz O, Ceriana P, Lucero C, Rapoport M, Albornoz E, Gomez S, Corso A; ReLAVRA Network Group. Evaluation of the Blue-Carba test for rapid detection of carbapenemases in gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol* 2015; 53:1996-1998.
10. Pasteran F, Tijet N, Melano RG, Corso A. Simplified protocol for Carba NP test for enhanced detection of carbapenemase producers directly from bacterial cultures. *J Clin Microbiol* 2015; 53:3908-3911.

*Helena Žemličková<sup>1</sup>, Lucia Mališová<sup>1</sup>, Vladislav Jakubů<sup>1</sup>,  
Petra Španělová<sup>1</sup>, Anna Šrámková<sup>2</sup>, Kateřina Chudějová<sup>2</sup>,  
Jaroslav Hrabák<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Národní referenční laboratoř pro antibiotika, Centrum  
epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav,  
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10*

*<sup>2</sup>Laboratoř antibiotické rezistence  
a aplikací hmotnostní spektrometrie v mikrobiologii,  
Ústav mikrobiologie a Biomedicínské centrum,  
Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova,  
Alej Svobody 76, 323 00 Plzeň*