

Komentář k polskému doporučení postupu při výskytu kmenů *Enterobacteriaceae* produkujících karbapenemázy typu KPC* ve zdravotnických zařízeních

Comments on the Recommendations on the steps to be taken in case of the emergence of KPC carbapenemase-producing strains of Enterobacteriaceae in healthcare settings in Poland

Jaroslav Hrabák, Pavla Urbášková, Tamara Bergerová, Helena Žemličková

Souhrn • Summary

Produkce karbapenemázy KPC je popisována u enterobakterií ale i u některých gramnegativních nefermentujících tyčků. Možnosti léčby infekcí způsobených těmito kmeny jsou omezené a v některých případech nejsou k dispozici antibiotika pro jejich léčbu. Předkládaný článek komentuje polské doporučení týkající se postupu při výskytu kmenů *Enterobacteriaceae* produkujících karbapenemázy typu KPC ve zdravotnických zařízeních.

The production of KPC carbapenemases has been reported in enterobacteria as well as in some Gram-negative non-fermenting rods. Limited therapeutic options are available for infections caused by the KPC-producing strains, with no antibiotics being effective in some cases. This article comments on the Polish recommendations on the steps to be taken in case of the emergence of KPC carbapenemase-producing strains of Enterobacteriaceae in healthcare settings in Poland.

Zprávy EM (SZÚ, Praha) 2010; 19(6–7): 196–198.

Klíčová slova: KPC, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacteriaceae*, surveillance

Keywords: KPC, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacteriaceae*, surveillance

Karbapenemázy KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) produkované některými gramnegativními bakteriemi, především druhem *K. pneumoniae*, představují významné riziko pro léčbu infekcí způsobených těmito kmeny [1, 2].

Enzymy KPC byly nalezeny v USA poprvé v roce 1996. Jejich substrátová specifita zahrnuje všechny β-laktamy (peniciliny, cefalosporiny všech generací, aztreonam a karbapenemy). Jsou slabě inhibovány kyselinou klavulanovou. Tato vlastnost je však v klinické praxi nepoužitelná. Dle klasifikace podle Bush et al. spadají do skupiny 2f, dle Amblera do skupiny A [2]. Kmeny enterobakterií produkující KPC mají široký rozptyl MIC karbapenemů (od 0,5 do > 32 mg/l) [2] a často se vyskytuje heterorezistence, kterou je možno pozorovat jako rezistentní subpopulaci vytvářející kolonie uvnitř inhibiční zóny kolem disků s karbapenemem.

Epidemiologie producentů KPC vykazuje určitá specifika. V současnosti (červenec 2010) je popsáno 10 různých variant enzymů KPC (<http://www.lahey.org/studies>). Geny *bla*_{KPC} jsou většinou lokalizovány na transpozonu Tn4401 [3]. Celosvětově dochází ke klonálnímu šíření klonu *K. pneumoniae* ST258, který náleží k epidemicky úspěšnému klonálnímu komplexu CC11. Epidemická úspěšnost tohoto klonu nebyla dosud vysvětlena. Rovněž plazmidový profil tohoto klonu je typický s plaz-

midy velikosti cca 40, 110 a 200 kbp [4]. Rezervoár kmenů produkujících KPC je pravděpodobně v Izraeli, USA a Řecku. Z těchto oblastí se producenti KPC šíří do ostatních zemí, především důsledkem cestování [1]. V České republice byl první izolát *K. pneumoniae* produkující KPC nalezen na podzim roku 2009 v severomoravské nemocnici (J. Hrabák, H. Žemličková, nepublikovaná data). Izolát náležel k mezinárodnímu klonu ST258 s typickým plazmidovým profilem.

Terapeutické možnosti infekcí způsobených producenty KPC jsou omezené. Kmen zůstává obvykle citlivý pouze k aminoglykosidům (amikacinu) a polymyxinům (kolistinu). Ve světě jsou popisovány i izoláty rezistentní ke všem dostupným antibiotikům. Infekce způsobené takovými kmeny jsou antibiotiky neléčitelné [1, 2]. Použití karbapenemů u některých infekcí, způsobených producenty KPC s nízkou MIC selhává, přestože tyto kmeny jsou podle kritérií EUCAST i CLSI v citlivé kategorii [5].

Pro diagnostiku KPC neexistuje dosud obecně použitelná metoda. Z fenotypových testů lze jmenovat Hodge test [2], který je však z principu nestandardizovatelný a jeho validaci v diagnostické laboratoři nelze provést. Další metody jsou založeny na inhibici enzymů KPC kyselinou fenylboritou [6]. Kyselina fenylboritá však inhibuje i β-laktamázy AmpC, které způsobují zvýšení MIC karbapenemů u kmenů se změnami v permeabilitě vnější membrány buněčné stěny, popisované v České republice [7]. U takových kmenů dochází k falešné pozitivitě (J. Hrabák, nepublikovaná data, viz obrázky 1 a 2). Test je proto v našich podmínkách nepoužitelný, a to ani v uspořádání popsaném Miriagou et al. [1] při porovnání s diskem meropenemu napuštěným kloxacilinem. Vy-

* KPC – anglická zkratka: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase

světlení tohoto fenoménu spočívá v hydrolyze kloxacilinu difundujícího do okolí disku β -laktamázu OXA-1, v České republice přítomnou u kmenů *K. pneumoniae* produkujících β -laktamázu AmpC typu DHA-1 [7, 8]. Jedinou možností pro rutinní klinicko-mikrobiologické laboratoře zůstává metoda PCR pro ověření přítomnosti genu *bla_{KPC}* [9]. Zmíněnou PCR metodu lze použít i pro surveillance KPC, spolu s kultivací klinického materiálu na MacConkey agaru s 1 mg/l imipenemu [9]. V referenční diagnostice lze použít metodu spektrofotometrické analýzy hydrolyzy imipenemu (provádí se na Ústavu mikrobiologie LF UK a FN v Plzni). Z výše uvedených skutečností je zřejmé, že pro evropské podmínky se dosud nepodařilo nalézt obecně použitelnou fenotypovou diagnostickou metodu. Volba metody spočívá na znalosti epidemiologické situace a prevalenci kmenů produkujících KPC v dané oblasti.

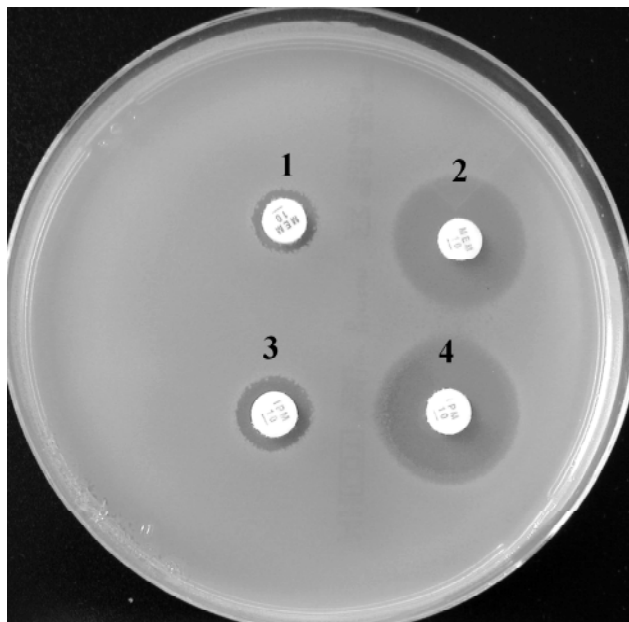
Vědomi si závažnosti situace výskytu producentů KPC v České republice, předkládáme odborné veřejnosti k diskusi materiál vypracovaný prof. Walerii Hryniewicz z polského Národního ústavu léků a schválený polským ministerstvem zdravotnictví jako oficiální postup, který je nutno dodržovat při výskytu kmenů produkujících KPC v nemocničních zařízeních Polska. Striktním dodržováním předkládaného postupu bylo dosaženo významné redukce výskytu producentů KPC v Polsku a závažnou situaci probíhající v období roku 2009 se podařilo dostat pod kontrolu (M. Gniadkowski: Acquired carbapenemases in enterobacteria and *Pseudomonas* spp., Semi-

nář SLM, červen 2010) Domníváme se, že jde o postup použitelný i v českých nemocnicích, neboť se jedná o zemi s podobnou socio-ekonomickou situací. Obdobný postup byl uplatněn v Izraeli – zemi s endemickým výskytem producentů KPC a i zde bylo dosaženo úspěchu (Y. Carmeli, osobní sdělení).

Práce byla podpořena granty NS9717-4/2008 a MŠMT 2E08003.

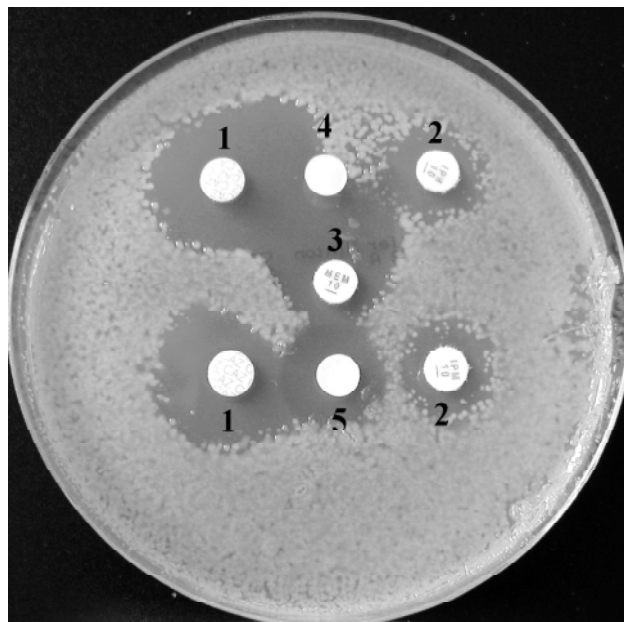
LITERATURA

- [1] Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M, et al. Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. *Clin Microbiol Infect.* 2010; 16: 112–122.
- [2] Hrabák J, Chudáčková E. Rezistence enterobakterií ke karbapenemům. *Epid mikrob imunol.* 2008; 57: 125–136.
- [3] Naas T, Cuzon G, Villegas MV, et al.: Genetic structures at the origin of acquisition of the beta-lactamase bla KPC gene. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008; 52: 1257–1263.
- [4] Baraniak A, Izdebski R, Herda M, et al. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* ST258 with KPC-2 in Poland. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53: 4565–4567.
- [5] Weisenberg SA, Morgan DJ, Espinal-Witter R, et al. Clinical outcomes of patients with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* after treatment with imipenem or meropenem. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009; 64: 233–235.
- [6] Hrabák J, Bergerová T, Žemličková H, et al. Detekce širokospektrých β -laktamáz (ESBL), β -laktamáz AmpC, metallo- β -laktamáz (MBL) a karbapenemáz KPC u gramnega-



Obrázek 1. Falešná pozitivita průkazu karbapenemázy KPC u kmene *Klebsiella pneumoniae* produkujícího AmpC typu DHA-1 se sníženou citlivostí ke karbapenemům způsobenou změnami v permeabilitě buněčné stěny.

1 – meropenem, 2 – meropenem + kyselina fenylboritá, 3 – imipenem, 4 – imipenem + kyselina fenylboritá. Přítomnost karbapenemázy lze definitivně potvrdit pouze referenční metodou spektrofotometrické analýzy štěpení imipenemu s buněčným extraktem připraveným sonikací, resp. opakovaným zamrazováním.



Obrázek 2. Falešná pozitivita průkazu metallo- β -laktamázy u kmene *Klebsiella pneumoniae* produkujícího AmpC typu DHA-1 se sníženou citlivostí ke karbapenemům způsobenou změnami v buněčné stěně.

1 – cefazidim, 2 – imipenem, 3 – meropenem, 4 – EDTA, 5 – kyselina merkaptopropionová. Rozšíření zóny patrné od disků s cefazidimem a meropenem směrem k disku s EDTA. Přítomnost karbapenemázy lze definitivně potvrdit pouze referenční metodou spektrofotometrické analýzy štěpení imipenemu s buněčným extraktem připraveným sonikací, resp. opakovaným zamrazováním.

- tivních tyček. *Zprávy EM (SZÚ, Praha)* 2009; 18: 100–106.
- [7] Chudáčková E, Bergerová T, Fajfrlík K, et al. Carbapenem-non-susceptible strains of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 and/or DHA-1 β -lactamases in a Czech hospital, *FEMS Microbiol Lett.* 2010; 309: 62–70.
- [8] Empel J, Hrabák J, Kozíňská A, Bergerová T, et al. DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in a teaching hospital in the Czech Republic. *Microb Drug Res.* 2010; v tisku.
- [9] Schechner V, Straus-Robinson K, Schwartz D, et al. Evaluation of PCR-based testing for surveillance of KPC-producing carbapenem-resistant members of the *Enterobacteriaceae* family. *J Clin Microbiol.* 2009; 47: 3261–3265.

Jaroslav Hrabák
Tamara Bergerová
Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice v Plzni

Pavla Urbášková
Helena Žemličková
Národní referenční laboratoř pro antibiotika,
Státní zdravotní ústav v Praze

Kontaktní informace:

Ing. Jaroslav Hrabák, Ph.D.
Ústav mikrobiologie
Lékařská fakulta UK a Fakultní nemocnice v Plzni
Alej Svobody 80, 323 00 Plzeň
e-mail: Jaroslav.Hrabak@lfp.cuni.cz
tel: 377 103 264