

První záchyt získané cefalosporinázy AmpC (CMY-2) u kmenů *Proteus mirabilis* v České republice

The first report of acquired AmpC cephalosporinase (CMY-2)-producing Proteus mirabilis strains in the Czech Republic

Jaroslav Hrabák, Vlastimil Jindrák, Zuzana Zemanová, Eva Chudáčková, Dana Červená, Pavla Urbášková

Souhrn • Summary

Získané β -laktamázy AmpC představují vážný klinický a epidemiologický problém. V České republice (ČR) byly dosud popsány pouze u druhů *Klebsiella pneumoniae* a *Serratia marcescens* (DHA-1). Článek popisuje záchyt dvou kmenů druhu *Proteus mirabilis* produkujících β -laktamázy CMY-2. Jedná se o první doložený případ produkce získané AmpC odlišné skupiny než je DHA-1 v ČR u humánních vzorků.

Acquired AmpC β -lactamases are an important clinical and epidemiological problem. In the Czech Republic, they have only been detected in Klebsiella pneumoniae and Serratia marcescens (DHA-1). This article reports the detection of two CMY-2-producing strains of Proteus mirabilis. It is the first report of acquired AmpC-lactamase other than DHA-1 in human isolates from the Czech Republic.

Zprávy EM (SZÚ, Praha) 2009; 18(12): 374–376.

Klíčová slova: *Proteus mirabilis*, CMY-2, AmpC
Keywords: *Proteus mirabilis*, CMY-2, AmpC

Cefalosporinázy AmpC jsou enzymy inherentní v genomu některých gramnegativních bakterií. Jsou schopné hydrolyzovat peniciliny a cefalosporiny. Stabilní vůči účinku těchto β -laktamáz zůstávají pouze karbapenemy a většinou i cefalosporiny čtvrté generace [7, 13, 16]. Mobilizací genů *bla*_{AmpC}, obvykle pomocí inserčních sekvencí IS26, *ISEcp1*, resp. *ISCR1* [5, 9, 13], dochází k jejich difúzi v bakteriálních populacích, především u enterobakterií [7, 13, 16]. Geny kódující AmpC mohou být součástí komplexních integronů třídy 1, spolu s genovými kazetami zodpovědnými za rezistenci k ostatním skupinám antibiotik [9, 13]. U producentů AmpC byla rovněž popsána selekce mutant rezistentních ke karbapenemům na základě snížené permeability vnější buněčné stěny [11, 14]. Kritéria pro interpretaci výsledků vyšetření citlivosti u producentů získané AmpC nejsou dosud ustálena [13, 17]. Z těchto důvodů je nutné takovým kmenům věnovat zvýšenou pozornost z klinického i epidemiologického hlediska.

V České republice byly u humánních izolátů dosud získané AmpC popsány pouze u druhů *Klebsiella pneumoniae* a *Serratia marcescens*. V obou případech se jednalo o enzym DHA-1, jehož gen byl lokalizovaný na komplexním integronu třídy 1 [8, 9]. Všechny dosud popsané kmeny *Klebsiella pneumoniae* náležely k celosvětově rozšířenému klonu ST11 (klonální komplex CC11) [9], který má pravděpodobně vyšší epidemiologický potenciál, včetně schopnosti akvizice různých plazmidů s různými determinantami rezistence [2, 10].

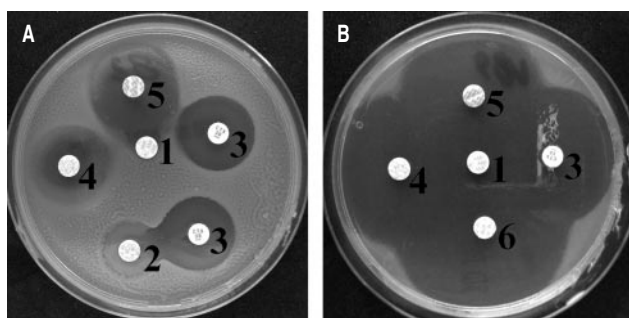
V březnu 2009 byly v Nemocnici Na Homolce zachyceny dva izoláty *Proteus mirabilis* s atypickými antibio-

gramy (viz Tabulka 1). Jednalo se o záchyt z tracheálního aspirátu 76letého muže (V82) a arteriálního katetru 80leté ženy (V89). Standardní metodikou [12] byla vyloučena produkce ESBL a prokázána konstitutivní produkce AmpC (viz obrázek 1). Kmeny byly srovnány pulsní gelovou elektroforézou (PFGE) po štěpení endonukleázou XbaI. Bylo zjištěno, že se jedná o geneticky shodné kmeny. Následná molekulární typizace sestávající se z isoelektrické fokusace bakteriálního extraktu s průkazem enzymatické aktivity nitrocefinem [1], multiplex PCR [15], amplifikace a sekvenace celého genu *bla* [5], potvrdila přítomnost AmpC typu CMY-2. Tento enzym je původní u druhu *Citrobacter freundii* [7, 16]. Jeho gen bývá nejčastěji mobilizován inserční sekvencí *ISEcp1* [5, 13]. U zmíněných kmenů však tento mobilní

Tabulka 1: MINIMÁLNÍ INHIBIČNÍ KONCENTRACE U DVOU IZOLÁTŮ *P. MIRABILIS* (KMENY V82 A V89) PRODUKUJÍCÍCH CMY-2.

Antibiotikum	MIC [μ g/ml]		Antibiotikum	MIC [μ g/ml]	
	V82	V89		V82	V89
Ampicilin	>64	>64	Meropenem	≤0,125	≤0,125
Amoxicilin/sulbaktam	8	16	Gentamicin	0,5	0,25
Piperacilin	4	32	Amikacin	1	1
Piperacilin/tazobaktam	0,5	8	Chloramfenikol	4	4
Cefazolin	>64	>64	Tetracyklin	64	32
Cefuroxim	4	64	Tigecyklin	8	32
Cefotaxim	2	16	Ko-trimoxazol	1	1
Cefoperazon	8	>32	Trimethoprim	2	0,5
Ceftazidim	1	16	Kyselina oxolinová	0,25	0,25
Cefepim	0,5	4	Ciprofloxacín	≤0,125	≤0,125
Aztreonam	8	32			

Obrázek 1: PRŮKAZ PRODUKCE ESBL a AmpC (kmen V82) podle standardní metodiky [12]



A – Mueller-Hinton agar, B – Mueller-Hinton agar + 128 mg/ml oxacilin, 1 – amoxicilin/kyselina klavulanová, 2 – cefotaxim, 3 – cefepim, 4 – ceftazidim, 5 – cefepim, 6 – aztreonam.

element detekován nebyl. Na základě těchto údajů lze předpokládat jejich unikátní geografický původ, odlišný od pouhého klonálního šíření z okolních států, kde byl uvedený způsob mobilizace bez výjimky popsán [5, 13]. V současnosti jsou prováděny další analýzy, které by měly objasnit mechanismy mobilizace *bla*_{CMY-2} u obou izolátů.

V měsících lednu až červnu 2009 bylo v Nemocnici Na Homolce zaznamenáno 88 pacientů s pozitivním nálezem *P. mirabilis*. V rámci enterobakterií se tedy v tomto nemocničním zařízení jedná o méně často izolovaný druh. Zpětným epidemiologickým šetřením se nepodařilo zjistit původ kmenů.

Kmeny enterobakterií produkující získanou AmpC představují stejně významný problém jako producenti širokospektrých β -laktamáz (ESBL), nejen kvůli vyřazení většiny β -laktamů, ale i z důvodů časté sdružené rezistence k ostatním skupinám antibiotik. β -laktamázy skupiny CMY jsou nejčastěji popisovanými získanými AmpC. Enzym CMY-2 je běžně nalézán u různých sérovarů druhu *Salmonella enterica*, nejen v humánní, ale také ve veterinární medicíně [3, 5, 6]. Izolátům se získanou AmpC je proto nezbytně nutné věnovat pozornost. V provozu rutinní klinické laboratoře je potřeba mít k dispozici osvědčené metodiky (na bázi inhibice AmpC kloxacilinem/oxacilinem) [4, 12], které spolehlivě umožní tento typ rezistence detekovat.

Výzkum β -laktamáz na pracovištích spoluautorů byl podpořen grantem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy, č. MŠMT 2E08003.

LITERATURA

- Bauernfeind A, Grimm H, Schweighart S. A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Infection* 1990; 18: 294–298.
- Damjanova I, Tóth A, Pászti J, Hajbel-Vékony G, Jakab M., Berta J, Milch H, Füzi M. Expansion and countrywide dissemination of ST11, ST15 and ST147 ciprofloxacin-resistant CTX-M-15-type β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* epidemic clones in Hungary in 2005 – the new „MR-SAs“?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005; 62: 978–985.
- Daniels JB, Call DR, Hancock D, Sischo WM, Baker K, Besser TE. Role of ceftiofur in selection and dissemination of *bla*_{CMY-2}-mediated cephalosporin resistance in *Salmonella enterica* and commensal *Escherichia coli* isolates from cattle. *Applied and Environmental Microbiology* 2009; 75: 3648–3655.
- Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V. Phenotypic detection of extended-spectrum β -lactamase production in *Enterobacteriaceae*: review and bench guide. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2008; 14 (Suppl. 1): 90–103.
- Empel J, Baraniak A, Literacka E, Mrówka A, Fiett J, Sadowy E, Hryniewicz W, Gniadkowski M, and the Beta-PL Study Group. Molecular survey of β -lactamases conferring resistance to newer β -lactams in *Enterobacteriaceae* isolates from Polish hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2008; 52: 2449–2454.
- García-Fernández A, Chiarretto G, Bertini A, Villa L, Fortini D, Ricci A, Carattoli A. Multilocus sequence typing of IncII plasmids carrying extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* and *Salmonella* of human and animal origin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2008; 61:1229–1233.
- Hrabák J. Klinicky významné β -laktamázy gramnegativních bakterií: AmpC. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* 2007; 57: 155–165.
- Hrabák J, Běbrová E, Nyč O, Fridrichová M, Bergerová T, Žemličková H, Urbášková P. Záchyt kmene *Serratia marcescens* současně produkujícího metalo- β -laktamázu (MBL), širokospektrou β -laktamázu (ESBL) a dvě β -laktamázy typu AmpC ve FN Motol. *Zprávy Epidemiologie a Mikrobiologie (SZÚ, Praha)* 2009; 18: 139–141.
- Hrabák J, Empel J, Bergerová T, Urbášková P, Gniadkowski M. DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in the University Hospital in Plzen (Czech Republic), 10th β -Lactamase Meeting, Eretrira, Greece, 2008.
- Hrabák J, Empel J, Bergerová T, Fajfrlík K, Urbášková P, Kern-Zdanowicz I, Hryniewicz W, Gniadkowski M. International clones of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* with extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in a Czech hospital. *Journal of Clinical Microbiology* 2009; 47: 3353–3357.
- Hrabák J, Chudáčková E. Rezistence enterobakterií ke karbapenemům. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* 2008; 57:125–136.
- Hrabák J, Vaniš V, Bergerová T, Urbášková P. Průkaz β -laktamáz širokého spektra (ESBL) a typu AmpC u enterobakterií. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie (SZÚ, Praha)* 2009; 18: 143–145.
- Jacoby GA. AmpC β -lactamases. *Clinical Microbiology Reviews* 2009; 22: 161–182.
- Livermore DM, Woodford N. The β -lactamase threat in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. *Trends in Microbiology* 2006; 14: 413–420.
- Pérez-Pérez FJ, Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 2002; 40: 2153–2162.

16. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. 2002. Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2002; 46: 1–11.
17. Urbášková P, Hrabák J, Žemličková H. Přirozené a získané β -laktamázy AmpC: interpretace indukce, hyperprodukce a dereprese. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie (SZÚ, Praha)* 2009; 18: 209–211.

Ing. Jaroslav Hrabák, Ph.D.
MUDr. Eva Chudáčková
Dana Červená, DiS.
Ústav mikrobiologie
Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Plzni
Dr. E. Beneše 13, 305 99 Plzeň
korespondence: Jaroslav.Hrabak@lfp.cuni.cz

MUDr. Vlastimil Jindrák
RNDr. Zuzana Zemanová
Oddělení klinické mikrobiologie
Nemocnice Na Homolce, Praha

RNDr. Pavla Urbášková, CSc.
Národní referenční laboratoř
pro antibiotika SZÚ, Praha