

VÝVOJ REZISTENCE KOMUNITNÍCH RESPIRAČNÍCH PATOGENŮ K ANTIMIKROBNÍM PŘÍPRAVKŮM V OLOMOUCKÉM REGIONU

Mgr. Luboslava Čekanová^{1,2}, doc. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.²

¹Mikrochem s. r. o., Olomouc

²Ústav mikrobiologie FN a LF UP, Olomouc

V období 2000–2006 byl analyzován vývoj rezistence nejčastějších bakteriálních původců komunitních infekcí respiračního traktu na vybraná antibiotika. Byly sledovány druhy *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenzae*. Největší dynamika vývoje rezistence byla zaznamenána u druhu *Streptococcus pyogenes* v případě makrolidů. Výsledky studie dokladují nutnost racionální antibiotické léčby jako nedílné součásti prevence vzniku a šíření multirezistentních bakteriálních kmenů.

Interní Med. 2007; 9(9): 405–407

Úvod

Zvyšování bakteriální rezistence k antimikrobním léčivům je výrazný problém současného zdravotnictví. K tomuto nepříznivému vývoji nedochází pouze u nozokomiálních izolátů v nemocničním prostředí, ale je popisován i v případě bakterií způsobujících komunitní respirační infekce (5, 7). Nejčastějšími bakteriálními původci infekcí horních a dolních cest dýchacích v komunitním prostředí jsou kmeny *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* a *Mycoplasma pneumoniae*. Nedílnou součástí léčby pacientů s uvedenými infekcemi je aplikace antibiotik. Bohužel, bakterie mají schopnost se přizpůsobovat jejich selektivnímu tlaku a výsledkem je zvyšování jejich odolnosti k antibiotické léčbě. K závažným problémům patří například zvyšování četnosti erytromycin-rezistentních kmenů *Streptococcus pyogenes*. Už v roce 1992 uvádějí Seppälä et al. vysoký počet (44 %) těchto kmenů ve Finsku (9). V dalších letech jsou tyto kmeny dokumentovány i v jiných zemích, např. v Itálii dosáhl jejich výskyt 38 % (1). Další významné nebezpečí představují penicilin-rezistentní pneumokoky, především kmeny s vysokou rezistencí. V polovině devadesátých let Doern et al. dokumentují v USA 14% frekvenci pneumokoků s intermediární rezistencí a 10% s vysokou rezistencí k penicilinu (3). Problémem jsou rovněž ampicilin-rezistentní kmeny *Haemophilus influenzae* z důvodu možnosti selhání léčby aminopeniciliny. V Itálii došlo během let 1998–2003 ke zvýšení počtu těchto kmenů ze 7% na 19% (2).

Rezistence *Streptococcus pyogenes* k erytromycinu je podmíněna modifikací rRNA, která je příčinou odolnosti nejen k makrolidům, ale současně i k linkosamidům (linkomycinu, klindamycinu) a streptograminu B (MLS_B fenotyp). Je nejčastěji

způsobena geny *erm* (erythromycin ribosomal methylase) (9, 13). Je-li metyláza syntetizována konstitutivně (gen *ermB*), jedná se o cMLS_B fenotyp, inducibilně syntetizovaná metyláza (gen *ermA*) podmiňuje iMLS_B fenotyp. Oba typy rezistence inaktivují 14–16členné makrolidy, linkosamidy a streptogramin B. Dalším mechanismem rezistence je aktivní transport z bakteriální buňky, tzv. eflux (M fenotyp) způsobený *mef* geny, který je charakterizován citlivostí k 16členným makrolidům (josamycinu, spiramycinu), klindamycinu a streptograminu B a rezistencí ke 14 a 15členným makrolidům (klaritromycinu, roxitromycinu, azitromycinu) (9, 13). Klinický význam rezistence *Streptococcus pyogenes* k makrolidům je značný, protože právě tyto přípravky jsou alternativními léky u komunitních infekcí dýchacích cest pacientů s alergií na peniciliny a cefalosporiny (6, 8).

Příčinou rezistence *Streptococcus pneumoniae* k penicilinu je neschopnost PBPů (Penicilin-Binding Proteins) toto antibiotikum vázat, což je způsobeno mutací nebo získáním genů pro produkci alterovaných PBPů od rezistentních viridujících streptokoků (11). Kmeny s intermediární citlivostí k penicilinu, jejichž MIC (minimální inhibiční koncentrace) se pohybuje v rozmezí 0,125–1 mg/l, nemívají klinické důsledky (s výjimkou meningitid), pokud se k léčbě onemocnění způsobených těmito kmeny použijí přiměřeně vyšší dávky penicilinu nebo amoxicilinu. Za kmeny s vysokou rezistencí k penicilinu jsou považovány izoláty s MIC ≥ 2 mg/l (11). Tyto kmeny jsou často rezistentní i k cefalosporinům III. generace, což může u život ohrožujících infekcí, např. meningitid, představovat závažný problém.

Rezistence *Haemophilus influenzae* k ampicilinu je podmíněna přítomností β -laktamázy (enzymů rozkládajících β -laktamový kruh ve struktuře penicilinových antibiotik). Neenzymatická rezistence je

způsobena neschopností proteinů (PBPs) vázat peniciliny (11). Tyto kmeny jsou kromě ampicilinu rezistentní i k některým dalším betalaktamovým antibiotikům, např. kombinacím aminopenicilinů s inhibitory β -laktamázy, cefacloru a cefuroximu (11).

Cílem této studie byla analýza vývoje rezistence druhů *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenzae* k vybraným antimikrobním přípravkům v olomouckém regionu v období 7 let.

Materiál a metody

V měsících říjen–prosinec roků 2000–2006 byly zpracovávány výtěry z krku od osob v komunitní populaci olomouckého regionu. Následně byly izolovány a standardními mikrobiologickými postupy určovány kmeny *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenzae*.

Izolované kmeny *Streptococcus pyogenes* byly identifikovány diagnostickou soupravou ITEST STREPTO GROUP (Itest plus, s. r. o.) pro určování sérologických skupin betahemolytických streptokoků. Fenotyp rezistence k erytromycinu byl stanoven diskovou metodou na Mueller Hinton agaru s 5% beraní krve (Oxoid) za použití disků erytromycinu (15 μ g) a klindamycinu (2 μ g) (4). Vzdálenost mezi středy obou disků byla 2 cm. Po 18–24 hod. inkubaci byl měřen průměr inhibičních zón kolem uvedených disků. Fenotyp kmenů, které netvořily žádnou inhibiční zónu, nebo jejichž zóny byly menší, než je stanovený limit pro citlivé kmeny, byl označen jako cMLS_B. Fenotyp kmenů, který tvořil charakteristicky deformovanou zónu kolem klindamycinu, byl charakterizován jako iMLS_B. M fenotyp byl přiřazen kmenům, které neměly deformovanou zónu kolem klindamycinu, a zóna kolem erytromycinu byla menší, než je limit pro citlivé kmeny nebo žádná (4).

Kmeny *Streptococcus pneumoniae* byly určovány pomocí diagnostického disku ITEST OPTOCHIN (Itest plus, s. r. o.) pro diferenciaci *Streptococcus pneumoniae* od viridujících streptokoků a latexovým aglutinačním testem Slidex – pneumo-Kit (Biomérieux). Citlivost kmenů k penicilinu byla testována diskem oxacilinu (1 µg) (11). U kmenů se zónou menší než 20 mm byl stanoven stupeň rezistence k penicilinu E testem (AB Biodisk).

K identifikaci *Haemophilus influenzae* byly použity diagnostické disky s růstovými faktory X (hemin) a V (NAD) (Itest plus, s. r. o.). Produkce betalaktamáz byla určována za použití metody s chromogenním cefalosporinem (Nitrocefin, Oxoid).

Citlivost k testovaným antimikrobním přípravkům byla určována difúzní diskovou metodou podle doporučení Národní referenční laboratoře (NRL SZÚ Praha) pro antibiotika (11).

Identifikovaný bakteriální kmen izolovaný od určitého pacienta byl do výsledků zařazen jen 1x, aby bylo vyloučeno jeho opakování v databázi.

Výsledky

Ve sledovaném období bylo izolováno celkem 4290 kmenů *Streptococcus pyogenes*, 1679 kmenů *Streptococcus pneumoniae* a 1526 kmenů *Haemophilus influenzae*. Tabulka 1 uvádí počty izolátů v jednotlivých letech studie.

Vývoj rezistence sledovaných species k vybraným antibiotikům je uveden v tabulkách 2–4. Nejvýznamnější změny byly dokumentovány u kmenů *Streptococcus pyogenes* ve vývoji rezistence k erytromycinu.

V případě *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenzae* nebyly zaznamenány výraznější posuny v četnosti rezistentních kmenů. Za pozitivní zjištění lze považovat velmi malý výskyt penicilin-rezistentních pneumokoků, přičemž ve všech případech se jednalo o kmeny s MIC v rozmezí 0,125–1 mg/l, a tedy izoláty intermediálně citlivé.

Tabulka 5 uvádí výsledky stanovení fenotypů rezistence u erytromycin-rezistentních kmenů *Streptococcus pyogenes*. Četnost jednotlivých typů se v jednotlivých letech mění, přesto lze však konstitutivní fenotyp rezistence považovat za nejčastější.

Diskuze

Z uvedených údajů vyplývají důležité změny v rezistenci *Streptococcus pyogenes*, a to především v případě makrolidových antibiotik. V roce 2000 dosáhla rezistence *Streptococcus pyogenes* k erytromycinu hodnoty 24 %, v roce 2001 dokonce 32 % (v 88 % se jednalo o cMLS_B rezistenci). K výraznému zlepšení této situace došlo v následujícím roce 2002, kdy rezistence klesla na 13 %

Tabulka 1. Počty kmenů *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenzae* v jednotlivých letech studie

Species	Rok							Celkem
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	475	458	419	1085	725	656	472	4290
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	303	223	229	196	270	215	243	1679
<i>Haemophilus influenzae</i>	127	284	206	268	212	271	158	1526

Tabulka 2. Vývoj rezistence *Streptococcus pyogenes* ke sledovaným antibiotikům (v procentech)

Antibiotikum	Rok						
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
penicilin	0	0	0	0	0	0	0
erytromycin	24,1	32,2	12,7	13,9	19,4	19,8	11,5
klindamycin	21,9	28,1	3,5	6,1	13,5	19,5	9,1
tetracyklin	22,9	38,8	21,2	20,5	22,8	21,2	10,8

Tabulka 3. Vývoj rezistence *Streptococcus pneumoniae* ke sledovaným antibiotikům (v procentech)

Antibiotikum	Rok						
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
penicilin	2,8	3,6	2,4	0	0	0	2,2
erytromycin	2,8	5,3	1,1	0,9	0	1,2	2,2
klindamycin	2,8	5,3	0	0	0	0	0
chloramfenikol	8,5	6,7	3,9	4,8	1,8	4,9	4,4
kotrimoxazol	17,1	24,8	11,1	16,9	6,7	6,1	10,9
tetracyklin	10,9	22,9	9,9	13,9	6,9	10,5	4,5

Tabulka 4. Vývoj rezistence *Haemophilus influenzae* ke sledovaným antibiotikům (v procentech)

Antibiotikum	Rok						
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
ampicilin	8,9	3,9	4,4	6,8	8,8	6,2	5,8
amoxicilin+kys. klavulanová	0	0	0,7	0,9	0	1,1	1,4
chloramfenikol	1,8	1,8	3,7	1,1	1,9	2,1	1,5
kotrimoxazol	12,7	8,2	6,6	16,7	8,1	15,5	14,5

Tabulka 5. Zastoupení jednotlivých fenotypů rezistence k erytromycinu u *Streptococcus pyogenes* v období let 2000–2006 (v procentech)

Fenotyp rezistence	Rok						
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
indukovaná (iMLS _B)	0	0	0	5,8	5,5	12,1	26,6
konstitutivní (cMLS _B)	87,9	88,1	27,8	37,9	67,3	84,1	50,1
efflux (M)	12,1	11,9	72,2	56,3	27,2	3,8	23,3

(M fenotyp tvořil 72 %). Tato skutečnost zřejmě souvisí s poklesem spotřeby makrolidů (10). Od roku 2003, kdy rezistence dosáhla hodnoty 14 % (56 % M fenotyp), je možné opět pozorovat pozvolný nárůst četnosti rezistentních kmenů, jejichž výskyt v roce 2005 činil 20 % (84 % cMLS_B). V roce 2006 došlo k příznivému poklesu na 12 % (50 % cMLS_B). Bohužel údaje o spotřebě makrolidů nejsou k dispozici, a nelze tedy hodnotit míru jejich selektivního tlaku. Lze však předpokládat, že především v letech 2004 a 2005 došlo k nárůstu spotřeby. Je zřejmé, že je nutné reagovat na tento nepříznivý vývoj racionální antibiotickou politikou, resp. adekvátním výběrem antibiotické léčby. V této souvislosti je vhodné zdůraznit, že lékem první volby u bakteriálních infekcí horních cest dýchacích je penicilin a makrolidy jsou indikovány především u pacientů alergických na peniciliny a cefalosporiny.

V roce 2000 byla detekována 3% četnost kmenů *Streptococcus pneumoniae* s intermediární citlivostí k penicilinu. V následujícím roce došlo k nepatrnému navýšení těchto kmenů na 4 % a v roce 2002 se počet pneumokoků s touto rezistencí opět snížil na 2 %. V letech 2003–2005 nebyly během sledovaného období zachyceny. V roce 2006 byly identifikovány 2 % těchto kmenů, žádný z nich však nebyl vysoce rezistentní na penicilin. Z údajů je zřejmé, že v terapii infekcí vyvolaných kmeny *Streptococcus pneumoniae* lze nadále doporučovat penicilin či amoxicilin jako léky první volby.

Rezistence kmenů *Haemophilus influenzae* k ampicilinu, způsobená produkcí β-laktamázy, se ve sledovaném období pohybovala v rozmezí 4–9 %. Neenzymatický typ rezistence se v daném období vyskytoval maximálně v 1 %. Za lék první volby lze proto nadále považovat amoxicilin.

Dokumentované údaje jsou v souladu s výsledky studie Urbáškové et al., charakterizující situaci v rezistenci respiračních patogenů v období 1996–2001 v České republice (12). V případě *Streptococcus pyogenes* uvádějí, že v roce 1997 byla rezistence k erytromycinu 3%, ale v roce 1999 dosáhla hodnoty 20% v sedmi ze 35 laboratoří České republiky, ve třech přesáhla hranici 30%, a v jedné se dokonce přiblížila 50% (12). U kmenů *Streptococcus pneumoniae* se rezistence k penicilinu zvýšila ze 3% v roce 1996 na 6% v roce 1999 (12). Rezistence *Haemophilus*

influenzae k ampicilinu, podmíněná téměř výlučně produkcí β -laktamázy, se v období 1996–1999 zvýšila ze 7% na 11% (12).

Závěr

Údaje o rezistenci *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenzae* k antimikrobním přípravkům lze v olomouckém regionu považovat za relativně dobré. Nebezpečné zvyšování odolnosti lze dokumentovat pouze v případech erytromycin-rezistentních kmenů *Streptococcus*

pyogenes. Je nutné tuto skutečnost vzít na vědomí a omezit používání makrolidových antibiotik na příslušné indikace, a to na pacienty s alergií na peniciliny a event. infekce dolních cest dýchacích.

Výsledky byly získány za podpory
výzkumného záměru MSM6198959223.

Mgr. Luboslava Čekanová

Mikrochem s. r. o. Olomouc
Ústav mikrobiologie FN a LF UP, Olomouci
Nezvalova 984, Olomouc 779 00
e-mail: luba.cekanova@mikrochem.cz

Literatura

1. Bassetti M, Manno G, Collida A, et al. Erythromycin resistance in *Streptococcus pyogenes* in Italy. *Emerg Infect Dis* 2000; 6: 180–183.
2. Cerqueti M, Cardines R, Giufre M, Mastrantonio P. Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae* strains isolated from invasive disease in Italy. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54: 1139–1143.
3. Doern GV, Brueggemann AB, Holley HP, Rauch A. Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* recovered from outpatients in the US during the winter months of 1994 to 1995: Results of a 30-center national surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 1208–1213.
4. Jakubů V, Urbášková P. Fenotypy rezistence na makrolidová antibiotika u *Streptococcus pyogenes*. *Zprávy CEM* 2000; 9 (12): 499–500.
5. Jindrák V, Henyšová J, Vaniš V, Urbášková P, Litoš P. Rezistence *Streptococcus pyogenes* k erytromycinu jako regionální problém. *Klin Mikrobiol Infekt Léč* 1999; 5: 237–243.
6. Kolář M. Antibiotická léčba bakteriálních infekcí respiračního traktu u dospělých pacientů v komunitě. *Interní Med.* 2000; 2: 395–396.
7. Kolář M, Urbánek K, Čekanová L, Koukalová D. Rezistence *Streptococcus pyogenes* k erytromycinu – závažný problém komunitních bakteriálních infekcí. *Klin Mikrobiol Infekt Léč* 2001; 5: 13–16.
8. Kolář M, Látal T, Čermák P. Klinicko-mikrobiologické podklady racionální antibiotické léčby. Praha, Trios 2002.
9. Seppälä H, Nissinen A, Yu Q, et al. Three different phenotypes of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* in Finland. *J Antimicrob Chemother* 1993; 32: 885–891.
10. Urbánek K, Kolář M, Čekanová L. Utilisation of macrolides and the development of *Streptococcus pyogenes* resistance to erythromycin. *Pharm World Science* 2005; 27: 104–107.
11. Urbášková P. Rezistence bakterií k antibiotikům – vybrané metody. Trios, 1998.
12. Urbášková P, et al. Surveillance rezistence k antibiotikům u nejčastějších bakteriálních původců respiračních infekcí v České republice. *Remedia* 2000; 10: 195–203.
13. Urbášková P, Jakubů V, Meltzer O. Analýza rezistence *Streptococcus pyogenes* k antibiotikům ze skupiny makrolidů. *Zprávy CEM* 2004; 13 (1): 28–29.