

## Klinicky významné $\beta$ -laktamázy gramnegativních bakterií: širokospektré $\beta$ -laktamázy (ESBL)

Hrabák J.

Ústav mikrobiologie LF UK a FN v Plzni

### Souhrn

$\beta$ -laktamázy jsou nejčastější příčinou rezistence gramnegativních bakterií k  $\beta$ -laktamům. V souvislosti se zavedením cefalosporinů třetí a čtvrté generace do praxe došlo ke vzniku  $\beta$ -laktamáz schopných hydrolyzovat tato antibiotika. Velkou skupinu těchto enzymů tvoří tzv. širokospektré  $\beta$ -laktamázy (ESBL). Většina  $\beta$ -laktamáz ESBL je odvozena od základních  $\beta$ -laktamáz s rozšířeným spektrem účinku (TEM-1, TEM-2 a SHV-1). Vzhledem k tomu, že producenti ESBL musí být z definice považováni za rezistentní ke všem  $\beta$ -laktamům, představují producenti těchto enzymů v klinické praxi závažný problém. Článek shrnuje problematiku ESBL, včetně jejich identifikace, interpretace a doporučené léčby infekcí způsobených těmito multirezistentními bakteriemi.

**Klíčová slova:** rezistence – cefalosporiny –  $\beta$ -laktamázy – enterobakterie – ESBL.

### Summary

**Hrabák J.: Clinically Important  $\beta$ -Lactamases of Gram-Negative Bacteria: Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases (ESBL)**

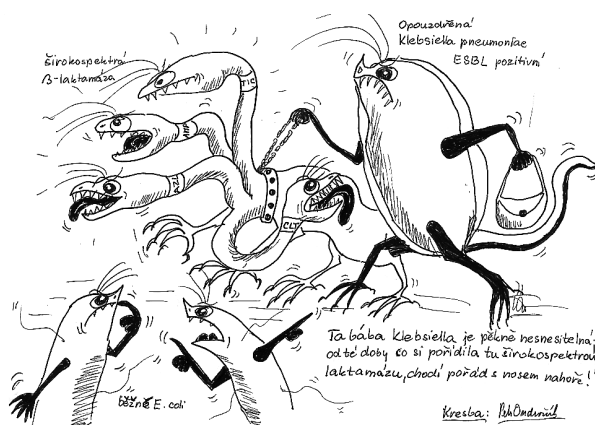
$\beta$ -lactamases are the commonest cause of a resistance of gram-negative bacteria to  $\beta$ -lactam antimicrobial agents. The introduction of the third- and fourth- generation cephalosporins into clinical practise is the reason of an evolution of new  $\beta$ -lactamases being able to hydrolyze these antibiotics. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) are the major group of these enzymes. Most of the ESBLs are mainly structural mutants of penicillinases TEM-1, TEM-2 and SHV-1. For several reasons, ESBL-producing isolates should, by definition, be reported as resistant to all penicillins, cephalosporins and monolactams. Due to seriously reduced antibiotic choice for infections caused by ESBL-producing bacteria, ESBLs pose a serious clinical problem. This review will focus on the characterization and identification of ESBLs, interpretation of sensitivity testing results of ESBL producing bacteria and an appropriate treatment of infections caused by ESBL-producers.

**Key words:** resistance – cephalosporins –  $\beta$ -lactamases – enterobacteria – ESBL.

$\beta$ -laktamová antibiotika tvoří jednu z nejdůležitějších a nepostradatelných skupin antibiotik. Zůstávají léky základní volby při léčbě nejzávažnějších bakteriálních infekcí, jako jsou sepse a meningitidy. Jejich podíl na trhu s antibiotiky je více než 65 % [19, 58]. Molekula těchto antibiotik, s charakteristickým čtyřčlenným  $\beta$ -laktamovým kruhem inaktivuje enzymy zodpovědné za biosyntézu peptidoglykanu buněčné stěny bakterií označované PBPs (Penicillin Binding Proteins) [36, 52].

Rezistence bakterií k  $\beta$ -laktamům může být způsobena několika mechanismy – alterace PBP, snížená permeabilita buněčné stěny, eflux a enzymatická degradace  $\beta$ -laktamázami [52]. Právě degradace  $\beta$ -laktamázami patří mezi nejčastější a rovněž nejzávažnější mechanismy rezistence

k  $\beta$ -laktamovým antibiotikům u gramnegativních bakterií [9, 45].



## Definice a klasifikace

Širokospektré  $\beta$ -laktamázy (ESBL) jsou enzymy produkované některými gramnegativními tyčinkami, jež hydrolyzují cefalosporiny s rozšířeným spektrem účinku (např. cefotaxim, ceftazidim) a monobaktamy [9, 21, 45]. Jsou inhibovány inhibitory  $\beta$ -laktamáz (např. kyselinou klavulanovou) a nehydrolyzují cefamyciny (např. cefoxitin) [21, 27, 45]. Tyto enzymy jsou nejčastěji nalézány u druhů *Klebsiella pneumoniae* a *Escherichia coli*. Rovněž je lze nalézt i u ostatních příslušníků čeledi *Enterobacteriaceae*, pseudomonád a acinetobakterů [9, 32, 42, 45].

Z biochemického hlediska se jedná o enzymy se serinem v aktivním místě. I když byla navržena řada klasifikací  $\beta$ -laktamáz, nejvíce používanou je klasifikace podle Amblera [1] a klasifikace, kterou navrhli Bushová, Jacoby a Medeiros [11]. Podle Amblerovy klasifikace [1] spadá většina ESBL do skupiny A, menší část do skupiny D [9, 12, 21, 45]. Enzymy skupiny A se vyznačují hydrolýzou penicilinů, skupiny D hydrolýzou kloxacilinu. Zmíněná klasifikace je sice dosud používána, avšak z hlediska substrátové specifity se jednotlivé skupiny vyznačují značnou heterogenitou [9, 21]. Podle klasifikace, kterou navrhli Bush, Jacoby a Medeiros [11], zohledňující substrátovou specifitu a citlivost k různým inhibitorům, spadají ESBL do funkční skupiny 2be, část do skupiny 2d.

### Historický vývoj

Zavedení cefalosporinů třetí generace do klinické praxe počátkem osmdesátých let minulého století zpočátku naznačovalo průlom v boji s mikroorganismy produkujícími  $\beta$ -laktamázy. Jejich výhody spočívaly v účinku proti bakteriím produkujícím  $\beta$ -laktamázy hydrolyzující ampicilin (např. TEM-1, TEM-2 u *E. coli* a SHV-1 u *K. pneumoniae* [9, 21, 45]) a nízké nefrotoxicitě ve srovnání např. s aminoglykosidy a polymyxiny [45].

První, plazmidem nesená ESBL, odvozená od  $\beta$ -laktamázy inherentně přítomné u druhu *K. pneumoniae*, byla popsána v Německu v roce 1983 a označena vzhledem k svému původu SHV-2. Podobně první ESBL, odvozená od  $\beta$ -laktamáz TEM-1 a TEM-2, popsána v roce 1989, nese označení TEM-3 [9]. Od té doby bylo popsáno několik různých skupin ESBL, které souhrnně čítají několik set příslušníků [9, 45]. Jejich počet neustále přibývá (pro aktuální údaje viz <http://www.lahey.org/studies/webt.htm>).

### Skupina TEM

Jedná se o nejpočetnější skupinu  $\beta$ -laktamáz. Ke vzniku nových odvozených enzymů dochází

záměnou aminokyselin na určitých pozicích (např. 21, 39, 42, 51, 92, 104, 153, 164, 182, 218, 237, 238, 240, 244, 265 a 268) [9]. Tyto substituce mění fenotyp ESBL, tedy schopnost hydrolyzovat jednotlivé cefalosporiny a mění rovněž izoelektrický bod molekuly (pohybuje se v rozmezí pI 5,2 – 6,5) [9]. Nejčastěji se s ESBL typu TEM lze setkat u *E. coli* a *K. pneumoniae*. Byly však detekovány i u dalších příslušníků čeledi *Enterobacteriaceae*, jako např. u druhů *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri*, *Providencia stuartii*, a u salmonel [4, 9, 21, 41, 45]. Enzym TEM-42 byl popsán u *Pseudomonas aeruginosa* [42].

### Skupina SHV

Enzymy skupiny SHV jsou nejčastěji nalézány u druhu *K. pneumoniae* [9, 17, 30]. Jejich původ pravděpodobně spočívá v inherentních  $\beta$ -laktamázách rodu *Klebsiella* [24]. Oproti enzymům skupiny TEM se liší relativně menším počtem příslušníků [9]. To je dáno tím, že v genu *bla*<sub>SHV</sub>, který kóduje enzymy skupiny SHV, dochází mutacemi k menšímu počtu variant, než v případě TEM. Většina záměn v molekule enzymu SHV je vázána na substituci serinu za glycin na pozici 238 [9]. Další místa, na nichž dochází k substituci jsou např. 130, 140 a 240 [9]. Izoelektrický bod příslušníků skupiny SHV se pohybuje mezi hodnotami pI 7,0 a 8,2 [9]. Tyto enzymy jsou nalézány rovněž u druhů *Citrobacter diversus*, *E. coli* a *P. aeruginosa* [9, 42, 44, 45].

### Skupina CTX-M

Tato skupina je poměrně mladou skupinou ESBL vázaných na plazmidu. Její příslušníci se vyznačují hydrolýzou cefotaximu a jsou nalézány především u druhu *Salmonella enterica* serovar Typhimurium a *E. coli* [5, 9, 22, 33, 49]. Předpokládá se, že jsou odvozeny od  $\beta$ -laktamáz inherentně přítomných u rodu *Kluyvera*. Například enzym KLUG-1 nalezený na chromozomu *Kluyvera georgiana* vykazuje 99% podobnost s enzymem označovaným CTX-M-8 [50]. Izoelektrický bod se pohybuje v rozmezí pI 7,6 – 8,9. V Polsku tvoří enzym CTX-M-3 dominantní typ ESBL u *E. coli* (Gniadkowski M., osobní sdělení). V České republice je v současnosti u *E. coli* dominantní typ CTX-M-15 (Hrabák J., nepublikovaná data).

### Skupina OXA

Další rostoucí skupinou ESBL je skupina označovaná jako OXA. Podle Amblerovy klasifikace její příslušníci náleží do třídy D, podle Bushové et al. do skupiny 2d [9, 11]. Enzymy skupiny OXA jsou charakteristické hydrolýzou oxacilinu a kloxacilinu a jsou pouze slabě inhibované kyselinou

klavulanovou [11]. Skupina se vyznačuje slabou genotypovou podobností (homologie mezi jednotlivými příslušníky může být menší než 20 %). Díky tomu se i izoelektrický bod příslušníků skupiny OXA pohybuje v rozpětí 5,5 až 8,9. Tyto enzymy byly nalezeny převážně u druhu *P. aeruginosa* [9, 42].

### Ostatní skupiny

Kromě výše zmíněných skupin jsou popisovány ještě další skupiny, jejichž význam však zatím není tak zásadní jako u skupin TEM, SHV, CTX-M a OXA. Jedná se například o skupiny BES, FEC, GES, CME, PER a VEB [9, 45, 51]. Vysvětlení původu jednotlivých zkratk lze najít v práci G.A. Jacoby [28].

## Epidemiologie ESBL

Epidemiologii ESBL lze vnímat z několika různých pohledů – na úrovni jednotlivého pacienta, zdravotnického zařízení a z hlediska geografických podmínek [21]. Prevalence producentů ESBL se liší mezi jednotlivými státy, ale i jednotlivými institucemi.

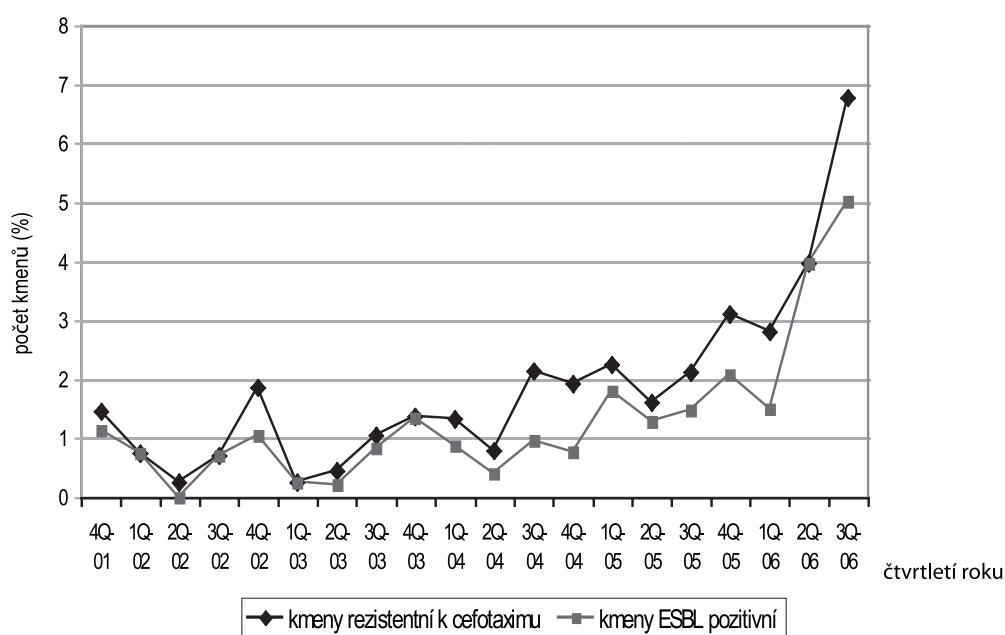
Prevalence producentů ESBL se liší i v rámci jednotlivých států Evropy [9, 20] (viz také <http://www.earss.rivm.nl>). Tato situace je dána různou socioekonomickou situací v jednotlivých státech, odlišnostmi v lokální antibiotické politice, atp.

V České republice (ČR) je sledována rezistence k cefalosporinům u invazivních izolátů *E. coli* a *K. pneumoniae* v rámci projektu Evropské surveillance antibiotické rezistence – EARSS. Aktuální informace lze získat na webové stránce <http://www.earss.rivm.nl> [66]. V roce 2006 bylo v ČR k cefalosporinům 3. generace rezistentních 4,9 % izolátů *E. coli* a 34 % izolátů *K. pneumoniae*. Oproti roku 2005 narostl počet takto rezistentních kmenů z 3 % (2 % producentů ESBL) u *E. coli*, resp. z 32 % (20 % producentů ESBL) u *K. pneumoniae* [66].

V rámci zdravotnického zařízení jsou nejrizikovějšími odděleními jednotky intenzivní péče [26, 35, 38, 60]. Zvyšující se rizika přináší umělá plicní ventilace, katetrizace, předchozí expozice a nadměrné používání cefalosporinů vyšších generací [17, 26, 31, 35]. Některé studie ukazují přímou souvislost výskytu ESBL s podáváním určitého antibiotika, avšak autoři jiných prací tuto souvislost nenalezli [9].

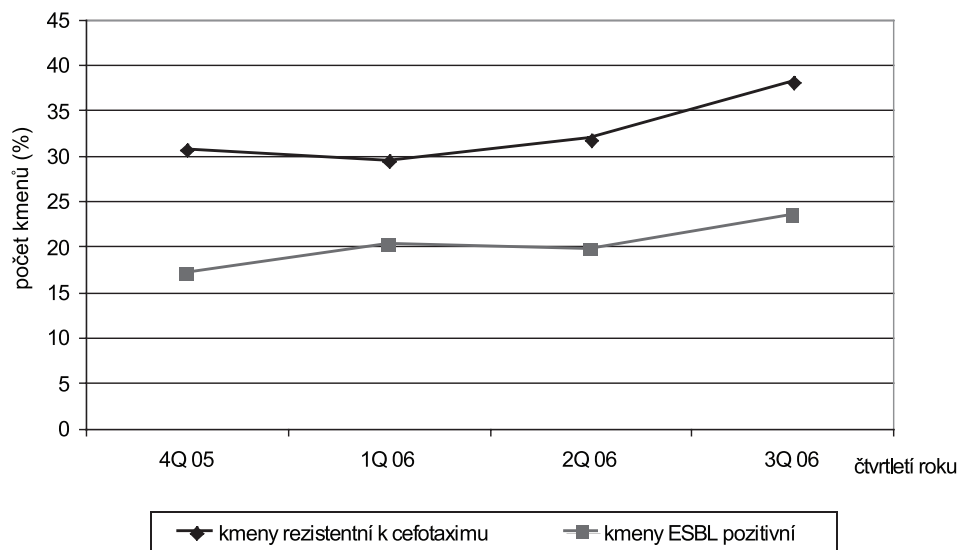
Z hlediska konkrétního pacienta může být významný horizontální přenos genů kódujících ESBL na jiné bakteriální druhy přítomné v organismu [4, 5, 21]. Tímto mechanismem se mohou vytvářet multirezistentní kmeny kombinující několik různých typů rezistence [9, 10, 29, 39, 45, 68].

Z hlediska prevence šíření ESBL v nemocničních zařízeních se ukázal bariérový přístup jako obtížně proveditelný [9, 45]. Dodržování zvýšených hygienických opatření je však pro zvládnutí



**Obr. 1.** Vývoj rezistence k cefotaximu u *Escherichia coli* v České republice v letech 2001-2006 (n = 9 836) (Data NRL pro antibiotika SZÚ a CZ-EARSS)

**Fig. 1.** Evolution of resistance to cefotaxime in *Escherichia coli* in the Czech Republic in 2001-2006 (n = 9,836) (Data provided by NRL for Antibiotics, National Institute of Public Health, and CZ-EARSS)



**Obr. 2.** Vývoj rezistence k cefotaximu u *Klebsiella pneumoniae* v České republice v letech 2005-2006 (n = 1 080) (Data NRL pro antibiotika SZÚ a CZ-EARSS)

**Fig. 2.** Evolution of resistance to cefotaxime in *Klebsiella pneumoniae* in the Czech Republic in 2005-2006 (n = 1,080) (Data provided by NRL for Antibiotics, National Institute of Public Health, and CZ-EARSS)

nozokomiálních epidemií zcela nutné [26, 31, 35, 57]. Jako účinná se rovněž osvědčila přísnější pravidla preskripce cefalosporinů vyšších generací a časté cyklování antibiotik [9, 45]. Obecný postup při výskytu multirezistentních bakterií v nemocničních zařízeních ČR byl vypracován pod garancí České lékařské společnosti J. E. Purkyně (ČLS JEP), a zveřejněn v oficiálním časopise a na internetové stránce ČLS JEP [6].

#### Identifikace ESBL v podmínkách rutinní mikrobiologické diagnostiky

Zvyšující se podíl producentů ESBL vyžaduje jejich správnou identifikaci v rutinních laboratorních klinické mikrobiologie. Všechny konfirmační metody využívají schopnost standardních inhibitorů  $\beta$ -laktamáz (kyselina klavulanová, tazobaktam, sulbaktam) inhibovat enzymy ESBL. Nejčastěji je používána disková difuzní metoda ve dvou různých uspořádáních:

- Kyselina klavulanová je přítomna v disku s cefalosporinem třetí, resp. čtvrté generace. Srovnává se průměr inhibičních zón u disku s kombinací a samotným cefalosporinem. Je-li průměr inhibičních zón u disku s kombinací větší nebo roven 5 mm, je kmen hodnocen jako producent ESBL (metoda CLSI) [13, 56].

- Kyselina klavulanová je přítomna v disku s amoxicilinem. Disky s různými cefalosporiny (resp. aztreonamem) jsou umístěny ve vzdálenosti 20-30 mm od disku s kombinací. Jestliže kmen produkuje ESBL, dochází mezi diskem s kombinací a některým cefalosporinem (resp. aztreonamem) k deformaci inhibiční zóny (synergie) [29, 37, 48]. Tato metoda byla vyvinuta ve Francii a je

označována jako DDST (**D**ouble **D**isk **S**ynergy **T**est) [29].

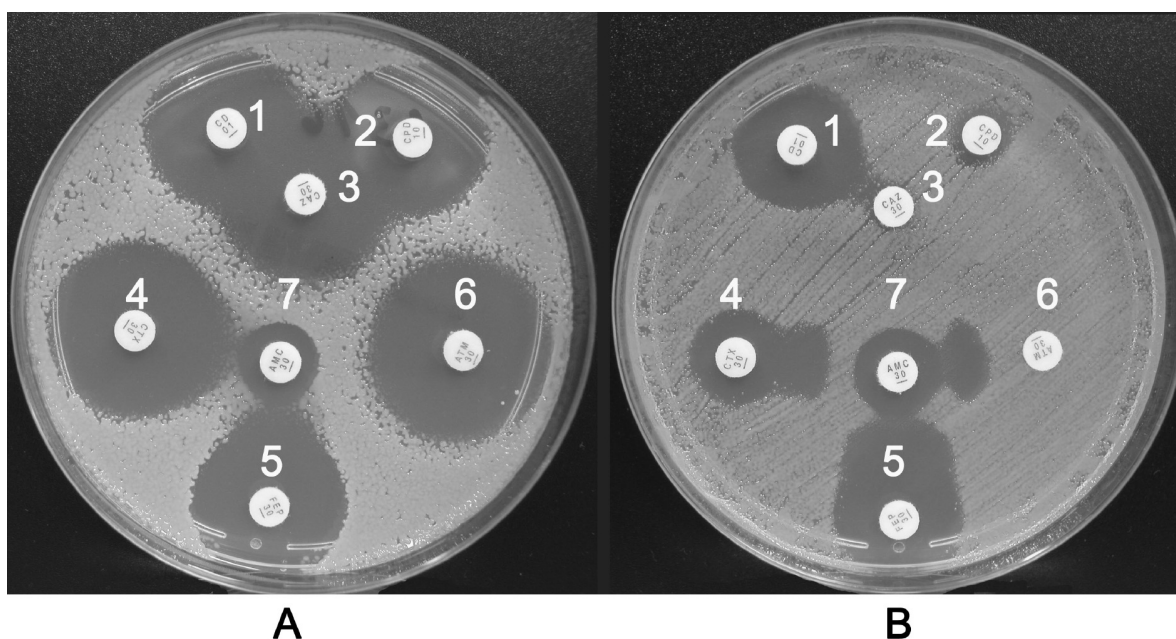
Automatické identifikační systémy využívají obdobu metody CLSI, avšak v mikrodilučním provedení [55].

Kromě těchto metod byly vyvinuty ještě další (např. 3D metoda, E-test) [14, 64], které dosud v klinické praxi nenašly široké uplatnění.

Základním problémem při obou zmíněných metodách v podmínkách rutinní mikrobiologické laboratoře je maskování fenotypového projevu enzymu enzymem necitlivým k dostupným inhibitorům  $\beta$ -laktamáz (kyselině klavulanové, tazobaktamu, sulbaktamu) [27, 60, 63]. Jedná se především o enzymy typu AmpC. Ty je však možné inhibovat některými jinými inhibitory (kyselinou boritou, kloxacilinem) [15, 18, 27]. Metoda, která umožňuje identifikovat enzymy typu ESBL za přítomnosti AmpC a rozlišit mezi těmito enzymy v rutinní laboratoři, byla zveřejněna v časopise Zprávy CEM [27] a na webové stránce <http://www.szu.cz>.

#### Identifikace ESBL molekulárně-biologickými metodami

Jak bylo zmíněno výše, liší se jednotlivé  $\beta$ -laktamázy svým izoelektrickým bodem, který lze stanovit izoelektrickou fokusací [7]. Počet těchto enzymů v jednotlivých skupinách však již neumožňuje jejich identifikaci pouze na základě izoelektrické fokusace [9, 45]. Přesto tato metoda, v kombinaci s biologickou detekcí aktivity ESBL, zůstává při molekulární identifikaci nezastupitelnou, neboť umožňuje identifikovat počet ESBL u zkoumaného kmene a vybrat vhodné primery pro PCR.



**Obr. 3.** Vyšetření produkce ESBL (kombinace metod DDST a CLSI). Označení: 1 – cefpodoxim/kyselina klavulanová, 2 – cefpodoxim, 3 – ceftazidim, 4 – cefotaxim, 5 – cefepim, 6 – aztreonam, 7 – amoxicilin/k. klavulanová. A – kmen *Klebsiella pneumoniae* neprodukující ESBL (žádné rozdíly mezi průměry inhibičních zón (IZ) u disků s cefpodoximem a kombinací cefpodoxim/k. klavulanová, žádné deformace mezi IZ u disků s kombinací amoxicilin/k. klavulanová a cefalosporiny, resp. aztreonamem), B – kmen *Escherichia coli* produkující ESBL (IZ významně větší u disku s kombinací cefpodoxim/k. klavulanová ve srovnání s IZ u cefpodoximu, IZ u cefotaximu a cefepimu rozšířená směrem ke kombinaci amoxicilin/k. klavulanová a směrem od kombinace amoxicilin/k. klavulanová k aztreonamu).

**Fig. 3.** Screening for ESBL production (combination of DDST and CLSI methods).

1 – cefpodoxime/clavulanic acid, 2 – cefpodoxime, 3 – ceftazidime, 4 – cefotaxime, 5 – cefepime, 6 – aztreonam, 7 – amoxicillin/clavulanic acid. A – ESBL non-producing *Klebsiella pneumoniae* strain (no differences between inhibition zone (IZ) diameters for discs with cefpodoxime and combination cefpodoxime/clavulanic acid, no deformations between IZ for discs with combination amoxicillin/clavulanic acid, cephalosporins and aztreonam), B – ESBL producing *Escherichia coli* strain (IZ significantly larger for the disc with the combination cefpodoxime/clavulanic acid compared to cefpodoxime, IZ for cefotaxime and cefepime enlarged toward the combination amoxicillin/clavulanic acid and away from the combination amoxicillin/clavulanic acid toward aztreonam).

Metodou zlatého standardu identifikace ESBL je PCR amplifikace genu (popř. jeho částí) kódujícího tento enzym (*bla*) s následnou sekvenací získaného PCR produktu [8, 9]. Tato metoda umožňuje zjistit sekvenci celého genu *bla* a při srovnání s databázemi  $\beta$ -laktamázu zcela přesně popsat. Nevýhodou zůstává skutečnost, že pro PCR nelze použít univerzální primery, a to ani v rámci jedné skupiny [9, 69].

Dalšími metodami molekulární identifikace jsou např. restriční analýza (RFLP) a ligázová řetězová reakce (LCR) [3, 34]. Vzhledem k dostupnosti sekvenace a charakteru výsledků, jež zmíněné metody přinášejí, je jejich využití ve výzkumu ESBL sporné.

Molekulární identifikace ESBL je nezastupitelná pro výzkum těchto enzymů, avšak v rutinní diagnostice ji nelze v žádném případě použít. Důvody spočívají v časové náročnosti popsaných metod, které již nelze dále zjednodušovat.

Pro molekulárně-epidemiologické srovnání producentů ESBL lze typizovat dalšími molekulárně-genetickými metodami, jako jsou PFGE a RAPD [23]. Je možné použít veškerou buněčnou

i plazmidovou DNA. Metoda RAPD se v bakteriologii považuje spíše za nevhodnou, neboť jediná bodová mutace může změnit kompletní profil fragmentů DNA. Bylo však dokázáno, že v případě gramnegativních tyčinek dává relevantní výsledky [23].

Pro stanovení teoretického rizika přenosu genů rezistence lze použít metodu testování horizontálního přenosu DNA konjugací. Bylo zjištěno, že některé ESBL, spojené s určitými bakteriálními druhy se vyznačují vysokou schopností konjugace (např. *Acinetobacter* spp., *Shigella* spp., *Salmonella* spp.) [5] (Gniadkowski M., osobní sdělení).

### Klinický význam a mikrobiologická interpretace vyšetření citlivosti u kmenů produkujících ESBL

ESBL produkující kmeny by měly být z definice považovány za rezistentní ke všem penicilinům, cefalosporinům a aztreonamu bez ohledu na výsledky vyšetření citlivosti [21, 61]. Tato definice byla ustavena jako důsledek častého selhávání  $\beta$ -laktamů při léčbě infekcí způsobených producenty ESBL [59, 70]. Důvody spočívají především

**Tab. 1.** Doporučená léčba při infekcích způsobených producenty ESBL (podle [45])**Table 1.** Recommended treatment of infections caused by ESBL producers (according to [45])

Typ infekce	Antibiotikum volby	Druhá volba
Močové infekce	Chinolony	Amoxicilin/k. klavulanová
Bakteriémie	Karbapenemy	Chinolony
Nozokomiální pneumonie	Karbapenemy	Chinolony
Intraabdominální infekce	Karbapenemy	Chinolony (+metronidazol)
Meningitidy	Meropenem	Polymyxin B

v efektu inokula, který se u těchto kmenů projevuje [53]. Jedná se o jev, kdy není minimální inhibiční koncentrace (MIC) konstantou, ale je závislá na množství přítomných bakterií. Při standardním vyšetření citlivosti je používáno inokulum  $10^5$  CFU/ml [65]. V organismu však může být při infekci koncentrace bakterií i o několik řádů vyšší, a tak přítomná koncentrace antibiotika, byť považované za citlivé, nemusí být účinná. Efekt inokula u producentů ESBL byl potvrzen i na zvířecím modelu v případě experimentálních abdominálních abscesů a endokarditid [9].

U některých kmenů *K. pneumoniae* produkujících ESBL byla popsána zvýšená rezistence vůči nativnímu séru [54].

Další důvod spočívá v rychlé selekci nových variant enzymů se změnou substrátovou specificitou. A tak například jediná bodová mutace na pozici 242, která způsobí substituci kyseliny asparagové za glycin, u enzymu CTX-M-3, je zodpovědná za schopnost nově vzniklého enzymu (CTX-M-15) hydrolyzovat ceftazidim [22, 49].

### Terapeutické možnosti u infekcí vyvolaných ESBL produkujícími kmeny

Vzhledem k doporučení uvedeném v předchozím odstavci jsou terapeutické možnosti u producentů ESBL velmi omezené. Problémem může být i skutečnost, že geny odpovědné za rezistenci například k aminoglykosidům bývají kódovány na tomtéž plazmidu jako geny kódující ESBL [21, 40, 45]. Významnou je i rezistence k chinolonům, která se často vyskytuje společně s ESBL [9, 39]. Důvody nejsou dosud plně objasněny, avšak rezistence k chinolonům je pravděpodobně způsobena snížením permeability buněčné stěny bakterií nebo efluxem [10, 39, 43].

D.L. Paterson a R.A. Bonomo [45] doporučují pro terapii infekcí způsobených producenty ESBL antibiotika uvedená v tabulce 1. Zmíněný kmen však musí být k těmto antibiotikům citlivý.

Díky predikci úspěchu léčby na základě farmakokinetických/dynamických parametrů někteří autoři doporučují podání cefepimu, je-li tento *in vitro* citlivý [2]. Ovšem studie porovnávající terapeutickou úspěšnost podání cefepimu a imipenemu u nozokomiálních pneumonií tuto skutečnost neprokázaly [47, 70]. Sporné je také použití kom-

binace cefalosporin/inhibitor  $\beta$ -laktamáz a cefamycinů [10, 45].

Další diskutovanou otázkou je i klinické využití kombinace amoxicilin/k. klavulanová, resp. piperacilin/tazobaktam u močových infekcí [2, 45]. Je zřejmé, že při lehkých močových infekcích by bylo podání karbapenemů (je-li kmen rezistentní k chinolonům) neopodstatněné. Situace musí být vždy posuzována konkrétně s přihlédnutím k ostatním faktorům. Obecně u producentů ESBL platí zásada, je-li MIC cefalosporinů, resp. penicilinů zvýšená ( $> 4$  mg/l), pravděpodobnost selhání léčby se zvyšuje [45, 46].

Lze předpokládat, že nadměrné používání karbapenemů povede v budoucnosti zcela jistě k selekci enzymů schopných tato antibiotika štěpit. V obou skupinách, podle Amblerovy klasifikace (A, D), do nichž ESBL spadají, byly již karbapenemázy popsány (např. KPC-1, -2, -3, OXA-23, OXA-48) [36, 52].

Další nadějí při léčbě závažných infekcí způsobených producenty ESBL by mohlo být použití nového glycylycyklinového antibiotika – tigecyklinu. Jedná se o parenterální antibiotikum účinné proti gramnegativním, grampozitivním i anaerobním bakteriím. P. Hawkey a R. Finch [25] jej doporučují k použití proti problematickým gramnegativním nozokomiálním patogenům (producenti ESBL, AmpC, multirezistentní pseudomonády, atp.).

### Závěr

Producenti ESBL jsou závažným problémem v klinické praxi. Jejich význam je však obvykle zastíněn ostatními multirezistentními mikroby, jako jsou například kmeny *Staphylococcus aureus* rezistentní k oxacilinu (MRSA) a enterokoky rezistentní k vankomycinu (VRE). Lékem volby při léčbě závažných infekcí způsobených producenty ESBL zůstávají karbapenemy. Ve světě se s kmeny enterobakterií rezistentními ke karbapenemům lze setkat [10, 52, 67]. Velmi znepokojivý, i když v České republice zatím ojedinělý a lokalizovaný, je výskyt kmenů *K. pneumoniae*, rezistentních ke karbapenemům (Hrabák J., nepublikovaná data). U takových infekcí jsou pak

terapeutické možnosti významně omezeny a vhodná volba často neexistuje [10, 62, 67].

### Poděkování

Děkuji prim. MUDr. Tamaře Bergerové za cenné připomínky k rukopisu a RNDr. Pavle Urbáškové, CSc. za poskytnutí dat o rezistenci *K. pneumoniae* a *E. coli* v České republice a rovněž za podnětné připomínky k textu.

### Literatura

- Ambler, R. P. The structure of  $\beta$ -lactamases. *Phil Trans R Soc Lond Biol*, 1980, 289, 321–331.
- Ambrose, P. G., Bhavnani, S. M., Jones, R. N. Pharmacokinetics-pharmacodynamics of cefepime and piperacillin-tazobactam against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: report from the ARREST program. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47, 1643–1646.
- Arlet, G., Brami, G., Decrere, D., Flippo, A. et al. Molecular characterization by PCR-restriction fragment length polymorphism of TEM  $\beta$ -lactamases. *FEMS Microbiol Lett*, 1995, 134, 1498–1500.
- Baraniak, A., Fiett, J., Mrówka, A., Walory, J. et al. Evolution of TEM-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in clinical *Enterobacteriaceae* strains in Poland. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49, 1872–1880.
- Baraniak, A., Sadowy, E., Hryniewicz, W., Gniadkowski, M. Two different extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) in one of the first ESBL-producing *Salmonella* isolates in Poland. *J Clin Microbiol*, 2002, 40, 1095–1097.
- Bergerová, T., Hedlová, D., Jindrák, V., Urbášková, P. et al. Doporučený postup pro kontrolu výskytu kmenů *Staphylococcus aureus* rezistentních k oxacilinu (MRSA) a s jinou nebezpečnou antibiotickou rezistencí ve zdravotnických zařízeních. *Zprávy CEM*, 2006, 15, příloha 1, 1–11.
- Bollag, D. M., Edelstein, S. J. *Protein methods*. New York: Wiley-Lis, Inc., 1991.
- Bradford, P. A. Automated thermal cycling is superior to traditional methods for nucleotide sequencing of *bla<sub>SHV</sub>* genes. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43, 2960–2963.
- Bradford, P. Extended-spectrum- $\beta$ -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*, 2001, 14, 933–951.
- Bradford, P., Urban, C., Mariano, N., Projan, S. J. et al. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, 41, 563–569.
- Bush, K., Jacoby, G. A., Medeiros, A. A. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, 39, 1211–1233.
- Bush, K., Singer, S. B. Biochemical characteristics of extended broad spectrum  $\beta$ -lactamases. *Infection*, 1989, 17, 429–433.
- Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: sixteenth informational supplement. CLSI Document M100-S-16, PA, USA, 2006.
- Cormican, M. G., Marshall, S. A., Jones, R. N. Detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing strains by the Etest ESBL screen. *J Clin Microbiol*, 1996, 34, 1880–1884.
- Coudron, P. E. Inhibitor-based methods for detection of plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamases in *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis*. *J Clin Microbiol*, 2005, 43, 4163–4167.
- Coudron, P. E., Moland, A. S., Sanders, C. C. Occurrence and detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* at a veterans medical center: seek and you may find. *J Clin Microbiol*, 1997, 35, 2593–2597.
- Crowley, B. D. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in blood culture isolates of *Klebsiella pneumoniae*: seek and you may find! *J Antimicrob Chemother*, 2001, 47, 728–729.
- Dunne, M. W., Hardin, D. J. Use of several inducers and substrate antibiotic combinations in a disk approximation assay format to screen for AmpC induction in patient isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., and *Serratia* spp. *J Clin Microbiol*, 2005, 43, 5945–5949.
- Essack, S. Y. The development of  $\beta$ -lactam antibiotics in response to the evolution of  $\beta$ -lactamases. *Pharm Res*, 2001, 18, 1391–1399.
- Finch, R. G. Antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother*, 1998, 42, 125–128.
- Gniadkowski, M. Evolution and epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. *Clin Microb Infect*, 2001, 7, 597–608.
- Gniadkowski, M., Schneider, I., Palucha, A., Jungwirth, R. et al. Cefotaxime-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from a hospital in Warsaw, Poland: identification of a new CTX-M-3 cefotaxime-hydrolyzing  $\beta$ -lactamase that is closely related to the CTX-M-1/MEN-1 enzyme. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998, 42, 827–832.
- Gori, A., Espinase, F., Deplano, A., Nonhoff, C. et al. Comparison of pulsed-field gel electrophoresis and randomly amplified DNA polymorphism analysis for typing extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Clin Microbiol*, 1996, 34, 2448–2453.
- Haeggman, S., Löfdahl, S., Bergman, L. G. An allelic variant of the chromosomal gene for class A  $\beta$ -lactamase K2, specific for *Klebsiella pneumoniae*, is the ancestor of SHV-1. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, 41, 2705–2709.
- Hawkey, P., Finch, R. Tigecycline: in-vitro performance as a predictor of clinical efficacy. *Clin Microbiol Infect*, 2007, 13, 354–362.
- Ho, P. L., Chan, W. M., Tang, K. W., Wong, S. S. et al. Bacteremia caused by *Escherichia coli* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamase: a case-control study of risk factors and outcomes. *Scand J Infect Dis*, 2002, 34, 567–573.
- Hrabák, J., Vaniš, V., Bergerová, T., Urbášková, P. Průkaz  $\beta$ -laktamáz širokého spektra (ESBL) a typu AmpC u enterobakterií. *Zprávy CEM*, 2007, 16, 31–36.
- Jacoby, G. A.  $\beta$ -lactamase nomenclature. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50, 1123–1129.
- Jarlier, V., Nicolas, M., Fournier, G., Philippon, A. Extended broad-spectrum  $\beta$ -lactamases conferring

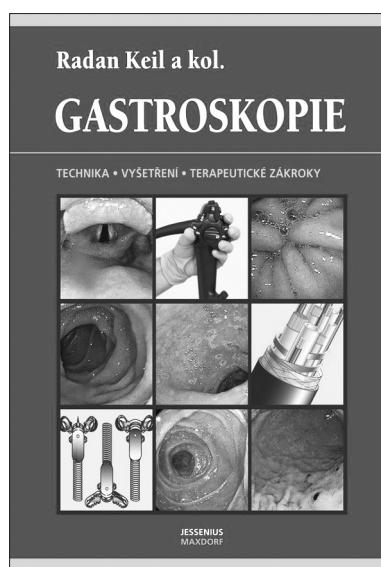
- transferable resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*, 1988, 10, 867–868.
30. **Juteršek, B., Baraniak, A., Žohar-Čretnik, T., Štorman, A. et al.** Complex endemic situation regarding extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a hospital in Slovenia. *Microb Drug Resist*, 2003, 9, 25–33.
  31. **Kang, C. I., Kim, S. H., Park, W. B., Lee K. D. et al.** Bloodstream infections due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for mortality and treatment outcome, with special emphasis on antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48, 4574–4581.
  32. **Karadenizli, A., Mutlu, B., Okay, E., Kolayli, F. et al.** Piperacillin with and without tazobactam against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in a rat thigh abscess model. *Chemotherapy*, 2001, 47, 292–296.
  33. **Kim, J., Lim, Y. M., Neony, Y. S., Seol, S. Y.** Occurrence of CTX-M-3, CTX-M-15, CTX-M-14, and CTX-M-9 extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Enterobacteriaceae* clinical isolates in Korea. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49, 1572–1575.
  34. **Kim, J., Lee, H.-J.** Rapid discriminatory detection of genes coding for SHV  $\beta$ -lactamases by ligase chain reaction. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44, 1860–1864.
  35. **Lautenbach, E., Patel, J. B., Bilker, W. B., Edelstein, P. H. et al.** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis*, 2001, 32, 1162–1171.
  36. **Livermore, D. M.**  $\beta$ -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microb Rev*, 1995, 8, 557–584.
  37. **Livermore, D., Winstanley, T. G., Shannon, K. P.** Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother*, 2001, 48, 87–102.
  38. **Lucet, J. C., Chevret, S., Decre, D. et al.** Outbreak of multiply resistant *Enterobacteriaceae* in an intensive care unit: epidemiology and risk factors for acquisition. *Clin Infect Dis*, 2001, 33, 188–193.
  39. **Martinez-Martinez, L., Pascal, A., Jacoby, G. A.** Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet*, 1998, 351, 797–799.
  40. **Menashe, G., Borer, A., Yagupsky, P. et al.** Clinical significance and impact on mortality of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolates in nosocomial bacteremia. *Scand J Infect Dis*, 2001, 33, 188–193.
  41. **Morris, D., O'Hare, C., Glennon, M., Maher, M. et al.** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Ireland, including a novel enzyme, TEM-102. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47, 2572–2578.
  42. **Nordmann, P., Guibert, M.** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*, 1998, 42, 128–132.
  43. **Padilla, E., Alonso, D., Doménech-Sánchez, A., Gomez, C. et al.** Effect of porine and plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamases on the efficacy of  $\beta$ -lactams in rat pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50, 2258–2260.
  44. **Palucha, A., Mikiewicz, B., Gniadkowski, M.** Diversification of *Escherichia coli* expressing an SHV-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) during a hospital outbreak: emergence of an ESBL-hyperproducing strain resistant to expanded-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43, 393–396.
  45. **Paterson, D. L., Bonomo, R. A.** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. *Clin Microb Rev*, 2005, 18, 657–686.
  46. **Paterson, D. L., Ko, W. C., Von Gottberg, A., Mohaparta, S., Casellas, J. M.** Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol*, 2001, 39, 2206–2212.
  47. **Paterson, D. L., Ko, W. C., Von Gottberg, A., Mohaparta, S., Casellas, J. M.** International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of production of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Clin Infect Dis*, 2004, 39, 31–37.
  48. **Pitout, J. D. D., Reisbig, M. D., Venter, E. C., Church, D. L. et al.** Modification of double-disk test for detection of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum and AmpC  $\beta$ -lactamases. *J Clin Microbiol*, 2003, 41, 3933–3935.
  49. **Poirel, L., Gniadkowski, M., Nordmann, P.** Biochemical analysis of the ceftazidime-hydrolysing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases CTX-M-15 and of its structurally related  $\beta$ -lactamase CTX-M-3. *J Antimicrob Chemother*, 2002, 50, 1031–1034.
  50. **Poirel, L., Kampfer, P., Nordmann, P.** Chromosome-encoded Ambler class A  $\beta$ -lactamase of *Kluyvera georgiana*, a probable progenitor of a subgroup of CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, 46, 4038–4040.
  51. **Poirel, L., Thomas, I., Naas, T., Karim, A. et al.** Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum  $\beta$ -lactamase, and the class 1 integron In52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44, 622–632.
  52. **Poole, K.** Resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics. *CMLS*, 2004, 61, 2200–2223.
  53. **Queenan, A. M., Foleno, B., Gownley, C., Wira, E. et al.** Effects of inoculum and  $\beta$ -lactamase activity in AmpC- and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates tested by using NCCLS ESBL methodology. *J Clin Microbiol*, 2004, 42, 269–275.
  54. **Sahly, H., Aucken, H., Benedi, V. J., Forestier, C. et al.** Increased serum resistance in *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48, 3477–3482.
  55. **Sanguinetti, M., Posteraro, B., Spanu, T., Caccaglione, D. et al.** Characterization of clinical isolates of *Enterobacteriaceae* from Italy by the BD Phoenix extended-spectrum  $\beta$ -lactamase detection method. *J Clin Microbiol*, 2003, 41, 1463–1468.
  56. **Schwaber, M. J., Raney, P. M., Rasheed, J. K., Biddle, J. W. et al.** Utility of NCCLS guidelines for identifying extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in non-*Escherichia coli* and non-*Klebsiella* spp. of *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol*, 2004, 42, 294–298.
  57. **Siegel, J. D., Rhinehart, E., Jackson, M., Chiarello, L.** Management of multidrug-resistant organisms in healthcare settings, 2006. *Healthcare Infection Control Practises Advisory Committee, USA*, 2006.
  58. **Siu, L. K.** Antibiotics: action and resistance in gram-negative bacteria. *J Microbiol Immunol Infect*, 2002, 35, 1–11.



59. **Song, W., Moland, E. S., Hanson, N. D., Lewis, J. S. et al.** Failure of cefepime therapy in treatment of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *J Clin Microbiol*, 2005, 43, 4891–4894.
60. **Stürenburg, E., Mack, D.** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J Infect*, 2003, 47, 273–295.
61. **Tenover, F. C., Mohammed, M. J., Gorton, T. S., Dembek, Z. F.** Detection and reporting of organisms producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: survey of laboratories in Connecticut. *J Clin Microbiol*, 1999, 37, 4065–4070.
62. **Thiolas, A., Bollet, C., LaScola, B., Raoult, D. et al.** Successive emergence of *Enterobacter aerogenes* strains resistant to imipenem and colistin in a patient. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49, 1354–1358.
63. **Thomson, K. S.** Controversies about extended-spectrum and AmpC  $\beta$ -lactamases. *Emerg Infect Dis*, 2001, 7, 333–336.
64. **Thomson, K. S., Sanders, C. C.** Detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*: comparison of the double-disk and three-dimensional tests. *Antimicrob Agents Chemother*, 1992, 36, 1877–1882.
65. **Urbášková, P.** Rezistence bakterií k antibiotikům. Vybrané metody. Praha: Trios, 1998.
66. **Urbášková, P., Jakubů, V., Žemličková, H., Macková, B.** a CZ-EARSS. Rezistence k antibiotikům u sedmi druhů invazivních bakterií, sledovaných v rámci EARSS v České republice v letech 2000 – 2006. *Prakt. Lék.*, 2007, v tisku.
67. **Walsh, T. R., Toleman, M. A., Poirel, L., Nordmann, P.** Metallo- $\beta$ -lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microb Rev*, 2005, 18, 306–325.
68. **Wiener, J., Quinn, J. P., Bradford, P. A., Goering, R. V. et al.** Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in nursing homes. *JAMA*, 1999, 281, 517–523.
69. **Woodford, N., Fagan, E. J., Ellington, M. J.** Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *J Antimicrob Chemother*, 2005, 10, 154–155.
70. **Zanetti, G., Bally, F., Greub, G., Gardino, J.** Cefepime versus imipenem-cilastin for treatment of nosocomial pneumonia in intensive care unit patient: a multicenter, evaluator-blind, prospective, randomized study. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47, 3442–3447.

Do redakce došlo 7. 5. 2007

Ing. J. Hrabák  
Ústav mikrobiologie LF UK a FN  
Dr. E. Beneše 13  
305 99 Plzeň  
e-mail: Jaroslav.Hrabak@lfp.cuni.cz



## GASTROSKOPIE

*Radan Keil a kol.*

Kniha *Gastroskopie* je učebnicí, která poskytuje začínajícím endoskopistům základní přehled o této metodě, organizaci endoskopického provozu a vlastní technice vyšetření. Součástí knihy je rozsáhlá obrazová dokumentace. velký prostor je věnován kapitole Endoskopické nálezy při ezofagogastroduodenoskopii. Z dlouholeté zkušenosti autorů vychází řada organizačních doporučení, týkajících se provozu endoskopického zařízení.

Vydalo nakladatelství Maxdorf v roce 2006, formát B 5, 176 str., cena 695 Kč. Edice Jessenius, ISBN: 80-7345-106-9.

**Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz**