

Časopis *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* získal impakt faktor

S velkým potěšením všem oznamuji, že náš časopis po několikaletém usilování získal impakt faktor s hodnotou 0,306.

Bez nadsázky lze říci, že časopisů v oborech medicíny, které mají impakt faktor (IF), je v České republice velmi málo. Děkuji proto všem, kteří přispěli k získání tak prestižního ocenění – bez kvalitních článků autorů EMI, bez fundovaných recenzí a obětavé práce členů redakční rady EMI by získání IF nebylo možné.

Nyní musíme udělat vše pro udržení kvality časopisu, tak aby si IF zachoval, případně aby mohlo v budoucnu dojít k navýšení jeho hodnoty. Velmi důležité jsou v tomto směru zejména: udržení úrovně vydávaného obsahu, míra citovanosti uveřejněných prací v člancích jiných impaktovaných periodik a nízký počet autocitací.

To vše klade vyšší nároky na autory, recenzenty a redakční radu EMI. Budu ráda, když všichni dáme do startu EMI, coby časopisu s IF, v jeho 62 letech slib, že každý za sebe budeme hlídat, aby uvedené ukazatele k udržení a zvyšování IF byly co nejpříznivější.

Pavla Křížová

vedoucí redaktorka *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie*.

Antibiotická rezistence u netyfových sérovarů *Salmonella* spp. v České republice

Žemličková Helena, Dědičová Daniela, Jakubů Vladislav, Mach Jakub, Kolínská Renata, Malíková Eliška, Urbášková Pavla* et al.**

Státní zdravotní ústav, Praha

SOUHRN

Cíl práce: Zjistit antibiotickou rezistenci a frekvenci výskytu multirezistentních kmenů u netyfových sérovarů salmonel, izolovaných od lidí.

Materiál a metodiky: Konsekutivní izoláty salmonel, izolované v průběhu studie od pacientů ve 48 mikrobiologických laboratořích v průběhu měsíce května roku 2012, byly analyzovány v příslušných referenčních laboratořích SZÚ. Kmeny byly reidentifikovány a byly zjištěny jejich sérovary. K zjištění citlivosti byla použita mikrodiluční metoda stanovení minimálních inhibičních koncentrací 11 antibiotik.

Výsledky: Mezi celkem 25 sérovary, zjištěnými v souboru 637 kmenů *Salmonella enterica*, byl nejpočetněji zastoupen sérovar Enteritidis (87,0 %), následoval sérovar Typhimurium (4,9 %), monofázická varianta Typhimurium 4,[5],12:i:- (2,0 %) a Mbandaka (0,6 %), kmeny ostatních sérovarů se vyskytovaly ojediněle. Celkem 558 kmenů (87,6 %) bylo citlivých ke všem vyšetřovaným antibiotikům, ostatní kmeny (n = 79) byly rezistentní k jednomu nebo k více antibiotikům. Prevalence rezistence v celém souboru 637 kmenů k jednotlivým antibiotikům byla následující: ampicilin 8,5 %, tetracyklin 5,7 %, sulfamethoxazol 5,2 %, ciproflo-

* korespondující autor

**V. Adámková, N. Bartoníková, M. Bártová, E. Bendová, T. Bergerová, Z. Bohunová, E. Čápková, M. Dovalová, M. Glasnák, M. Hanslianová, V. Hásková, B. Heinigeová, N. Hermanová, M. Horníková, B. Horová, E. Chmelařová, J. Janečková, P. Ježek, V. Jindrák, I. Kohnová, L. Kolářová, D. Krčková, V. Kůrková, P. Linhart, M. Machučová, J. Miklová, J. Niemczyková, O. Nyč, B. Ochvatová, A. Ouertani, P. Paterová, Z. Pokorná, J. Pomykal, A. Sekáčková, J. Scharfen, H. Skačáni, A. Steinerová, E. Šimečková, M. Štolbová, R. Tejkalová, L. Trojan, E. Uhlířová, L. Vašková, E. Veselá, E. Zálabská, D. Zamazolová, R. Záruba, J. Železná

xacin 3,8%, chloramfenikol 2,5%, kmeny rezistentní k gentamicinu, trimethoprimu a cefalosporinům 3. a 4. generace se vyskytly jen ojediněle ($\leq 0,5\%$), k meropenemu nebyl rezistentní žádný kmen. Tři producenti širokospektré betalaktamázy byli multirezistentní, a u dvou z nich izolovaných od dvojčat byl zjištěn odlišný vzor rezistence.

Mezi rezistentními kmeny byl nejčastěji zastoupen sérovar Enteritidis (49,4%), následovaly sérovary Typhimurium (26,6%) a monofázická varianta Typhimurium (15,2%). Zatímco podíl rezistentních kmenů mezi všemi kmeny sérovaru Enteritidis v souboru byl pouze 7% (39 z 554 kmenů), u sérovarů Typhimurium a jeho monofázické varianty 4,[5],12:i:- činil podíl rezistentních kmenů 66,7%, respektive 92,3%. Rezistentní byly dále všechny kmeny sérovarů Virchow (n = 3), Kentucky (n = 1), Newport (n = 1), dva ze tří kmenů sérovaru Infantis, a jeden ze dvou kmenů sérovaru Stanley. Všechny pět izolátů z krve patřilo k sérovaru Enteritidis, jeden z nich byl rezis-

tentní k ciprofloxacinu. Mezi 79 rezistentními kmeny bylo 26,6% samostatně rezistentních k ampicilinu a 24,1% k ciprofloxacinu, multirezistence (rezistence ke třem a více antibiotikům) byla potvrzena u 43,0% kmenů.

Závěry: Přes relativně nízkou prevalenci rezistence k vyšetřovaným antibiotikům v souboru 637 kmenů byly shledány tyto znepokojivé nálezy: výskyt kmenů *Salmonella enterica* rezistentních k lékům volby salmonelových infekcí ciprofloxacinu nebo k cefalosporinům vyšších generací, a prevalence multirezistence u dvou třetin kmenů sérovaru Typhimurium a s výjimkou jednoho u všech kmenů jeho monofázické varianty 4,[5],12:i:-.

KLÍČOVÁ SLOVA

netyfové salmonely – sérovary – antibiotická rezistence

SUMMARY

Žemličková Helena, Dědičová Daniela, Jakubů Vladislav, Mach Jakub, Kolínská Renata, Malíková Eliška, Urbášková Pavla et al.: Antibiotic Resistance in Nontyphoidal salmonellae Serovars in the Czech Republic

Study aim: To determine antibiotic resistance and incidence of multidrug resistance among Nontyphoidal salmonellae serovars isolated from humans.

Material and methods: Consecutive *Salmonella* isolates from patients, recovered in 48 microbiology laboratories in May 2012, were analyzed in the respective reference laboratories at the National Institute of Public Health. Strains were re-identified and differentiated into serovars. Their minimum inhibitory concentrations (MICs) to 11 antibiotics were determined by the microdilution method.

Results: Of 25 serovars identified among 637 strains of *Salmonella enterica*, the most frequent were Enteritidis (87.0%), Typhimurium (4.9%), and monophasic Typhimurium 4,[5],12:i:- (2.0%) and Mbandaka (0.6%); other serovars were rare. Altogether 558 strains (87.6%) were susceptible to all antibiotics tested and the remaining 79 strains were resistant to one or more antibiotics.

The prevalence rates of resistance to individual antibiotics among 637 study strains were as follows: ampicillin 8.5%, tetracycline 5.7%, sulfamethoxazole 5.2%, ciprofloxacin 3.8%, and chloramphenicol 2.5%. Resistance to gentamicin, trimethoprim, and third and fourth generation cephalosporins was rare ($\leq 0.5\%$) and none of the study strains showed resistance to meropenem. Three producers of extended spectrum beta-lactamase were

multidrug resistant and two of them recovered from twins exhibited a different pattern of resistance.

Resistant strains were most often assigned to the following serovars: Enteritidis (49.4%), Typhimurium (26.6%), and monophasic Typhimurium (15.2%). While only 7% (39 of 554 strains) of Enteritidis strains were resistant, the serovars Typhimurium and its monophasic variant 4,[5],12:i:- showed high rates of resistance, i.e. 66.7 and 92.3%, respectively. Furthermore, resistance was revealed in all strains of the serovars Virchow (n = 3), Kentucky (n = 1), and Newport (n = 1), in two of three strains of the serovar Infantis, and in one of two strains of the serovar Stanley. All five blood isolates were assigned to the serovar Enteritidis and one of them showed resistance to ciprofloxacin. Of 79 resistant strains, 26.6% showed resistance to ampicillin only and 24.1% to ciprofloxacin only, with multidrug resistance, i.e. resistance to three or more antibiotics, confirmed in 43.0% of strains.

Conclusion: Despite a relatively low prevalence of resistance to the antibiotics tested among 637 study strains, the following alarming findings were made: Detection of *Salmonella enterica* strains resistant to ciprofloxacin as the drug of choice or to higher generation cephalosporins and multidrug resistance revealed in two thirds of the strains of the serovar Typhimurium and in all but one strains of its monophasic variant 4,[5],12:i:-.

KEYWORDS

nontyphoidal salmonellae – serovars – antibiotik rezistence

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 62, 2013, č. 2, s. 43–49

ÚVOD

Netyfové kmeny salmonel jsou v současné době druhou nejčastější příčinou bakteriálních gastroenteritid v zemích Evropské unie [1]. Nekomplikovaná onemocnění způsobená salmonelami jsou obvykle samoúzdavná a jejich léčba vyžaduje nejvýše podpůrná opatření sestávající z náhrady tekutin a odpočinku. Podání antibiotik v těchto případech naopak vylučování salmonel prodlužuje [2]. Sérovary netyfových salmonel jsou geneticky blízce příbuzné, některé z nich jsou však častěji spojeny se vznikem invazivních infekcí [3]. Léčba účinnými antibiotiky je nezbytná u pacientů se salmonelovou bakteriémií, meningitidou, infekcí kloubů, nebo i u gastroenteritid osob se základním oslabujícím onemocněním, dětí mladších dvou měsíců věku, v těhotenství a u starších pacientů [2].

Zdrojem infekcí jsou téměř výlučně nedostatečně tepelně upravené potraviny živočišného původu, kontaminované salmonelami při výrobě, zpracování, skladování nebo distribuci. Používání antibiotik v chovech zvířat primárně selektuje kmeny salmonel s antibiotickou rezistencí, jejichž frekvence výskytu je mnohonásobně vyšší než u lidí [1]. Jak ukázal první nález salmonel rezistentních ke kolistinu u 21 % prasat, jimž byl kolistin podáván v potravě [4], může být tento proces zisku rezistence velmi rychlý v důsledku vysoké mutační rychlosti, která je u kolistinu mnohonásobně vyšší než u jiných antibiotik [5]. Fluorochinolony jsou dokonce schopny selektovat salmonely s mnohočetnou antibiotickou rezistencí [6]. U kmenů salmonel, izolovaných od potravinových zvířat, byly prokázány geny rezistence ke všem antibiotikům používaným v humánní medicíně včetně plazmidy šířené rezistence k fluorochinolonům [7, 8, 9], cefalosporinům vyšších generací [9] a karbapenémům [10].

Z těchto důvodů je zapotřebí sledovat stav a trendy antibiotické rezistence k antibiotikům doporučovaným k léčbě salmonelových infekcí, zejména k cefalosporinům vyšších generací a fluorochinolonům [2], a také k dalším antibiotikům, významným z hlediska epidemiologie rezistence.

Naše předchozí studie, provedená v roce 2000, ukázala poměrně nízkou prevalenci antibiotické rezistence salmonel izolovaných od lidí [11]. Vzhledem k tomu, že rezistence salmonel se v čase může měnit, rozhodli jsme se zjistit:

1. celkovou prevalenci antibiotické rezistence salmonel izolovaných od lidí během jednoho měsíce roku 2012,
2. výskyt rezistence u jednotlivých sérovarů,
3. frekvenci výskytu multirezistentních kmenů.

MATERIÁL A METODY

Organizace studie. V první polovině roku 2012 byly vyzvány mikrobiologické laboratoře, sdružené v Pracovní skupině pro monitorování rezistence při Národní referenční laboratoři (NRL) pro antibiotika SZÚ Praha, aby se zúčastnily sběru kmenů salmonel, izolovaných v průběhu měsíce června.

Laboratoře. Sběru se zúčastnilo 48 mikrobiologických laboratoří. Do souboru byly zařazeny konsektivní kmeny salmonel, izolované při rutinním mikrobiologickém vyšetřování klinických vzorků pacientů. Opakované izoláty od jednoho pacienta byly vyřazeny. Laboratoře zaslaly kmeny a základní údaje o pacientech do SZÚ, kde v NRL pro salmonely byly kmeny podrobně identifikovány a v NRL pro antibiotika byla vyšetřena jejich citlivost.

Kmeny. Izoláty na transportních půdách byly okamžitě po doručení do NRL pro salmonely zpracovávány metodami běžně používanými v rámci klasifikace čeledi Enterobacteriaceae, včetně systému MALDI TOF - Biotyper. Z celkem 674 kmenů, zaslaných v rámci této studie zúčastněnými laboratořemi, bylo v NRL pro salmonely vyřazeno 37 kmenů (dva kmeny nevyrostly, 7 kmenů byly jiné druhy čeledi Enterobacteriaceae, a 28 kmenů byly opakované izoláty od jednoho pacienta). U konfirmovaných kmenů byl specifikován sérotyp. Sérologická diagnostika byla prováděna metodou sklíčkové aglutinace s komerčními hyperimunními králičími séry několika výrobců (SIFIN, BioRad, Denka Seiken a Reagensia). Zařazení k jednotlivým sérovarům bylo provedeno na základě antigenní formule podle Whitteova-Kauffmannova-Le Minoreova schématu [12]. Kmeny identifikované jako monofázická varianta Typhimurium (sérotyp S.4,[5],12:i:-) byly dotypovány rovněž pomocí PCR průkazu genů *fliB*-*fliA* a *fliJ*, které jsou specifické pro sérovar Typhimurium nebo kódují protein druhé bičíkové fáze.

Kmeny byly uchovávány na kryokonzervách a před vyšetřením antibiotické citlivosti vyočkovány na živný agar.

Vyšetření citlivosti. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) antibiotik byly vyšetřeny mikrodiluční metodou pro gramnegativní střevní tyčky [13]. Pro studii byly připraveny mikrotitrační destičky s 11 antibiotiky v Muellerově-Hintonové bujonu. Zdrojem většiny antibiotik byly tablety Mast, jen substance sulfamethoxazolu byla od firmy Merck. Rozmezí osmi koncentrací antibiotik řaděných dvojnásobně geometrickou řadou bylo následující: 8–0,063 mg/l pro cefotaxim, ceftazidim, cefepim, meropenem, gentamicin, trimethoprim, 32 – 0,25 mg/l pro ampicilin a tetracyklin,

64 – 0,5 mg/l pro chloramfenikol a 512 – 8 mg/l pro sulfamethoxazol. K přípravě testovacích destiček bylo použito rozplňovací zařízení Dynex pro přípravu mikrotitračních destiček s antibiotiky v 96 jamkách. Destičky s antibiotiky byly uchovány při -80 °C. K hodnocení a interpretaci výsledků podle klinických breakpointů antibiotik byla použita příslušná kritéria [14, 15]. Produkce širokospektré betalaktamázy byla vyšetřena podle doporučené diskové metody [16].

VÝSLEDKY

Soubor kmenů. V souboru 637 kmenů převažovaly kmeny ze stolice (98,9 %), 5 kmenů (0,8 %) pocházelo z krve, dalších 6 kmenů mimostřevního původu tvořily izoláty z moči, hnisu a výtěr z pochvy, u 13 kmenů nebyl původ udán. Všechny kmeny patřily k druhu *Salmonella enterica* a zahrnovaly celkem 25 sérovarů. Nejčastěji byl izolován sérovar Enteritidis, který tvořil 89,6 % kmenů souboru, následovaly sérovary Typhimurium (4,7 %),

Tabulka 1. Sérovary *Salmonella enterica* v souboru 637 kmenů salmonel, počet kmenů a počet rezistentních kmenů* jednotlivých sérovarů
Table 1. Serovars of *Salmonella enterica* among 637 study strains, numbers of strains and resistant strains* by serovar

<i>Salmonella enterica</i> sérovar	Počet kmenů/ počet rezistentních kmenů*	<i>Salmonella enterica</i> sérovar	Počet kmenů/ počet rezistentních kmenů*
Enteritidis	554/39	Mbandaka	4/0
Typhimurium	30/20	Derby, Mikawasima, Saintpaul	3/0
4,[5],12:i:-	13/12	Agona, Anecho, Bareilly, Lichtfield	2/0
Infantis	3/2		
Kentucky	1/1	4,12:d:-, 6,7:z10:-, Abony, Gatuni, Nchanga, Pomona, Senftenberg, Tennessee, SII58:lz13,lz28:z6	1/0
Newport	1/1		
Stanley	1/1		
Virchow	3/3		

*rezistentních k jednomu nebo k více vyšetřovaným antibiotikům
 *resistant to one or more antibiotics tested

Tabulka 2. Rozmezí minimálních inhibičních koncentrací (MIC) antibiotik, MIC₅₀ a MIC₉₀, klinické breakpointy antibiotik pro *Enterobacteriaceae* [14] a frekvence rezistence k jednotlivým antibiotikům (%) v souboru 637 salmonel

Table 2. Antibiotic minimum inhibitory concentration (MIC) ranges, MIC₅₀ and MIC₉₀, clinical breakpoints for antibiotics in *Enterobacteriaceae* [14] and rates of resistance to different antibiotics (%) among 637 *Salmonella* isolates

Antibiotikum	MIC - Minimální inhibiční koncentrace (mg/l)			Klinický breakpoint mg/l	Počet rezistentních kmenů* (%)
	rozmezí MIC	MIC ₅₀	MIC ₉₀		
Ampicilin	<= 0,25 - >32	1	2	≤ 8	8,48
Cefotaxim	<= 0,063 - > 8	0,125	0,125	≤ 1	0,47
Ceftazidim	<= 0,63 - >8	0,25	0,25	≤ 1	0,47
Cefepim	<= 0,63 - >8	<=0,063	<=0,063	≤ 1	0,47
Meropenem	<= 0,063 - <= 0,063	<=0,063	<=0,063	≤ 2	0,00
Gentamicin	<= 0,125 - 8	0,25	0,5	≤ 2	0,31
Ciprofloxacin	<= 0,032 - 4	<=0,032	<=0,032	≤ 0,063***	3,77
Trimethoprim	<= 0,125 - >8	0,125	0,25	≤ 2	0,31
Chloramfenikol	<=8 - > 256	4	4	≤ 8	2,51
Tetracyklin**	0,5 - > 32	1	1	≤ 4**	5,65
Sulfonamid**	<=8 - > 256	32	32	≤ 256**	5,18

MIC₅₀ – koncentrace antibiotika inhibující 50 % kmenů

MIC₉₀ – koncentrace antibiotika inhibující 90 % kmenů

* rezistentní kmen – MIC antibiotika je vyšší než klinický breakpoint

** breakpoint CLSI [15]

*** specifický breakpoint pro *Salmonella* spp. [14]

MIC₅₀: the antibiotic concentration required to inhibit the growth of 50% of strains

MIC₉₀: the antibiotic concentration required to inhibit the growth of 90% of strains.

* resistant strain: MIC is higher than the clinical breakpoint;

** CLSI breakpoint [15];

*** *Salmonella* species specific breakpoint [14].

Tabulka 3. Vzory rezistence u sérovarů *Salmonella enterica**
Table 3. Resistance patterns in *Salmonella enterica* serovars*

Vzor rezistence	<i>Salmonella enterica</i> sérovar	Počet kmenů	Počet skupin antibiotik*
AMP	Enteritidis	21	1
CHL	Enteritidis	1	
CIP	Enteritidis	15	
CIP	Stanley	1	
CIP	Virchow	3	
SMX, TCY	Typhimurium	1	2
AMP, TCY	Newport	1	
CIP, TMP	Enteritidis	2	
CIP, SMX, TCY	Infantis	2	3
AMP, SMX, TCY	Typhimurium	1	
AMP, SMX, TCY	4,[5],12:i:-***	12	
AMP, SMX, CHL, TCY	Typhimurium	14	4
AMP, CIP, SMX, CHL, TCY	Typhimurium	1	5
AMP, GEN, CIP, SMX, TCY	Kentucky	1	
AMP, CTX**, CAZ**, FEP**, TCY, ESBL	Typhimurium	2	3 + ESBL
AMP, CTX**, CAZ**, FEP**, SMX, TMP, TCY, ESBL	Typhimurium	1	5 + ESBL

* Počet kmenů a počet skupin antibiotik, ke kterým jsou kmeny rezistentní; rezistence ke třem skupinám antibiotik se označuje jako multirezistence.

** skupina cefalosporinů;

*** monofázická varianta sérovaru Typhimurium

Zkratky antibiotik: AMP – ampicilin; CAZ – ceftazidim; CIP – ciprofloxacín; CHL – chloramfenikol; CTX – cefotaxim; FEP – cefepim; GEN – gentamicin; SMX – sulfamethoxazol; TCY – tetracyklin; TMP – trimethoprim; ESBL – širokospektrá beta-laktamáza

* Number of strains, number of types of antibiotics to which the strains are resistant. Antibiotic to which the strains are resistant; resistance to three or more types of antibiotics is called multidrug resistance; ** cephalosporins; *** monophasic Typhimurium. Abbreviations: AMP – ampicillin; CAZ – ceftazidime; CIP – ciprofloxacin; CHL – chloramphenicol; CTX – cefotaxime; FEP – cefepime; GEN – gentamicin; SMX – sulfamethoxazole; TCY – tetracycline; TMP – trimethoprim; ESBL – extended spectrum beta-lactamase

jeho monofázická varianta 4,[5],12:i (2,0 %) a Mbandaka (0,6 %), ostatní sérovary se vyskytovaly v méně než v 0,6 %. Všechny pět izolátů z krve patřilo k sérovaru Enteritidis. Přehled sérovarů a počet kmenů jednotlivých sérovarů v souboru uvádí tabulka 1.

Rezistence k antibiotikům. Rozmezí MIC antibiotik a koncentrace inhibující 50 % a 90 % kmenů jsou uvedeny v tabulce 2. Hodnoty MIC₅₀ a MIC₉₀ jsou u osmi z jedenácti antibiotik identické, u ampicilinu, gentamicinu a trimethoprimu jsou hodnoty MIC₉₀ vyšší než MIC₅₀ jen o jeden stupeň ředění dvojnásobně geometrickou řadou. V tabulce 2 jsou dále uvedeny breakpointy antibiotik pro kategorizaci citlivosti EUCAST [14], které platí jako standard v zemích Evropské unie, a pro tetracyklin a sulfamethoxazol, které EUCAST neuvádí, jsou použita kritéria Clinical and Laboratory Institute, USA [15]. Kmeny, inhibované vyšší koncentrací antibiotika než je koncentrace udaná jako breakpoint pro citlivost, jsou rezistentní

(a zahrnují i kmeny s intermediární rezistencí). Celkem 558 kmenů (87,6 %) bylo citlivých ke všem vyšetřovaným antibiotikům. K ampicilinu bylo rezistentních nejvíce kmenů (8,5 %), k tetracyklinu 5,7 % kmenů, k sulfamethoxazolu (a tudíž ke skupině sulfonamidů) 5,2 %, k ciprofloxacínu (a k ostatním fluorochinolonům) 3,8 % a k chloramfenikolu 2,5 % kmenů. Žádný kmen nebyl rezistentní k meropenemu, počet kmenů rezistentních ke gentamicinu, k trimethoprimu, cefalosporinům 3. generace cefotaximu a ceftazidimu a cefalosporinu 4. generace cefepimu nepřesáhl 0,5 %. Čtyři z pěti kmenů izolovaných z krve byly citlivé ke všem vyšetřovaným antibiotikům, jeden kmen byl rezistentní k ciprofloxacínu (MIC 0,25 mg/l).

Rezistentní sérovary. Mezi 637 kmeny salmonel bylo 79 kmenů (12,4 %) rezistentních k jednomu nebo více z 11 vyšetřovaných antibiotik. Rezistentní kmeny patřily k osmi z celkového počtu 25 sérovarů. Názvy všech sérovarů zastoupených v sou-

boru a distribuce rezistentních kmenů u osmi sérovarů jsou v tabulce 1. Počet rezistentních kmenů v celkovém počtu kmenů jednotlivých sérovarů byl následující: 39 z 554 kmenů sérovaru Enteritidis (7 %), 20 z 30 kmenů (66,7 %) sérovaru Typhimurium a 12 ze 13 kmenů (92,3 %) monofázické varianty Typhimurium, dva ze tří kmenů sérovaru Infantis, jeden ze dvou kmenů sérovaru Stanley, jediný kmen sérovarů Kentucky a Newport a všechny tři kmeny sérovaru Virchow (viz tab. 2). Polovina rezistentních kmenů byla monorezistentní jen k ampicilinu (26,6 %), respektive jen k ciprofloxacinu (24,1 %), téměř všechny zbývající kmeny byly multirezistentní (43,0 %), to znamená rezistentní ke třem a více skupinám antibiotik (tab. 3). Tři kmeny, u nichž byla potvrzena produkce širokospektré betalaktamázy (ESBL), patřily k sérovaru Typhimurium a pocházely od dětí z jedné lokality. Producenti ESBL od ročního dítěte a jednoho z pětiletých dvojčat měli stejný vzor rezistence ke třem skupinám antibiotik, zatímco izolát od druhého z dvojčat byl rezistentní k pěti skupinám antibiotik (viz tab. 3). Tyto kmeny jsou dále analyzovány a výsledky budou zveřejněny v samostatné publikaci.

DISKUSE

Pro hodnocení výsledků je soubor 637 kmenů salmonel dostatečně reprezentativní, neboť představuje 67 % případů salmonelózy uvedených v databázi EPIDAT v měsíci červnu 2012 [17]. Počet izolátů z krve byl v našem souboru konsekutivních izolátů nízký (0,8 %), v podobných souborech kmenů se uvádí prevalence izolátů salmonel z krve zhruba 5 % [3], respektive 5,9 % [18].

Nejpočetnější v Evropě [1] i v USA [18] jsou sérovary Enteritidis a Typhimurium. Také v našich souborech kmenů z let 2000 [11] a 2012 byly tyto dva sérovary zastoupeny nečastěji. Sérovar Choleraesuis, který patří mezi nejvirulentnějšího původce invazivních infekcí [3], nebyl v našem souboru přítomen, všechny kmeny z krve patřily k sérovaru Enteritidis.

K vyšetření citlivosti k antibiotikům bylo použito stanovení hodnot minimálních inhibičních koncentrací (MIC). Výsledky získané touto metodou spolehlivě prokazují rezistentní fenotypy salmonel, neboť vysoce korelují s průkazem příslušných genů rezistence [19]. V našem souboru bylo 87,9 % kmenů plně citlivých ke všem vyšetřovaným antibiotikům. Podíl plně citlivých kmenů se ve světě liší, například v souboru téměř 20 000 humánních izolátů salmonel v USA bylo plně citlivých 70,3 % kmenů, a značné rozdíly jsou i v souborech

humánních i veterinárních kmenů mezi jednotlivými evropskými zeměmi [1]. Rozdíly vyplývají z odlišností v množství a spektru antibiotik používaných v různých zemích pro humánní a veterinární účely. Pro stanovení pozice jednotlivých antibiotik v dané zemi je proto nezbytné používat vlastní data.

Ciprofloxacin patří mezi léky volby salmonelových infekcí. Klinický breakpoint ciprofloxacinu pro citlivé kmeny *Salmonella spp.* ($\leq 0,063$ mg/l) je téměř 8krát nižší, než pro ostatní Enterobacteriaceae ($\leq 0,5$ mg/l). Klinické důkazy totiž potvrzují špatnou odpověď na ciprofloxacin u celkových infekcí způsobených kmeny salmonel i s nízkým stupněm fluorochinolonové rezistence (MIC 0,063–0,25 mg/l) [14]. V roce 2000 bylo rezistentních k ciprofloxacinu 0,78 % kmenů [11], a v roce 2012 (tato studie) jejich počet několikanásobně vzrostl (3,8 % kmenů), převážně se jednalo o kmeny s monorezistencí.

Za pozornost stojí výskyt tří kmenů sérovaru Typhimurium, rezistentních v důsledku produkce širokospektré betalaktamázy (ESBL) k cefalosporinům 3. a 4. generace cefotaximu a ceftazidimu, respektive cefepimu, a multirezistentních k dalším antibiotikům. V roce 2000 byly prokázány dva kmeny sérovaru Enteritidis a Typhimurium (z celkového počtu 2441 salmonel) rezistentní k cefalosporinům 3. generace, které ESBL neprodukovaly [11]. První výskyt dvou kmenů sérovaru Enteritidis produkujících ESBL u nás byl zaznamenán v roce 2003 [20] a stejně jako u kmenů z roku 2012 byly tyto kmeny v epidemiologické souvislosti, multirezistentní, avšak s rozdílnou rezistencí k jednotlivým antibiotikům. Tyto kmeny budou podrobněji analyzovány.

Podíl kmenů nejpočetnějšího sérovaru Enteritidis, rezistentních k jednomu nebo k více antibiotikům byl jen 7%. U sérovaru Typhimurium a jeho monofázické varianty převládala multirezistence u dvou třetin, respektive u všech kmenů. Tyto sérovary se Evropou šíří pandemicky a v posledních 10 letech se jejich prevalence markantně zvyšuje u salmonel z humánních infekcí i v mase prasat, která jsou pravděpodobným zdrojem infekce [21]. Kromě charakteristické rezistence ke starším antibiotikům lze u těchto sérovarů za zvlášť závažný pokládat výskyt rezistence k cefalosporinům a karbapenémům u kmenů z potravinových zvířat [1, 9, 10], neboť tato antibiotika jsou nepostradatelnými léky invazivních salmonelových infekcí u lidí. Strategie kontroly zahrnuje zlepšení hygieny a příslušných zdravotnických opatření, přípravu a pečlivé dodržování návodů pro uvážlivé používání antibiotik a zavedení příslušných bezpečnostních opatření ke snížení vzniku a šíření salmonel rezistentních k antibiotikům [21].

Literatura

1. European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control

The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in the European Union in 2010. *EFSA Journal*, 2012, 10, 3, p. 2598. [233 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2012.2598. Dostupné na www: www.efsa.europa.eu/efsajournal.

2. Miller, S. I., Pegues D. A. *Salmonella* species, including *Salmonella typhi*. In: Principles & Practice of Infect. Dis., Mandell, G., Douglas, G. & Bennett, J. (eds), Chapter 223, 7th ed. Churchill-Livingstone, 2009.

3. Jones, T. F., Ingram, L. A., Cieslak, P. R., Vugia, D. J., Tobin-D'Angelo, M. et al. Salmonellosis outcomes differ substantially by serotype. *J. Infect. Dis.*, 2008, 198, p. 109-114.

4. Morales, A. S., Fragoso de Araújo, J., de Moura Gomes, T. V., Costa, A.T. R., Rodrigue D. P. et al. Colistin resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* strains isolated from swine in Brazil. *Scientific World J.*, 2012, p. 109795. doi: 10.1100/2012/109795.

5. Sun, S., Negrea, A., Rhen, M., Andersson, D. I. Genetic analysis of colistin resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, 53, 6, p. 2298-2305.

6. Ricci, V., Piddock, L. Ciprofloxacin selects for multidrug resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium mediated by at least two different pathways. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2009, 63, 5, p. 909-916.

7. Angulo, F. J., Johnson, K. R., Tauxe, R. V., Cohen, M. L. Origins and consequences of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella*: Implications for the use of fluoroquinolones in food animals. *Microbial. Drug Resist.*, 2000, 6, 1, p. 77-83.

8. Veldman, K., Cavaco, L. M., Mevius, D., Battisti, A., Franco, A. et al. International collaborative study on the occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolated from animals, humans, food and the environment in 13 European countries. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2011, 66, 6, p. 1278-1286.

9. Dolejska, M., Villa, L., Hasman, H., Hansen, L., Caratolli, A. Characterization of IncN plasmids carrying *bla*_{CTX-M-1} and *qnr* genes in *Escherichia coli* and *Salmonella* from animals, the environment and humans. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2013, 68, 2, p. 333-339.

10. Fischer, J., Rodriguez, I., Schmogger, S., Friese, A., Roesler, U. et al. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* producing VIM-1 carbapenemase isolated from livestock farms. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2013, 68, 2, p. 478-480.

11. Urbášková, P., Dědičová D., Žemličková H., Wünschová M., Jakubů V., Karpíšková R., Petráš P. a pracovníci 85 mikrobiologických laboratoří ČR Stav citlivosti k antibiotikům u *Salmonella* spp. v České republice. *Zprávy CEM*, 2001, 10, 2, p. 70-73.

12. Grimont, P. A. D., Weil, F. X. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. WHO Collaborating Centre for reference and research on *Salmonella*, 9th ed., 2007.

13. Urbášková, P. Rezistence bakterií k antibiotikům. Vybrané metody. Trios 1998.

14. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 3.0, 2013. Dostupné na www: <http://www.eucast.org/>

15. Clinical and Laboratory Standards Institute Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty two informational supplement. CLSI Document M100-S22. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, Pa, 2012.

16. Hrabák, J., Žemličková, H., Bergerová, T., Urbášková, P. Interpretace výsledků vyšetření citlivosti enterobakterií u producentů širokospektrých β-laktamáz (ESBL), β-laktamáz AmpC a karbapenemáz. *Zprávy CEM*, 2010, 19, 6-7, p. 194-196.

17. Výskyt vybraných hlášených infekcí v České republice. *Zprávy CEM*, 2012, 21, 6-7, p. 220.

18. Crump, J. A., Medalla, F. M., Joyce, K. W., Krueger, A. L., Hoekstra, R. M. et al. Antimicrobial resistance among invasive nontyphoidal *Salmonella enterica* isolates in the United States: National antimicrobial resistance monitoring system, 1996 to 2007. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2011, 55, 3, p. 1148-1154.

19. Anjum, M. F., Choudhary, S., Morrison, V., Snow, L. C., Mafura, M. et al. Identifying antimicrobial resistance genes of human clinical relevance within *Salmonella* isolated from food animals in Great Britain. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2011, 66, p. 229-550.

20. Urbášková, P., Macková, B. První dva humánní izoláty *Salmonella* Enteritidis produkující ESBL v ČR. *Zprávy CEM*, 2003, 12, 8, p. 335-336.

21. Hopkins, K. L., Kirchner, M., Guerra, B., Granier, S. A., Lucarelli, C., Porrero, M. C., Jakubczak, A., Threlfall, E. J., Mevius, D. J. Multiresistant *Salmonella enterica* serovar 4,[5],12:i: in Europe: a new pandemic strain? *Euro Surveill.*, 2010, 15, 22, p. 19580. Dostupné na www: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19580>

Do redakce došlo dne 5. 2. 2013.

Adresa pro korespondenci:

RNDr. Pavla Urbášková, CSc.

Státní zdravotní ústav

Šrobárova 48

100 42 Praha 10

e-mail: purbaskova@szu.cz