

## Występowanie pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* wytwarzających $\beta$ -laktamazy (ES $\beta$ L i AmpC) izolowanych z zakażeń na terenie Instytutu Reumatologii w latach 2006–2008

*Appearance of bacilli belonging to Enterobacteriaceae family producing  $\beta$ -lactamases (ES $\beta$ L and AmpC) isolated from infections on the grounds of the Institute of Rheumatology in years 2006-2008*

Jacek Noworyta, Jolanta Gago, Jakub Ząbek

Zakład Mikrobiologii i Serologii Instytutu Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher w Warszawie, kierownik Zakładu doc. dr hab. biol. Jakub Ząbek, dyrektor Instytutu prof. dr hab. med. Sławomir Maśliński

**Słowa kluczowe:**  $\beta$ -laktamazy, wielolekooporność.

**Key words:**  $\beta$ -lactamases, multidrug-resistance.

### Streszczenie

Dokonano badań na 494 szczepach pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* (w tym 77% – *Escherichia coli*), izolowanych z zakażeń (głównie układu moczowego i ran/ropni) pacjentów hospitalizowanych w 4 klinikach Instytutu Reumatologii w latach 2006–2008. Za pomocą metod rekomendowanych przez Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekooporności Drobnoustrojów poszukiwano w nich szczepów produkujących enzymy:  $\beta$ -laktamazy, kodowane plazmidowo (ES $\beta$ L) i chromosomalnie (AmpC), rozkładające hydrolytycznie większość antybiotyków  $\beta$ -laktamowych, szeroko stosowanych w terapii empirycznej i celowanej. Analiza uzyskanych wyników wykazała:

- dużą różnorodność (11 spośród 20 izolowanych gatunków *Enterobacteriaceae*) gatunków produkujących te enzymy, aczkolwiek przeważnie niski ich odsetek (5,6% – ES $\beta$ L, 1,4% – AmpC),
- wykrywane enzymy w ok. 16% doprowadzały do wielolekooporności ogólnie badanych drobnoustrojów, ale w przypadku niektórych (*Proteus* sp., *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp.) prawdopodobnie były decydującym czynnikiem sprawczym tej lekooporności,
- poszczególne kliniki/oddziały różniły się odsetkiem badanych pałeczek *Enterobacteriaceae* produkujących te enzymy, co miało znaczenie epidemiologiczne i prognostyczne,
- śledzenie występowania szczepów produkujących ww.  $\beta$ -laktamazy odgrywa ogromną rolę w ukierunkowywaniu terapii

### Summary

Studies have been done on 494 strains of bacilli belonging to the family *Enterobacteriaceae* (including 77% *Escherichia coli*) isolated from patients with infections (mainly urinary tract and wounds/abscesses) hospitalized in four clinics of the Institute of Rheumatology in years 2006-2008. The aim of the research was to use methodology recommended by the National Reference Centre for Drug Resistance to find strains producing  $\beta$ -lactamase enzymes, plasmid-encoded (ES $\beta$ L) and chromosomally encoded (AmpC), hydrolyzing (or splitting hydrolytically) most  $\beta$ -lactamase antibiotics, widely applied in experimental and targeted therapy.

Analysis of the results:

- great diversity (11 of 20 isolated species of *Enterobacteriaceae* family) of species producing above-mentioned enzymes, but generally low frequency (range 5.6% – ES $\beta$ L and 1.4% – AmpC) in whole tested group,
- indicated enzymes in about 16% lead to multi-drug resistance (MLDR) of tested bacteria, but in some (*Proteus* sp., *Enterobacter* sp., and *Klebsiella* sp.) it was probably a decisive causative factor of MLDR,
- investigations of appearance of strains producing the above-mentioned  $\beta$ -lactamases play an important role in setting the direction of therapy of infections with *Enterobacteriaceae* suspected aetiology, because discovery of these enzymes is chang-

### Adres do korespondencji:

dr biol. Jacek Noworyta, Zakład Mikrobiologii i Serologii Instytutu Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher w Warszawie, ul. Spartańska 1, 02-637 Warszawa, tel. +48 22 844 30 67

Praca wpłynęła: 10.12.2009 r.

zakażeń o etiologii *Enterobacteriaceae*, wykrycie tych enzymów zmienia bowiem diametralnie kliniczną interpretację oporności na  $\beta$ -laktamy, niezależnie od wyników uzyskanych w badaniach *in vitro*.

W ostatnich latach obserwuje się gwałtowny wzrost lekooporności drobnoustrojów szpitalnych [1]. Wynika to z wielu przyczyn [2], z których najważniejsze stanowią:

- hospitalizacja bardzo ciężko chorych pacjentów z poważnymi zaburzeniami odporności,
- stosowanie inwazyjnych zabiegów i wydłużony czas hospitalizacji,
- bardzo duże zużycie antybiotyków, w tym o szerokim zakresie działania [3],
- nadmierna profilaktyka antybiotykowa, a wręcz niewłaściwe i niepotrzebne leczenie antybiotykami.

Głównym mechanizmem oporności pałeczek Gram-ujemnych (w tym pałeczek jelitowych z rodziny *Enterobacteriaceae*) na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe (najczęściej stosowane w praktyce) jest wytwarzanie enzymów, tzw.  $\beta$ -laktamaz, które rozkładają te antybiotyki, hydrolizując pierścień  $\beta$ -laktamowy [4]. Do połączenia cząsteczki antybiotyku z enzymem dochodzi w przestrzeni okołoplazmatycznej komórki bakteryjnej, rezultatem czego jest hydroliza; po rozerwaniu wiązania amidowego powstaje forma nieaktywna antybiotyku. Szczepy odporne na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe w tym mechanizmie są szczególnie niebezpieczne, ponieważ wiele z nich wykazuje równoczesną oporność na kilka różnych chemicznie grup antybiotyków, a nierzadko niemal na wszystkie dostępne leki [5, 6].

Opisano wiele typów enzymów  $\beta$ -laktamaz, ale najczęściej problemów terapeutycznych stwarzają:

- enzymy o rozszerzonym spektrum substratowym, tzw. ES $\beta$ L (*extended spectrum  $\beta$ -lactamases*), doprowadzające pałeczki Gram-ujemne do oporności na wszystkie penicyliny (bez połączeń z inhibitorami), cefalosporyny (z wyjątkiem cefamycyn, np. cefoksytyny i połączeń z inhibitorami) oraz monobaktamy, np. aztreonam [6–13]; są one przenoszone przez plazmidy,
- $\beta$ -laktamazy (cefalosporynazy) typu AmpC, rozkładające wszystkie penicyliny i cefalosporyny, z wyjątkiem cefepimu (IV generacja); nie rozkładają też karbapenemów; enzymy te kodowane są chromosomalnie [7, 14],
- metalo- $\beta$ -laktamazy (MBL – wykorzystujące jony Zn<sup>2+</sup> jako kofaktory reakcji hydrolizy  $\beta$ -laktamów); rozkładają one wszystkie penicyliny, cefalosporyny

i karbapenemy, stąd ich wykrywanie dotyczy zwłaszcza drobnoustrojów opornych na karbapenemy, tj. najczęściej pałeczek Gram-ujemnych niefermentujących, coraz częściej opornych na te antybiotyki [7, 15].

- in particular clinics the frequencies of isolated microbes belonging to the *Enterobacteriaceae* family producing these enzymes differ, and this has epidemiological and prognostic importance.

Wymienione enzymy są więc istotnym czynnikiem doprowadzającym do wielolekooporności, zwłaszcza że drobnoustroje wytwarzające je często wykazują oporność krzyżową na inne grupy chemiczne antybiotyków, np. aminoglikozydy, fluorochinolony, tetracykliny i chemioterapeutyk – kotrimoksazol [7].

Celem pracy była ocena częstości występowania na terenie Instytutu Reumatologii drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae*, izolowanych z zakażeń w latach 2006–2008, które wytwarzały  $\beta$ -laktamazy ES $\beta$ L oraz typu AmpC. Takie szczepy bakteryjne są niezwykle groźne dla pacjenta i środowiska szpitalnego z uwagi na ograniczone możliwości terapeutyczne oraz trudności w eradykacji.

## Materiał i metody

Badane pałeczki Gram-ujemne z rodziny *Enterobacteriaceae* pochodziły z różnego rodzaju zakażeń, które stwierdzono wśród pacjentów hospitalizowanych w Instytucie Reumatologii w latach 2006–2008.

Liczba izolowanych drobnoustrojów z poszczególnych klinik kształtowała się następująco:

Klinika Reumatologii Wieku Rozwojowego (KRWR):	26 szczepów	
Klinika Układowych Chorób Tkanki Łącznej (KChTŁ):		
odcinek A:	40 szczepów	} razem: 219
odcinek B/C:	179 szczepów	
Klinika Reumatologii (KR):	85 szczepów	
Klinika Reumoortopedii (KRO):	164 szczepy	
RAZEM:	494 szczepy	

Łącznie badaniom na wytwarzanie  $\beta$ -laktamaz typu ES $\beta$ L i AmpC poddano 494 szczepy, spośród których zdecydowanie dominowały szczepy pałeczki *Escherichia coli* (77,5% – 383 szczepy). Izolowane szczepy były bardzo różnorodne i kolejno przedstawiały się następująco: *Proteus mirabilis* – 31 szczepów, *Klebsiella*

*pneumoniae* – 18, *Enterobacter cloacae* – 17, *Salmonella enteritidis* – 8, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens* – po 5, *Morganella morganii*, *Pantonea agglomerans* – po 4, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *C. koseri*, *Hafnia alvei* – po 2, *Proteus rettgeri*, *Enterobacter sakazaki*, *Escherichia fergusonii*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Providencia stuartii* i *Edwardsiella tarda* – po 1 szczepie.

Oprócz rodzaju *Escherichia*, dominowały kolejno: *Proteus* sp. – 37, *Enterobacter* sp. – 23, *Klebsiella* sp. – 20 szczepów.

Wytwarzanie ESβL przez dany szczep wykrywano zgodnie z zaleceniami Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lkooporności Drobnoustrojów (KORDL). Stosowano tzw. test dwóch krążków [7], wykrywający enzymy ESβL u wszystkich gatunków *Enterobacteriaceae*. W metodzie tej używa się krążków z ceftazydymem 30 μg i cefotaksymem 30 μg ułożonych w odległości 2 cm (pomiędzy środkami) od krążka z amoksylicyną z kwasem klawulonowym 20/10 μg (inhibitor). Jakiegokolwiek zahamowanie wzrostu w strefach, do których dyfundował klawulanian, świadczyło o produkcji ESβL.

W niektórych przypadkach, zwłaszcza o cięższym charakterze, zakażeń o etiologii *E. coli*, *Klebsiella* sp. i *Proteus mirabilis* stosowano test przeglądowy wstępny (z cefpodoksymem 10 μg lub ceftazydymem 30 μg, aztreonamem 30 μg, cefotaksymem 30 μg, ceftriaksonem 30 μg), który potwierdzany był krążkami z ceftazydymem 30 μg i ceftazydymem z kwasem klawulonowym 30/10 μg [7]. Jeśli szczep wytwarza ESβL, to średnica strefy zahamowania wokół krążka zawierającego ceftazydym z kwasem klawulonowym jest większa o ≥ 5 mm od średnicy strefy zahamowania wokół krążka z samym ceftazydymem.

Obecność β-laktamaz typu AmpC stwierdzano za pomocą krążków z ceftazydymem 30 μg i imipenemem (oddalonych o 2 cm od środka). Ponieważ ten typ enzymu rozkłada ceftazydym, a nie działa na imipenem (karbapenem), będący również induktorem tej β-laktamazy, to w przypadku wytwarzania przez dany szczep bakteryjny AmpC od strony krążka z imipenemem pojawiała się zwiększona strefa zahamowania wzrostu badanego drobnoustroju.

## Wyniki

Na dość bogatym materiale, liczącym 494 szczepy drobnoustrojów Gram-ujemnych z rodziny *Enterobacteriaceae*, izolowanych w latach 2006–2008 z zakażeń (głównie dróg moczowych oraz zdecydowanie rzadziej z ran/ropni i innego materiału) pacjentów hospitalizowanych w 4 klinikach Instytutu Reumatologii, zbadano wytwarzanie β-laktamaz typu ESβL i AmpC.

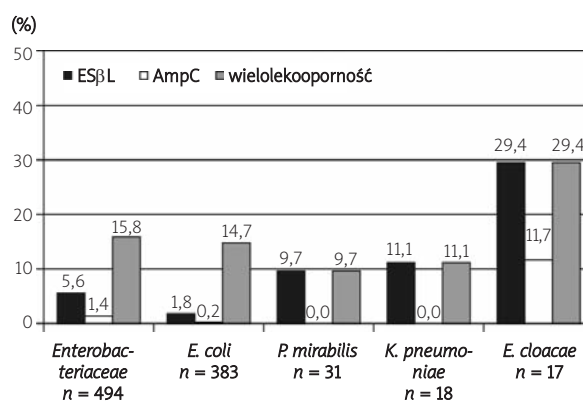
Na rycinie 1 przedstawiono odsetek szczepów wytwarzających β-laktamazy przez wszystkie badane drobnoustroje oraz przez najliczniej reprezentowane gatunki z rodziny *Enterobacteriaceae*, jak również odsetek drobnoustrojów wielolekoopornych, tj. opornych co najmniej na 3 grupy chemiczne antybiotyków (chemioterapeutyków).

Analiza wykazała, że spośród wszystkich badanych szczepów zaledwie 5,6% wytwarzało ESβL i 1,4% β-laktamazę typu AmpC, ale już 15,8% wykazywało wielolekooporność. Biorąc pod uwagę najliczniej reprezentowane gatunki, dosyć istotnie odróżniał się od pozostałych *Enterobacter cloacae*, którego ok. 30% szczepów wytwarzało ESβL, a ok. 12% AmpC. Wysoki był również wśród nich (ok. 30%) odsetek wielolekooporności, która – jak widać – całkowicie wynikała z wytwarzania enzymu ESβL i/lub częściowo AmpC.

Analizując pozostałe gatunki pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*, okazało się, że dodatkowo wykazano wytwarzanie ESβL przez 7 gatunków, tj. u 2 spośród 4 *P. agglomerans*, 2/4 *M. morganii*, 2/5 *E. aerogenes*, 2/5 *S. marcescens* oraz 1/2 – *K. oxytoca*, *C. freundii*, *H. alvei*. U pozostałych badanych szczepów, tj. 9 gatunków *Enterobacteriaceae*, nie stwierdzono wytwarzania ESβL.

Zdecydowanie rzadziej wykrywano enzym typu AmpC, bo oprócz *E. cloacae* i *E. coli* (ryc. 1) stwierdzono jego obecność u 3/4 *M. morganii* i 1/2 *S. marcescens*.

Spośród badanych 20 gatunków rodziny *Enterobacteriaceae* (patrz „Materiał i metody”), oprócz 4 przedstawionych na rycinie 1 – dalszych 9 wykazywało wie-



**Ryc. 1.** Odsetek pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz wybranych gatunków (najliczniej reprezentowanych) wytwarzających β-laktamazy ESβL i AmpC oraz wykazujących wielolekooporność.

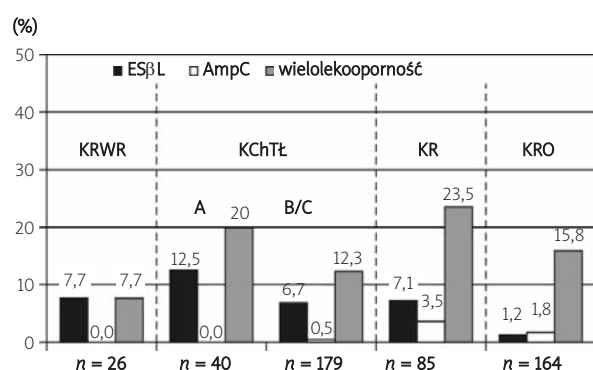
**Fig. 1.** Frequencies of bacilli belonging to *Enterobacteriaceae* family and selected species (most representative) producing β-lactamases type ESβL and AmpC showing multidrugresistancy.

lolekooporność, co dość wyraźnie świadczyło, że na taki stan nie wpływało jedynie wytwarzanie hydrolitycznych  $\beta$ -laktamaz. Do tych gatunków zaliczały się: *E. aerogenes* (2/5), *S. marcescens* (2/5), *P. agglomerans* (2/4), *M. morgani* (1/4), *K. oxytoca* (1/2), *C. freundii* (1/2), *H. alvei* (1/2), *P. rettgeri* (1/1), *E. tarda* (1/1).

Interesujące wyniki dała analiza występowania szczepów wytwarzających oba enzymy i wielolekoopornych w poszczególnych klinikach/oddziałach Instytutu Reumatologii (ryc. 2). Okazało się, że drobnoustroje ES $\beta$ L(+) najliczniej procentowo występowały na Oddziale A KChTł (12,5%), a zdecydowanie najrzadziej w KRO (1,2%). Z kolei szczepy AmpC(+) przede wszystkim, i to nielicznie, izolowane były w KR (3,5%) oraz w KRO (1,8%). Drobnoustroje wielolekooporne w dosyć wysokim odsetku występowały w badanym okresie w KR (23,5%) i na Oddziale A KChTł (20%), najrzadziej zaś w KRWR (7,7%) (ryc. 2).

Zakładając, że wytwarzanie enzymów ES $\beta$ L i AmpC doprowadza do całkowitej oporności na większość antybiotyków  $\beta$ -laktamowych i predysponuje do krzyżowej oporności na inne grupy chemiczne chemioterapeutyków, dokonano analizy oceny procentowej ewentualnego udziału tych enzymów w powstawaniu wielolekooporności badanych szczepów bakteryjnych.

W tabeli I przedstawiono wyniki tej analizy, zwracając uwagę na znaczne różnice dotyczące procentowego udziału obu tych enzymów w indukcji wielolekooporności wśród ogółu badanych pałeczek *Enterobacteriaceae* (44,3%), poszczególnych wybranych ich gatunków (zaledwie 13,6% w przypadku *E. coli*, a 100% – *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* i *E. cloacae*).



**Ryc. 2.** Występowanie w poszczególnych klinikach (oddziałach) pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* produkujących ES $\beta$ L, AmpC i wielolekoopornych

**Fig. 2.** Appearance of bacilli belonging to *Enterobacteriaceae* family and producing ES $\beta$ L and AmpC in particular clinics

Różnice te zaznaczyły się również w procentowym udziale badanych enzymów w indukcji wielolekooporności wśród ogółu izolowanych pałeczek *Enterobacteriaceae* w poszczególnych klinikach, np. zaledwie 19% w KRO i ok. 60% w pozostałych analizowanych klinikach/oddziałach. Ta różnorodność sugerować może pewne prognostyczne znaczenie dokonanej analizy.

## Dyskusja

Praca miała na celu zwrócić uwagę klinicystów na rozmiar występowania szczepów bakteryjnych z rodziny *Enterobacteriaceae*, izolowanych z różnych zakażeń, produkujących  $\beta$ -laktamazy, odpowiadające za powstawanie oporności na liczne antybiotyki  $\beta$ -laktamowe i na drodze krzyżowych oporności – za indukcję niezwykle groźnej dla pacjenta i środowiska wielolekooporności. Wydawało się, że wzięta pod uwagę placówka medyczna – Instytut Reumatologii, w której są przeważnie hospitalizowani pacjenci o stosunkowo nielicznych czynnikach ryzyka zakażeń bakteryjnych (poza KChTł i typowo zabiegowej KRO), będzie odbiegać od innych placówek „bogatej” w pacjentów zdecydowanie częściej narażonych na zakażenia o etiologii

**Tabela I.** Udział procentowy wytwarzanych  $\beta$ -laktamaz (ES $\beta$ L + AmpC) w powstawaniu wielolekooporności

**Table I.** Contribution (%) of particular produced  $\beta$ -lactamases (ES $\beta$ L and AmpC) in generation of multidrugresistancy

Drobnoustroje wielolekooporne	Procentowy udział ES $\beta$ L + AmpC w indukcji wielolekooporności
<i>Enterobacteriaceae</i> (wszystkie izolowane w latach 2006–2008)	44,3
<i>Escherichia coli</i>	13,6
<i>Proteus mirabilis</i>	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	100
<i>Enterobacteriaceae</i> (KRWR)	100
<i>Enterobacteriaceae</i> (KChTł – A)	60
<i>Enterobacteriaceae</i> (KChTł – B/C)	56,7
<i>Enterobacteriaceae</i> (KR)	45,1
<i>Enterobacteriaceae</i> (KRO)	19

drobnoustrojów wielolekoopornych i produkujących groźne  $\beta$ -laktamazy.

Wykrycie takich szczepów powinno skłaniać do zwrócenia szczególnej uwagi na odpowiednie postępowanie epidemiologiczne i zwiększony reżim sanitarny, biorąc pod uwagę także fakt, że szczepy te sprawiają czasami ogromne kłopoty zarówno w terapii zakażeń, jak i eradykacji ze środowiska szpitalnego.

Ze względu na praktyczny cel pracy, która skupia uwagę na jednym z podstawowych mechanizmów powstawania i szerzenia się oporności na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe wśród istotnej w wywoływaniu zakażeń grupy drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae* – autorzy odsyłają czytelników zainteresowanych szczegółowymi informacjami np. dotyczącymi podziału  $\beta$ -laktamaz, ich powinowactwa z innymi mechanizmami doprowadzającymi do oporności itp. – do lektury obszernego piśmiennictwa [4, 6, 15]. Niewątpliwie z podstawowych informacji należy podkreślić, że wykrywane w przedstawionej pracy oba typy  $\beta$ -laktamaz ogólnie niewiele się różnią.

Chronologicznie [5] uważało się, że najczęstszą przyczyną oporności pałeczek *Enterobacteriaceae* na cefalosporyny, zwłaszcza III generacji, jest nadprodukcja kodowanych chromosomalnie  $\beta$ -laktamaz AmpC (klasy C lub grupy 1 wg różnych klasyfikacji). Opisano początkowo ich produkcję przez *E. cloacae*, *C. freundii*, *S. marcescens*, a następnie *P. aeruginosa*. Z kolei od 1980 r. stwierdzano oporność na cefalosporyny III generacji głównie u *K. pneumoniae*, *E. coli* i *P. mirabilis*. Oporność ta była przenoszona na plazmidach kodujących ES $\beta$ L [4, 13, 18]. Enzymy ES $\beta$ L wywodzą się od tzw. klasycznych  $\beta$ -laktamaz typu TEM i SHV i powstają w wyniku punktowej mutacji podstawowych aminokwasów ww. enzymów (TEM, SHV). W odróżnieniu od AmpC –  $\beta$ -laktamazy ES $\beta$ L hamowane są przez inhibitory  $\beta$ -laktamaz, np. kwas klawulanowy, sulbaktam i tazobaktam – i ta cecha wykorzystywana jest w trakcie ich wykrywania [5, 7].

Stwierdzono, że plazmidy kodujące ES $\beta$ L mogą również nosić geny oporności na aminoglikozydy i trimetoprim/sulfametoksazol, a ich chromosomalna oporność dotyczyła fluorochinolonów. Przeniesienie plazmidowe i oporność chromosomalna mogą zatem doprowadzać do horyzontalnego rozprzestrzeniania się szczepów wielolekoopornych na inne gatunki i odrębne grupy drobnoustrojów [5, 7], a także między pacjentami.

Należy podkreślić, że w wielu badaniach *in vitro* (oznaczanie wrażliwości antybiogramowej) stwierdzać można wrażliwość na  $\beta$ -laktamy, ale w przypadku wykrycia produkcji ES $\beta$ L przez dany drobnoustrój należy go z definicji traktować jako oporny na wszyst-

kie penicyliny (bez połączeń z inhibitorami), cefalosporyny (z wyjątkiem cefamycyn i połączeń z inhibitorami) i monobaktamy (aztreonam). Enzymy te nie rozkładają karbapenemów, co jest zjawiskiem korzystnym z uwagi na ich traktowanie jako leków ostatniej szansy. Wymagane jest zatem rutynowe oznaczanie wytwarzania ES $\beta$ L u wszystkich pałeczek *Enterobacteriaceae*, których wykrycie diametralnie zmienia interpretację kliniczną określonego antybiogramu, do jakiej zobowiązany jest mikrobiolog wydający wynik. W takim przypadku skuteczność terapii  $\beta$ -laktamami jest ograniczona dodatkowo z uwagi na występującą krzyżową oporność na fluorochinolony, aminoglikozydy i trimetoprim/sulfametoksazol. Pozostaje niewiele opcji terapeutycznych, stąd niejednokrotnie występuje sytuacja zagrożenia życia pacjenta. Dlatego tak bardzo istotne dla właściwej terapii jest dokładne wykrywanie ES $\beta$ L *in vitro* [16, 17].

Szczepy produkujące ES $\beta$ L i AmpC są selekcjonowane od wielu lat w wyniku nadmiernego stosowania cefalosporyn o szerokim spektrum, np. ceftazydymu. Znajdywane są głównie wśród patogenów szpitalnych, zwłaszcza w środowisku oddziałów intensywnej terapii, onkologicznych, oparzeniowych, noworodkowych itp., a więc u pacjentów o obniżonej oporności i specjalnych czynnikach ryzyka. W Instytucie Reumatologii tacy pacjenci są hospitalizowani głównie w KChTŁ i KRO. Ale u pacjentów KRO dokonuje się, jak również dokonywało się w okresie niniejszych badań (2006–2008), posiewów przede wszystkim moczu (przed zabiegami) i częsta izolacja pałeczek *E. coli* ze stanów bezobjawowych zakażeń dróg moczowych wpływała na obniżenie ogólnego odsetka ES $\beta$ L i AmpC (ryc. 2). Szczepy takie należały bowiem do kolonizujących pacjenta, a nie szpitalnych, które zwykle są bardziej odporne na antybiotyki. Inaczej przedstawiała się sprawa dotycząca innych klinik (np. KChTŁ i KR), których pacjenci częściej byli narażeni na zakażenia ciężkie, a zwłaszcza z powikłaniami w obrębie różnych układów i infekcjami tkanek miękkich (głównie w przypadku tocznia rumieniowatego układowego i reumatoidalnego zapalenia stawów). W tych przypadkach izolowano częściej inne niż *E. coli* gatunki *Enterobacteriaceae*, znacznie oporniejsze na antybiotyki.

W piśmiennictwie krajowym [2, 12, 13] i światowym [9, 10] podkreśla się możliwość izolacji szczepów ES $\beta$ L i AmpC, zwłaszcza wśród *E. coli* i *K. pneumoniae*, ale w obecnych badaniach (patrz „Wyniki”) asortyment gatunków z rodziny *Enterobacteriaceae*, produkujących te enzymy, był znacznie szerszy i kazał zwracać uwagę Zespołu ds. Kontroli Zakażeń Szpitalnych na ewentualne potencjalne zagrożenie pojawienia się szczepów epidemicznych, a wręcz endemicznych.

## Wnioski

1. Wykazano dużą różnorodność (11 spośród 20 izolowanych gatunków *Enterobacteriaceae*) szczepów produkujących  $\beta$ -laktamazy ES $\beta$ L i AmpC, ale ogólnie ich niski odsetek (oprócz *Enterobacter* sp.), co jest zjawiskiem korzystnym z punktu widzenia terapii pacjentów i eradykacji ze środowiska klinik. Ich dość częsta wielolekooporność (ok. 16%) dotyczyła głównie innych grup antybiotyków niż  $\beta$ -laktamy. Na taki stan wpływały niskie odsetki izolatów *E. coli* ES $\beta$ L(+) i AmpC(+) – gatunku zdecydowanie najczęściej hodowanego (w ok. 80% zakażeń objawowych i bezobjawowych). Niemniej w przypadku stosunkowo często izolowanych *Proteus* sp., *Enterobacter* sp. i *Klebsiella* sp. można było domniemywać nawet 100-procentową indukcję wielolekooporności przez produkowane  $\beta$ -laktamazy kodowane plazmidowo i chromosomalnie.
2. Szczegółowa analiza występujących szczepów pałeczek *Enterobacteriaceae* ES $\beta$ L(+) i AmpC(+) i wielolekoopornych na terenie poszczególnych klinik/oddziałów Instytutu Reumatologii wykazała różnice wynikające z populacji hospitalizowanych pacjentów, ich predyspozycji do zakażeń o etiologii bardziej lub mniej lekoopornych drobnoustrojów. Stanowiło to czynnik prognostyczny i miało istotne znaczenie epidemiologiczne z uwagi na zagrożenie pacjentów i środowiska szpitalnego.
3. Śledzenie występowania szczepów pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* produkujących  $\beta$ -laktamazy wymaga niezwyklej precyzji i doświadczenia, ale ma ogromne znaczenie w ukierunkowywaniu terapii zakażeń wywoływanych przez te drobnoustroje. Wykrycie tych enzymów zmienia bowiem diametralnie kliniczną interpretację oporności na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe, niezależnie od wyników uzyskanych w badaniach.

## Piśmiennictwo

1. Babini GS, Livermore DM. Antimicrobial resistance amongst *Klebsiella* spp. collected from intensive care units in Southern and Western Europe in 1997-1998. *J Antimicrob* 2000; 45: 183-189.
2. Hryniewicz W. Lekooporność – czy mamy szansę wygrać z drobnoustrojem? *Nowa Klinika* 2004; 7: 704-707.
3. Sulikowska A. Konsumpcja antybiotyków a narastanie oporności bakteryjnej. *Nowa Medycyna. Medycyna Zakażeń* 1999; 9: 32-34.
4. Dzierżanowska D. *Antybiotykoterapia praktyczna*.  $\alpha$ -medica Press, Bielsko-Biała 2005; 18-28.
5. Geiss HK, Mack D, Seifen H. Konsensus dotyczący identyfikacji specjalnych mechanizmów oporności i interpretacji wyników badania antybiotykowrażliwości bakterii Gram(+) i Gram(-) (cz. II). *Zakażenia* 2005; 4: 93-99.
6. Gramarellou H. Multidrug resistance in Gram-negative bacteria that produce extended-spectrum-lactamases (ESBLs). *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: (suppl. 4), 1-16.
7. Hryniewicz W, Sulikowska A, Szczypa K. Rekomendacje doboru testów do oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki. *Post Mikrobiol* 2005; 44: 175-192.
8. Stürenburg E, Mack D. Extended-spectrum beta-lactamases: Implication for the clinical microbiology laboratory, therapy and infection control. *J Infect* 2003; 47: 273-95.
9. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21<sup>st</sup> century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 933-951.
10. Kim YK. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamases-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1481-1491.
11. Paterson DL. 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.
12. Pszenna M, Rokosz A, Łuczak M. Występowanie Gram(-) pałeczek wytwarzających  $\beta$ -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) w zakażeniach pacjentów szpitala SP ZOZ w Nidzicy. *Zakażenia* 2006; 2: 43-46.
13. Gniatkowski M.  $\beta$ -laktamazy u pałeczek Gram(-). *Nowa Med (Bakteriol)* 1997; 4: 20-26.
14. Laudy AE. Karbapenemazy – enzymy mogące hydrolizować szerokie spektrum  $\beta$ -laktamów. *Zakażenia* 2003; 4: 32-38.
15. Helfand MS, Bonomo RA. Current challenges in antimicrobial chemotherapy: the impact of extended-spectrum- $\beta$ -lactamases and metallo- $\beta$ -lactamases on the treatment of resistant Gram-negative pathogens. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5: 1-7.
16. Rokosz A, Sawicka-Grzelak A, Meszaros J, Łuczak M. Porównanie wyników krążkowo-dyfuzyjnych metod stosowanych do wykrywania ESBL-dodatnich szczepów pałeczek Gram(-). *Med Dośw Mikrobiol* 2004; 56: 49-55.
17. Gniatkowski M. Wykrywanie  $\beta$ -laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) w laboratoriach mikrobiologicznych: ocena testu Vitek ESBL Diagn Lab 2001; 37: 197-206.
18. Jarlier V. 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: 867-878.