

## AKTUALITY

## LATEST NEWS

***Acinetobacter baumannii* nesoucí gen OXA-23 v České republice*****Acinetobacter baumannii* carrying the OXA-23 gene in the Czech Republic**

Markéta Šenkyříková, Magdaléna Chromá, Vendula Husičková, Miroslava Htoutou Sedláková, Milan Kolář

**Souhrn • Summary**

Rezistence ke karbapenemům u gramnegativních nefermentujících tyčinek zahrnuje několik typů mechanismů – enzymatickou inaktivaci, aktivní eflux, modifikaci cílového místa a změny v expresi proteinů ve vnější membráně [1]. V České republice byl již v roce 2011 zachycen kmen *Acinetobacter baumannii* nesoucí geny pro karbapenemázy NDM-1 a OXA-23, který však byl izolován od pacienta, který pobýval v Egyptě [2]. Naše sdělení popisuje 3 pacienty s infekcemi vyvolanými kmeny *Acinetobacter baumannii* s průkazem genů kódujících enzym OXA-23. Vzhledem ke skutečnosti, že pacienti prokazatelně nepobývali v poslední době v zahraničí, lze předpokládat českou provenienci těchto kmenů.

*Carbapenem resistance in gram-negative non-fermentative rods involves several types of mechanisms – enzymatic inactivation, active efflux, target site modification, and changes in porin expression in the outer membrane [1]. An Acinetobacter baumannii strain carrying genes for carbapenemases NDM-1 and OXA-23 was isolated in the Czech Republic in 2011 from a traveller to Egypt [2]. Our report describes three cases of infection caused by Acinetobacter baumannii encoding the OXA-23 enzyme. As these three patients demonstrably had not been abroad, it can be assumed that these strains are of Czech provenance.*

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2012; 21(11): 384–386.

**Klíčová slova:** karbapenemy, rezistence, genotypizace  
**Keywords:** carbapenems, resistance, genotyping

*Acinetobacter baumannii* je oportunní patogen vyvolávající nozokomiální infekce. Největší význam představuje tato nefermentující gramnegativní tyčinka při sepsích, pneumoniích, infekcích močového traktu a pooperačních ran [3]. K lékům volby patří, mimo jiné, karbapenemy. Problémem, kterému musí čelit současná medicína, je však stoupající rezistence kmenů *Acinetobacter baumannii* k této skupině antibiotik. Nejrozšířenější mechanismus rezistence ke karbapenemům u *Acinetobacter baumannii* je produkce enzymů patřících podle Amblerovy klasifikace do skupin B a D [4, 5]. Skupina B označená pojmem metalo-beta-laktamázy (MBL) není u *Acinetobacter baumannii* nalézána často, ale přesto již byly detekovány některé enzymy, patřící mezi VIM, IMP a SIM typy [1]. S mnohem vyšší frekvencí jsou nalézány serinové karbapenemázy (skupina D) označované názvem „carbapenem-hydrolysing class D beta-lactamases (CHDLs)“.

V období od 1. 11. 2011 do 30. 9. 2012 byly z vybraných klinických materiálů (tracheální endosekret, hemokultura) pacientů hospitalizovaných ve Vojenské nemocnici Olomouc (VNOL) izolovány kmeny *Acinetobacter* spp. Identifikace byla provedena standardními mikrobiologickými postupy, včetně použití automatizovaného systému Phoenix (Becton, Dickinson and Company) a přístroje MALDI-TOF Biotyper (Bruker Daltonics). U všech izolátů *Acinetobacter* spp. byla stanovena citlivost k antibio-

tikům standardní diluční mikrometodou podle kritérií EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). K protokolované kontrole kvality sloužily referenční kmeny *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218 a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Rezistence k meropenemu, stanovená diluční mikrometodou, byla potvrzena E-testem (Biomeriex, Francie). K fenotypovému průkazu produkce karbapenemázy u izolátů *Acinetobacter* spp. s minimální inhibiční koncentrací (MIC) meropenemu > 2 mg/l byl použit modifikovaný Hodge test, CD test pro detekci serinových karbapenemáz a mDDST (modifikovaný double disk synergy test) k průkazu MBL za použití EDTA (kyselina ethylen-diamintetraoctová) [6–9]. U kmenů *Acinetobacter baumannii* s MIC meropenemu > 2 mg/l a pozitivním výsledkem fenotypového stanovení na serinovou karbapenemázu bylo provedeno stanovení příslušných genů pomocí polymerázové řetězové reakce. Byly použity specifické oligonukleotidové primery kódujících serinové karbapenemázy patřící do třídy A (NMC, SME, IMI, KPC a GES typy) a dvou vybraných typů třídy D (typy OXA-23 a OXA-48) [10–16]. Jako pozitivní kontrola byl použit kmen se známým zastoupením karbapenemázy (produkující KPC-2 enzym) poskytnutý Ing. J. Hrabákem, Ph.D. z Ústavu mikrobiologie Lékařské fakulty UK v Plzni.

V uvedeném období byly izolovány tři kmeny *Acinetobacter baumannii* s rezistencí k meropenemu s hodnotou MIC >16mg/l. Dne 27. 12. 2011 byl od pacientky s pozdní pneumonií hospitalizované na anesteziologicko-resuscitačním oddělení VNOL izolován kmen *Acinetobacter bauman-*

nii číslo 21678/C. Další dva kmeny *Acinetobacter baumannii* (č. 12257/C, č. 15848/C) pocházely z oddělení chronické resuscitační a intenzivní péče VNOL a byly izolovány z tracheálních endosekretů pacientů s pozdní ventilátorovou pneumonií. Vzorek číslo 12257/C byl izolován 16. 7. 2012 a vzorek 15848/C dne 17. 9. 2012.

Fenotypové testy detekovaly produkci serinových karbapenemáz a následně PCR prokázala přítomnost genů kódujících enzymy OXA-23 u všech tří kmenů. Pro ověření byly rozštěpeny restriční endonukleázou H<sub>p</sub>HI a rozseparovány na 1,5% agarózovém gelu, kde byly velikosti naštěpaných fragmentů porovnány s markerem molekulových hmotností (Top-Bio, Česká republika). Finální konfirmace spočívala v přímém sekvenování PCR amplikonu (firmy ELISABETH PHARMACON a GENEPROOF, Česká republika) a porovnáním získané DNA sekvence v programu BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

Enzym OXA-23 je řazen mezi CHDLs a první popis produkce tohoto enzymu pochází ze Skotska z roku 1985 [17,18]. Tyto enzymy jsou dnes rozšířeny u kmenů *Acinetobacter baumannii* celosvětově [19]. V roce 2011 Nemeč et al. popsali první případ výskytu *Acinetobacter baumannii* s produkcí enzymů NDM-1 a OXA-23 v České republice, přičemž tento kmen byl „importován“ do České republiky z Egypta [2]. V rozmezí let 2005–2006 byla provedena studie, která se zabývala výskytem rezistence *Acinetobacter baumannii* v České republice, při které byly detekovány určité typy OXA enzymů ale nikoliv enzym OXA-23 [20].

Námi předložený popis 3 kmenů *Acinetobacter baumannii* s produkcí OXA-23 je tedy prvním záchytem v České republice od pacientů, kteří nepobývali v zahraničí a lze tedy dokumentovat jejich „domácí provenienci“. Počet kmenů *Acinetobacter baumannii* rezistentních ke karbapenemům se neustále zvyšuje a je potřebné tuto situaci nadále monitorovat, včetně využití molekulárně genetických metod.

Podpořeno vnitřním grantem LF\_2012\_006.

Infrastrukturální část projektu (Ústav molekulární a translační medicíny) byla podpořena Operačním programem Výzkum a vývoj pro inovace (projekt CZ.1.05/2.1.00/01.0030).

## LITERATURA

- Zarrilli M, Giannouli M, Tomasone F, et al. Carbapenemases resistance in *Acinetobacter baumannii* the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. *J Infect dev Ctries.* 2009; 3(5): 335–341.
- Nemeč A, Křížová L, Maixnerová M, et al. Multirezistentní *Acinetobacter baumannii* nesoucí geny pro karbapenemázy NDM-1 a OXA-23 importované do České republiky. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha).* 2011; 20(8): 295–298.
- Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanism and epidemiology. *Clin Microbiol Infect.* 2006; 12(9): 826–836.
- Ambler RP. The structure of  $\beta$ -lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1980; 289(1036): 321–331.
- Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob Agent Chemother.* 2010; 54(3): 969–976.
- Pourmaras S, Poulou A, Tsakris A. Inhibitor-based methods for the detection of KPC carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in clinical practice by using boronic acid compounds. *J Antimicrob Chemother.* 2010; 65(7): 1319–1321.
- Pasteran F, Mendez T, Guerriero L, et al. Sensitive screening tests for suspected class A carbapenemase production in species of *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol.* 2009; 47(6): 1631–1639.
- Lee K, Chong Y, Shin HB, et al. Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- $\beta$ -lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *J Clin Microbiol.* 2009; 47: 1631–1639.
- Htoutou-Sedlakova M, Hanulik V, Chroma M, et al. Phenotypic detection of broad-spectrum beta-lactamases in microbiological practice. *Med Sci Monit.* 2011; 17(5): BR147–152.
- Queenan AM, Torres-Viera C, Gold HS, et al. SME-type carbapenem-hydrolyzing class A  $\beta$ -lactamases from geographically diverse *Serratia marcescens* strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44(11): 3035–3039.
- Aubron C, Poirel L, Ash Ronald J, Nordmann P. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*, U.S. rivers. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11(2): 260–264.
- Radice M, Power P, Gutkind G, et al. First class A carbapenemase isolated from *Enterobacteriaceae* in Argentina. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48(3): 1068–1069.
- Bradford PA, Bratu S, Urban C, et al. Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella* species possessing the class A carbapenem-hydrolyzing KPC-2 and inhibitor-resistant TEM-30 beta-lactamases in New York City. *Clin Infect Dis.* 2004; 39(1): 55–60.
- Weldhagen GF, Prinsloo A. Molecular detection of GES-2 extended spectrum beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in Pretoria, South Africa. *Int J Antimicrob Agents.* 2004; 24(1): 35–38.
- Donald HM, Scaife W, Amyes SG, Young HK. Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA beta-lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44(1): 196–199.
- Poirel L, Heritier C, Toluen V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48(1): 15–22.
- Paton R, Miles RS, Hood J, Amyes SGB. ARI-1: beta-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents.* 1993; 2(2): 81–88.
- Carvalho KR, D'Alincourt Carvalho-Assef AP, Galvão dos Santos L, et al. Occurrence of bla<sub>OXA-23</sub> gene in imipenem-susceptible *Acinetobacter baumannii*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011; 106(4): 505–506.
- Mugnier PD, Poirel L, Naas T, Nordmann P. Worldwide dissemination of the bla<sub>OXA-23</sub> carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis.* 2010; 16(1): 35–40.
- Nemeč A, Křížová L, Maixnerová M, Diancourt L, et al. Emergence of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* in the Czech republic is associated with the spread of multidrug-resistance strains of European clone II. *J Antimicrob Chemother.* 2008; 62(3): 484–489.

Mgr. Markéta Šenkyříková

Mgr. Vendula Husičková

MUDr. Miroslava Htoutou Sedláková

prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.

Ústav mikrobiologie FNOL a LF UP v Olomouci

Ing. Magdaléna Chromá, Ph.D.

Ústav molekulární a translační medicíny

LF UP v Olomouci

marketa.senkyrikova@klikni.cz