

Možnosti terapie infekcí způsobených vankomycin-rezistentními enterokoky

Iva Vágnerová, Milan Kolář

Ústav mikrobiologie, LF UP a FN, Olomouc

Cíl práce: Cílem studie bylo monitorování výskytu vankomycin-rezistentních enterokoků (VRE) u pacientů ve Fakultní nemocnici Olomouc (FNO) v období let 1997–2002 a zjištění jejich rezistence k vybraným antibiotikům.

Materiál a metody: Enterokoky byly izolovány z různých druhů klinického materiálu pacientů ve FNO a identifikovány za použití komerčního En-coccus testu (Lachema). Jejich rezistence k antimikrobním přípravkům byla testována pomocí diluční mikrometody, E testem nebo difuzním diskovým testem.

Výsledky: V období 1997–2002 bylo zachyceno 121 kmenů VRE u onkohematologických pacientů FNO, na jiných odděleních nebyly izolovány. Nejčastěji se jednalo o *Enterococcus faecium* VanA (78%) a *Enterococcus faecalis* VanB (10%). Kmeny *Enterococcus faecium* obou fenotypů byly rezistentní k většině antibiotik, s výjimkou chloramfenikolu, linezolidu a quinupristinu/dalfopristinu. Kmeny *Enterococcus faecalis* vykazovaly citlivost k aminopenicilinům a linezolidu, zatímco quinupristin/dalfopristin byl neúčinný. VanB fenotypy obou druhů enterokoků měly zachovanou citlivost k teikoplaninu.

Závěr: VRE jsou multirezistentní kmeny, většinou dobře citlivé k chloramfenikolu a novějšímu přípravku linezolidu. Quinupristin/dalfopristin je účinný pouze na druh *Enterococcus faecium*, zatímco *Enterococcus faecalis* má zachovanou citlivost k aminopenicilinům.

Klíčová slova: vankomycin-rezistentní enterokoky, klinický význam, rezistence k antibiotikům, linezolid, quinupristin/dalfopristin.

THERAPEUTIC POSSIBILITIES FOR VANCOMYCIN-RESISTANT ENTEROCOCCI INDUCED INFECTIONS

Aim: Monitoring of incidence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) in patients of University Hospital Olomouc during period 1997–2002 and assessment of their antibiotic resistance was a study goal.

Materials and methods: Enterococci were isolated from different clinical materials from patients in University Hospital Olomouc and were identified with commercially available En-coccus test (Lachema). Their resistance to antimicrobial drugs was tested by means of dilution micromethod, E test or diffusion disc test.

Results: During the period 1997–2002, 121 VRE strains were isolated in haematooncological patients of University Hospital Olomouc, they were not isolated in other departments. *Enterococcus faecium* VanA (78 %) and *Enterococcus faecalis* VanB (10 %) were the most common isolates. *Enterococcus faecium* strains of both phenotypes were resistant to the majority of antibiotics, except chloramphenicol, linezolid and quinupristin/dalfopristin. *Enterococcus faecalis* strains showed sensitivity to aminopenicillins and linezolid, quinupristin/dalfopristin was not effective. VanB phenotypes of both types of enterococci preserved sensitivity to teicoplanin.

Conclusion: VRE are multiresistant strains, mostly sensitive enough to chloramphenicol and newer drug linezolid. Quinupristine/dalfopristin is effective only in *Enterococcus faecium* strain, whereas *Enterococcus faecalis* preserves its sensitivity to aminopenicillins.

Key words: vancomycin-resistant enterococci, clinical significance, antibiotic resistance, linezolid, quinupristin/dalfopristin.

Úvod

Enterokoky jsou grampozitivní bakterie, které se běžně vyskytují jako součást přirozené mikroflóry v gastrointestinálním traktu lidí i zvířat. Jsou značně odolné k zevnímu prostředí a přirozeně rezistentní k mnoha antimikrobním přípravkům a dezinfekčním prostředkům. Uplatňují se jako etiologická agens komunitních infekcí, nejčastěji močového traktu, infekcí břicha a pánve, vzácněji také bakteriemií a subakutních endokarditid. Hrají významnou roli i jako původci nozokomiálních infekcí močového a respiračního traktu, chirurgických ran a méně často infekcí krevního řečiště, zejména u pacientů dlouhodobě hospitalizovaných, s těžkým základním onemocněním a po předchozí terapii širokospektrými antibiotiky^(1,2,3). Většina enterokokových infekcí je způsobena druhem *Enterococcus faecalis* s dobrou citlivostí k aminopenicilinům, které jsou proto považovány za lék volby. V případě izolace kmenů *Enterococcus faecium* z biologického materiálu,

kte­ré jsou často rezistentní k aminopenicilinům, je nutno v terapii použít glykopeptidy – vankomycin nebo teikoplanin. V posledních letech jsou však některé infekce vyvolány VRE, jejichž léčba může představovat velký problém^(1,2,4).

VRE byly poprvé zachyceny v r. 1986 na hematologických odděleních a transplantačních jednotkách, později i na anesteziologicko-resuscitačních odděleních nebo dětských jednotkách intenzivní péče, jako následek nadměrné aplikace vankomycinu a mnoha širokospektrých antimikrobních přípravků, ke kterým jsou enterokoky přirozeně rezistentní – cefalosporiny, fluorochinolony, aztreonam, klindamycin, metronidazol^(5,6). Tato antibiotika naruší přirozenou střevní flóru s následným pomnožením kmenů VRE, které střevo většinou jen kolonizují. Při zánětlivě změněné střevní sliznici následkem chemoterapie může však dojít k jejich přestupu do krve a dále do různých orgánů, kde mohou způsobit závažné endogenní nozokomiální infekce⁽⁷⁾. K možnému exogennímu

šíření VRE dochází kontaminovanými rukama zdravotnického personálu, případně kontaminovanými přístroji a různými předměty⁽⁸⁾. V Evropě byly VRE izolovány také ze stolice zdravých jedinců i zvířat a dále z masných výrobků, což může být důsledkem dřívějšího užívání glykopeptidu avoparcinu jako růstového působku ve zvířecí potravě⁽⁹⁾.

První záchyt VRE v České republice byl v r. 1997 u pacientů na Hematoonkologické klinice Fakultní nemocnice Olomouc (HOK FNO). V následujících letech se podařilo VRE izolovat i v jiných zdravotnických zařízeních v České republice^(10, 11).

V současné době je známo 5 fenotypů rezistence enterokoků k vankomycinu – fenotypy A, B, C, D, E. Fenotyp A je podmíněn získáním genu *vanA*, který se nachází na transpozonu Tn1546 nebo jiných relevantních elementech. Transpozon Tn1546 se může šířit mezi kmeny enterokoků, případně z enterokoků na stafylokoky integrací do konjugativních plazmidů. Genetické determinanty fenotypu VanB se nacházejí rovněž na mobilních elementech – transpozonech Tn1547 a Tn5382 a mohou být opět přenášeny mezi kmeny enterokoků. VanC fenotyp je podmíněn přítomností chromozomálního genu *vanC* u některých druhů enterokoků, které jsou tak přirozeně rezistentní k vankomycinu. Fenotypy VanC, VanD a VanE jsou konstitutivní a tedy nepřenositelné na jiné kmeny^(12, 13, 14, 15).

Vlastní mechanismus rezistence enterokoků ke glykopeptidům je dán tvorbou modifikovaných peptidoglykanových prekurzorů v buněčné stěně, ke kterým se vankomycin váže jen slabě. U fenotypu VanA, VanB a VanD dochází k náhradě původního dipeptidu D-alanyl-D-alanin za D-alanyl-D-laktát, u VanC a VanE fenotypů za D-alanyl-D-serin^(12, 13, 14, 15).

Terapie závažných infekcí způsobených VRE může představovat velký problém, neboť výběr vhodných léků je značně omezený. V současné době jsou uváděny na trh nové antimikrobiální přípravky s deklarovanou účinností na mnohé multirezistentní gram-pozitivní bakterie, včetně VRE, oxazolidinon linezolid a streptogramin quinupristin/dalfopristin.

Oxazolidinony představují novou třídu antibiotik s originálním mechanismem účinku. Ireverzibilně inhibují tvorbu iniciačního komplexu v procesu proteosyntézy. Jsou určeny k léčbě závažných nozokomiálních i komunitních pneumonií, infekcí kůže a měkkých tkání způsobených multirezistentními gram-pozitivními bakteriemi, jako methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* a VRE^(16, 17, 18).

Quinupristin/dalfopristin je směsí streptograminu B a streptograminu A – v poměru 70:30 s baktericidním účinkem. Místem působení je bakteriální ribozom, kde dochází k ireverzibilní blokádě syntézy proteinů. Je vhodný k terapii zejména nozokomiálních pneumonií, infekcí kůže a měkkých tkání vyvolaných stafylokoky, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae* a *Enterococcus faecium*, včetně kmenů s rezistencí ke glykopeptidům, avšak druh *Enterococcus faecalis* je vždy rezistentní^(18, 19).

Materiál a metodika

Enterokoky byly izolovány standardními mikrobiologickými postupy z různých druhů klinického materiálu pacientů FNO v období 1997–2002. V roce 1997 se jednalo pouze o náhodný záchyt. Aktivní vyhledávání VRE bylo realizováno až

od roku 1998 pravidelným bakteriologickým monitorováním pacientů na HOK (stolice, moč, sekret z dolních a horních cest dýchacích, případně krev). Získané kmeny byly identifikovány na základě charakteristických růstových vlastností a podrobně klasifikovány průkazem biochemických vlastností za použití komerčního En-coccus testu (Lachema)(20).

Rezistence enterokoků k antimikrobním přípravkům byla běžně testována pomocí standardní diluční mikrometody s přesně stanovenými breakpointy – pro vankomycin 4 mg/l a pro teikoplanin 8 mg/l. Při zachytu VRE byl zjišťován fenotyp rezistence ke glykopeptidům pomocí ředění vankomycinu a teikoplaninu od 2 do 1024 mg/l. U všech kmenů VRE byla dále testována diskovým difúzním testem citlivost k vysokým koncentracím aminoglykosidů (streptomycin 300 µg/disk a gentamicin 120 µg/disk s breakpointy 10 mm) a quinupristinu/dalfopristinu (15 µg/disk s breakpointem 19 mm). Citlivost k linezolidu byla stanovována pomocí kvantitativního E testu, kde breakpoint pro enterokoky je uváděn 4 mg/l. Kvalita ředění antibiotik byla ověřována referenčními kmeny *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212^(17, 19, 21, 22).

Frekvence výskytu VRE byla hodnocena jako počet kmenů VRE na počet ošetřovacích dnů v ročních intervalech, kdy izolované kmeny byly zařazovány do databáze podle kritéria: 1 kmen – 1 pacient – 1 materiál v intervalu 3 měsíců. Tento parametr byl použit pro hodnocení relativního výskytu VRE v závislosti na počtu pacientů a délce jejich hospitalizace.

Výsledky

VRE byly poprvé zachyceny v biologických materiálech pacientů na HOK FNO v roce 1997. V období 1997–2002 bylo celkem izolováno 121 kmenů VRE. Tabulka 1 uvádí četnost jejich výskytu na HOK ve sledovaném období. V roce 1997 byl jejich počet vztažen na ošetřovací dny nízký, avšak tyto údaje nelze dobře hodnotit vzhledem k zmiňované absenci aktivního vyhledávání. V následujících letech měl záchyt VRE zpočátku sestupnou tendenci, v roce 2001 byl dokumentován nejnižší výskyt. V roce 2002 však došlo opět k zvýšení jejich zachytu. Na jiných klinikách či odděleních FNO nebyly ve sledovaném období VRE prokázány.

Zastoupení jednotlivých druhů a fenotypů VRE je uvedeno v tabulce 2. Nejčastěji se jednalo o kmeny *Enterococcus faecium* s fenotypem VanA (77,7 %) a *Enterococcus faecalis* s fenotypem VanB (9,9 %).

Analýza rezistence jednotlivých fenotypů VRE k antimikrobním preparátům je dokumentována v tabulce 3. Frekvence rezistentních kmenů je uváděna pouze v případě *Enterococcus faecium* VanA a *Enterococcus faecalis* VanB, u nichž počet testovaných izolátů přesáhl hodnotu 10.

Diskuze

VRE mohou v dnešní době představovat vážný terapeutický problém, zejména u pacientů na hematoonkologických odděleních, jednotkách intenzivní péče, anesteziologicko-resuscitačních odděleních a transplantačních jednotkách^(1, 2, 4, 5). Jejich výskyt je důsledkem selekčního tlaku nadměrné aplikace vankomycinu a dalších širokospektrých antimikrobních přípravků, ke kterým jsou enterokoky přirozeně

Tabulka 1. Přehled výskytu VRE na HOK FNO ve vztahu k lůžkodnům

rok	počet ošetřovacích dnů absolutní počet	počet VRE absolutní počet	VRE/ošetřovací dny
1997	10 844	8	0,0007
1998	9 694	27	0,0028
1999	10 126	22	0,0022
2000	9 653	22	0,0023
2001	10 003	17	0,0017
2002	9 738	25	0,0026

Tabulka 2. Přehled druhů VRE a jejich fenotypů

druh/fenotyp	počet kmenů	relativní četnost (%)
<i>Enterococcus faecium</i> VanA	94	77,7
<i>Enterococcus faecium</i> VanB	9	7,4
<i>Enterococcus faecalis</i> VanA	6	5,0
<i>Enterococcus faecalis</i> VanB	12	9,9

Tabulka 3. Rezistence *Enterococcus faecium* VanA a *Enterococcus faecalis* VanB k vybraným antibiotikům

antimikrobní přípravek	procento rezistence	
	<i>Enterococcus faecium</i> VanA	<i>Enterococcus faecalis</i> VanB
ampicilin	98	0
chloramfenikol	0	33
tetracyklin	52	100
erytromycin	98	100
vankomycin	100	100
teikoplanin	100	0
nitrofurantoin	95	0
ofloxacin	98	83
quinupristin/dalfopristin	0	100
linezolid	2	0
gentamicin (vysoké koncentrace)	33	100
streptomycin (vysoké koncentrace)	48	25

rezistentní^(5, 6, 8). U pacientů dochází k narušení rovnováhy přirozené střevní mikroflóry a pomnožení VRE. V důsledku razantní chemoterapie může dojít i k mukosiditě gastrointestinálního traktu a následné translokaci VRE do krve a případně dalších systémů, kde mohou, především u imunosuprimovaných pacientů, vyvolat těžkou infekci⁽⁷⁾. Její zvládnutí pak představuje závažný terapeutický problém. Vždy je proto nutno správně zhodnotit úlohu enterokoka v etiologii daného onemocnění. I záchyt VRE v krvi může znamenat jen přechodnou bakteriémií. Výběr vhodného preparátu závisí na druhu a fenotypu izolovaného kmene VRE a lokalizaci infekce.

Naše zkušenosti dokumentují nejčastější výskyt VRE z rektálních výtěrů pacientů na HOK, kde většinou představují prostou kolonizaci. Tyto kmeny byly zachyceny ze stolice přibližně v 60 %, 15 % izolátů pocházelo z moče, 12 % ze sputa a méně než 10 % z jiných biologických materiálů⁽²³⁾.

Důležitou otázkou při hodnocení výskytu VRE je jejich relativní četnost. Jeden z možných parametrů je vztah četnosti k počtu ošetřovacích dnů, který umožňuje analyzovat

záchyt VRE v delším časovém období. Na základě dosažených výsledků lze dokumentovat pokles výskytu sledovaných kmenů v období 1997–2001 a následný vzestup v roce 2002. Příčiny jsou zřejmě komplexní a bezesporu k nim patří i počet pacientů s vysoce dávkovanou chemoterapií a razantní antibioterapií. Je nutné zdůraznit možný endogenní původ VRE, což dokládá záchyt těchto kmenů u lidí i v komunitním prostředí⁽²⁴⁾. Jejich zdrojem mohou být také zvířata, výskyt u slepic v České republice byl již prokázán⁽²⁵⁾. Nelze ovšem opomíjet také případné následné exogenní šíření.

V našem souboru se nejčastěji jednalo o *Enterococcus faecium* VanA (78 %) s přirozenou rezistencí k aminopenicilinům a vysokou rezistencí k vankomycinu i teikoplaninu. Výbornou účinnost in vitro vykazoval chloramfenikol, který ale nelze v terapeutické praxi u onkohematologických pacientů použít pro jeho myelosupresivní účinek. Tetracyklin si zachovával efekt asi na polovinu těchto kmenů VRE, avšak pro svůj bakteriostatický efekt není vhodný pro terapii sepsí a vzhledem k farmakokinetice ani většiny močových infekcí. Může být ale použit v léčbě pneumonií pro svoji vysokou koncentraci v plicní tkáni. Variabilní citlivost těchto kmenů byla zaznamenána k vysokým koncentracím aminoglykosidů – ke gentamicinu v 67 % a streptomycinu v 52 %. Tato antibiotika však nelze užít v monoterapii, je nutno je kombinovat s jinými antimikrobními přípravky a jejich citlivost je nezbytné ověřit. Jako slibná se jeví novější antibiotika, linezolid s 2 % rezistencí a quinupristin/dalfopristin se 100 % účinností in vitro. Tyto přípravky jsou však značně drahé a je nutno je považovat za rezervní pro terapii závažných infekcí, zejména dolních cest dýchacích, měkkých tkání či sepsí způsobených vankomycin – rezistentními kmeny *Enterococcus faecium* VanA.

Kmeny *Enterococcus faecalis* VanA i VanB, zachycené ve sledovaném souboru v 5, resp. 10 %, mají zachovanu stoprocentní citlivost k aminopenicilinům, které představují lék volby. Rezervním preparátem pro pacienty s penicilinovou alergií a se závažným infekčním onemocněním je nově linezolid, zatímco streptograminy jsou u druhu *Enterococcus faecalis* zcela neúčinné^(16, 17, 19).

Enterococcus faecium VanB a *Enterococcus faecalis* VanB mají zachovanu citlivost k teikoplaninu, ale déletrvající terapie je zatížena rizikem vzniku rezistence i na tento preparát.

Závěrem je třeba zdůraznit, že s výskytem VRE je nutno nadále počítat, zejména u pacientů na hematologických odděleních. Ne vždy však musí být odpovědný za vznik infekcí, a proto je nezbytné posuzovat jejich záchyt s rozvahou. Výskyt VRE je možno omezit racionální antibioterapií a důsledným dodržováním hygienických režimů – izolací pacienta, osobní hygienou, především rukou. Terapie infekcí způsobených těmito nebezpečnými kmeny je vždy obtížná, výběr preparátů je omezený podle druhu a fenotypu VRE. K možným rezervním preparátům patří linezolid a quinupristin/dalfopristin, které jsou však finančně značně náročné, a proto by jejich aplikace měla být podrobena důkladné úvaze.

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR č. NI/7305-3.

Literatura

1. Emori TG, Gaynes RP. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Rev* 1993; 6: 428–442.
2. Grüneberg RN. Changes in urinary pathogens and their antibiotic sensitivities, 1971–1992. *J Antimicrob Chemother* 1994; 33 (Suppl A): 1–8.
3. Hájek V, Součková A. Rod *Enterococcus*. In: Bednář M, Fraňková V, Schindler J, Souček A, Vávra J. *Lékařská mikrobiologie*. Praha, Marvil, 1996: 213–214.
4. Ruoff KL, de la Maza L, Murtagh MJ, et al. Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 435–437.
5. Uttley AHC, Collins CH, Naido J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1988; i: 57–58.
6. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med* 1988; 319: 157–161.
7. De Pauw B.E. The sequence of infective event in prolonged neutropenia. In: Klastersky JA. *Febrile neutropenia*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 1997: 35–40.
8. Heath CH, Blackmore TK, Gordon DL. Emerging resistance in *Enterococcus* sp. *Med J Aust* 1996; 164: 116–120.
9. Aarestrup FM, Kruse H, Tøst E, Hammerum AM, Jensen LB. Associations between the use of antimicrobial agents for growth promotion and the occurrence of resistance among *Enterococcus faecium* from broilers and pigs in Denmark, Finland and Norway. *Microb Drug Resist* 2000; 6: 63–70.
10. Kolář M, Vágnerová I, Kohnová I. Záchyt vancomycin-rezistentních enterokoků ve Fakultní nemocnici v Olomouci. *Klin Mikrobiol Inf Lék* 1997; 3: 189–191.
11. Bergerová T, Turková S. První vancomycin-rezistentní enterokoky ve FN v Plzni. *Klin Mikrobiol Inf Lék* 1997; 3: 287–288.
12. Arthur M, Reynolds P. Mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *J Infect* 1996; 32: 11–16.
13. Gin AS, Zhanel GG. Vancomycin-resistant enterococci. *Ann Pharmacother* 1996; 30: 615–624.
14. Perichon B, Reynolds P, Courvalin P. VanD-type glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* BM4339. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 2016–2018.
15. Fines M, Perichon B, Reynolds P, Sahm DF, Courvalin P. VanE, a new type of acquired glycopeptide resistance in *Enterococcus faecalis* BM4405. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2161–2164.
16. Swaney SM, Aoki H, Ganoza MC, Shinabarger DL. The oxazolidinone linezolid inhibits initiation of protein synthesis in bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 3251–3255.
17. Perry CM, Jarvis B. Linezolid – a review of its use in the management of serious Gram-positive infections. *Drugs* 2001; 61: 525–551.
18. Lincová D, Farghali H a kol.: *Základní a aplikovaná farmakologie*. Praha, Grada, Nakladatelství Karolinum 2002, 1. vyd.
19. Hill RLR, Smith CT, Seyed-Akhavani M et al. Bactericidal and inhibitory activity of quinupristin/dalfopristin against vancomycin- and gentamicin-resistant *Enterococcus faecium*. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39(Suppl A): 23–28.
20. Facklam RR, Collins MD. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by conventional test scheme. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 731–734.
21. Urbášková P. *Rezistence bakterií k antibiotikům – vybrané metody*. Trios, Praha; 1998.
22. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Sixth informational supplement. *Nat Comm Clin Lab Standards*, Villanova PA; 1995.
23. Kolář M, Vágnerová I, Látl T et al. The occurrence of vancomycin-resistant enterococci in hematological patients in relation to antibiotic use. *Microbiologica* 2002; 25: 205–212.
24. Kolář M, Čekanová L, Vágnerová I. Průkaz vancomycin-rezistentních enterokoků u komunitní populace České republiky. *Zprávy CEM* 2003; 12: 73–74.
25. Kolář M, Bardoň J, Vágnerová I et al. Occurrence of vancomycin-resistant enterococci in hens in the central region of Moravia. *Vet Med Czech* 2000; 45: 93–97.

MUDr. Iva Vágnerová
Ústav mikrobiologie LF UP a FN Olomouc
Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc
e-mail: vagneri@fnol.cz