

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Kateřina Vitnerová

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B0914

Kateřina Vitnerová

Studijní obor: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví B0914P360004

**ANALÝZA NOVĚ ZAVEDENÉ LABORATORNÍ DETEKCE
KARBAPENEMÁZ U ENTEROBAKTERIÍ V NEMOCNICI
NA HOMOLCE**

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MUDr. Jan Kubele

PLZEŇ 2023

Zde se v tištěné verzi nachází zadání bakalářské práce.

Zde se v tištěné verzi nachází zadání bakalářské práce.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité prameny jsem uvedla v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 31.3.2023.

.....

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Vitnerová Kateřina

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Analýza nově zavedené laboratorní detekce karbapenemáz u enterobakterií v Nemocnici na Homolce

Vedoucí práce: MUDr. Jan Kubele

Počet stran – číslované: 50

Počet stran – nečíslované: 81

Počet příloh: 2

Počet titulů použité literatury: 64

Klíčová slova: Antibiotika, Enterobakterie, Karbapenemy, Karbapenemázy

Souhrn:

Tato práce je zaměřena na antibiotika, konkrétně na karbapenemy a jejich rezistenci u Enterobakterií. Snažím se zde krátce popsat historii antibiotik a konkrétně karbapenemů, jejich mechanismus účinku, mechanismy rezistence a snažím se zde charakterizovat klinicky významné rody čeledi *Enterobacteriaceae*, konkrétně rod *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. a *Enterobacter* spp. Zvláště se zde věnuji jejich laboratorní diagnostice a s ní spojenému vyšetření citlivosti na antibiotika. V praktické části se zabývám analýzou dat z nově zavedené laboratorní detekce karbapenemáz u enterobakterií v Nemocnici na Homolce, což bylo hlavním cílem této práce. Na základě cílů jsem si stanovila výzkumné otázky, které se mi povedlo praktickou částí práce zodpovědět. V diskuzi se snažím porovnat mou zjištěné výsledky s výsledky z jiných zemí, konkrétně z Iráku, Řecka a Číny. Bohužel jsem nenašla studii podobného rozsahu z jiné nemocnice v České republice pro lepší porovnání. Výsledkem mé práce je celkový počet karbapenemáz u vyšetřených pacientů v období od 1. 6. 2021

do 31. 12. 2022 a jejich procentuální fenotypové zastoupení v Nemocnici na Homolce. Fenotypové zastoupení z mého sledovaného souboru se lišilo od celorepublikových dat z Národní referenční laboratoře (NRL), což mohlo být způsobeno nedostatečnou velikostí mého souboru a malým počtem pozitivních vzorků. Nejvíce zastoupenou karbapenemázou v Nemocnici na Homolce ve sledovaném období byla OXA-48 like, kdežto z průzkumu NRL v roce 2022 byla nejčastěji zastoupena karbapenemáza typu NDM.

Abstract

Surname and name: Vitnerová Kateřina

Department: Department of Emergency Medicine, Diagnostic Disciplines and Public Health

Title of thesis: Analysis of the newly introduced laboratory detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae at the Nemocnice na Homolce

Consultant: MUDr. Jan Kubele

Number of pages – numbered: 50

Number of pages – unnumbered: 81

Number of appendices: 2

Number of literature items used: 64

Keywords: Antibiotics, Enterobacteriaceae, Carbapenems, Carbapenemases

Summary:

This work focuses on antibiotics, specifically carbapenems and their resistance in Enterobacteriaceae. I try to briefly describe the history of antibiotics and specifically carbapenems, their mechanism of action, mechanisms of resistance and I try to characterize clinically important genera of the Enterobacteriaceae family, specifically *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. and *Enterobacter* spp. I especially focus on their laboratory diagnosis and associated antibiotic susceptibility testing. In the practical part I deal with the analysis of data from the newly introduced laboratory detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae at the Hospital na Homolce, which was the main aim of this thesis. On the basis of the objectives I set research questions, which I managed to answer in the practical part of the thesis. In the discussion I try to compare my findings with results from other countries, namely Iraq, Greece and China. Unfortunately, I did not find a study of similar scope from another hospital in the Czech Republic for a better comparison. The result of my work is the total number of carbapenemases in the examined patients in the period from June 1, 2021 to December 31, 2022

and their percentage phenotypic representation in Hospital na Homolce. The phenotypic representation from my study sample differed from the national data from the National Reference Laboratory (NRL), which could be due to the insufficient size of my dataset and the small number of positive samples. OXA-48 like was the most represented carbapenemase at the Hospital na Homolce during the study period, whereas NDM was the most represented carbapenemase from the NRL survey in 2022.

Předmluva

Toto téma práce jsem si vybrala z důvodu zájmu o mikrobiologii, speciálně tedy o problematiku antibiotik. Zvyšující se rezistence k antibiotikům je celosvětově rozšířeným tématem. Tato hrozba by měla být brána v potaz a její prevenci by se měla věnovat zvýšená pozornost. Karbapenemy jsou rezervní antibiotika, ale bohužel v posledních letech rezistencí k nim přibývá. Myslím, že je velmi důležité na tuto problematiku upozornit, a hlavně ji řešit v celosvětovém měřítku. Vzhledem k velmi častým migracím obyvatelstva je přenos velmi snadný hlavně při hospitalizacích v nemocnicích v méně rozvinutých zemích.

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce, MUDr. Janu Kubele za jeho pomoc a poznatky, které mi poskytl při zpracování této práce. Poděkování patří i mé rodině a blízkým, jež mi byli oporou v průběhu celého mého studia.

OBSAH

SEZNAM GRAFŮ	13
SEZNAM OBRÁZKŮ	14
SEZNAM TABULEK	14
SEZNAM ZKRATEK	15
ÚVOD.....	19
TEORETICKÁ ČÁST	20
1 ANTIBIOTIKA	20
1.1 Historie antibiotik	20
1.2 Účinky antibiotik	21
1.2.1 Antibiotika působící na buněčnou membránu	21
1.2.2 Antibiotika působící na buněčnou stěnu.....	21
1.2.3 Antibiotika působící na úrovni proteosyntézy.....	22
1.2.4 Antibiotika působící na syntézu kyseliny deoxyribonukleové.....	22
1.2.5 Antibiotika působící na syntézu kyseliny ribonukleové.....	22
1.3 Mechanismus účinku – farmakodynamika a farmakokinetika	22
1.3.1 Farmakokinetika	23
1.3.2 Farmakodynamika	25
1.4 Nežádoucí účinky	26
2 BETA-LAKTAMOVÁ ANTIBIOTIKA.....	28
2.1 Beta-laktamy	28
2.1.1 Obecná struktura.....	28
2.1.2 Mechanismus působení	29
2.2 Karbapenemy	30
2.2.1 Historie karbapenemů.....	30
2.2.2 Struktura karbapenemů.....	31
2.2.3 Imipenem.....	32
2.2.4 Meropenem.....	33
2.2.5 Ertapenem.....	35
2.2.6 Doripenem	36
2.3 Karbapenemy s inhibitory.....	37
2.3.1 Imipenem – Relebaktam.....	37
2.3.2 Meropenem – vaborbaktam	38
3 REZISTENCE NA ANTIBIOTIKA.....	39
3.1 Mechanismy rezistence	39
3.1.1 Enzymatická inaktivace.....	39

3.1.2	Snížená intracelulární koncentrace	40
3.2	Šíření rezistence	41
3.3	Rezistence na karbapenemy	42
3.3.1	Karbapenem-rezistentní enterobakterie	42
4	ENTEROBACTERIACEAE	43
4.1	Charakteristika	43
4.2	Laboratorní diagnostika	43
4.3	Vyšetření citlivosti bakterií k antibiotikům	44
4.3.1	Detekce beta-laktamáz.....	45
4.4	Výskyt karbapenemáz u pacientů v nemocniční péči	47
4.5	Podrobnější charakteristiky klinicky významných rodů.....	49
4.5.1	<i>Escherichia coli</i>	49
4.5.2	<i>Klebsiella</i> spp.	50
4.5.3	<i>Enterobacter</i> spp.	50
	PRAKTICKÁ ČÁST	51
5	CÍL A ÚKOLY PRÁCE	51
5.1	Hlavní cíl.....	51
5.2	Dílčí cíle.....	51
6	VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY	52
7	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU	53
8	METODIKA PRÁCE	54
9	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	56
9.1	Analýza z laboratorního systému Janiga labs	57
9.2	Analýza z laboratorního systému Envis.....	58
9.3	Sloučená data z obou laboratorních systémů	59
9.4	Fenotypy CPE	60
9.5	Trendy ve čtvrté úrovni detekce	62
9.6	Trendy ve třetí úrovni detekce	63
9.7	Počty pacientů na CPE screening	63
	DISKUZE	65
	ZÁVĚR.....	69
	SEZNAM LITERATURY	70
	SEZNAM PŘÍLOH	79
	PŘÍLOHY	80
	Příloha 1 – Postup diagnostiky betalaktamáz CPE.....	80

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Procentuální zastoupení pacientů z celkové počtu..... 53

Graf 2: Poměrové zastoupení fenotypů CPE..... 61

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Chemická struktura 4 hlavních tříd beta-laktamů (Vrancianu et al., 2020), upraveno	29
Obrázek 2: Jádra penamů (peniciliny), cefemů (cefalosporiny) a karbapenemů (obr. 1A) a nejdůležitější strukturní rysy karbapenemových antibiotik (obr. 1B) (El-Gamal et al, 2017), upraveno	32
Obrázek 3: Struktura imipenemu (El-Gamal, 2017), upraveno.....	33
Obrázek 4: Struktura meropenemu (El-Gamal, 2017), upraveno.....	35
Obrázek 5: Struktura ertapenemu (El-Gamal, 2017), upraveno	36
Obrázek 6: Struktura doripenemu (El-Gamal, 2017), upraveno	37
Obrázek 7: Rezistentní izoláty <i>Klebsiella pneumoniae</i> na karbapenemy (Surveillance Atlas of infectious disease)	40
Obrázek 8: Disková difuzní metoda (Giske,2017)	44
Obrázek 9: E-test (Sader, 1994)	45
Obrázek 10: Neplatný test CARBA 5 (Hardy Diagnostics, 2019).....	46
Obrázek 11: Pozitivní a negativní test CARBA5 (Hardy Diagnostics, 2019).....	46
Obrázek 12: Epidemiologická situace enterobakterií produkujících karbapenemázy (Brolund, 2019).	48
Obrázek 13: Enterobakterie produkující karbapenemázu v Evropě (Albiger, 2015)	49
Obrázek 14: Brilliance CRE Medium s pozitivním nálezem (Oxoid)	55
Obrázek 15: Prezentovaná data z NRL pro ATB rezistenci na odborném kurzu (Chudějová, 2022; poskytl MUDr. Kubele).....	65

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Počet pacientů a izolátů v jednotlivých systémech a celkem	53
Tabulka 2: Analýza dat z laboratorního systému Janiga labs.....	58
Tabulka 3: Analýza dat z laboratorního systému Envis	59
Tabulka 4: Sloučená analýza dat z obou systémů	60
Tabulka 5: Porovnání dělaných CARBA 5 testů s výsledky NRL.....	60
Tabulka 6: Fenotypové rozdělení CPE.....	61
Tabulka 7: Procentuální výskyt jednotlivých karbapenemáz	62
Tabulka 8: Trendy ve čtvrté úrovni detekce.....	63
Tabulka 9: Trendy ve třetí úrovni detekce.....	63
Tabulka 10: Počty pacientů na CPE screening.....	64

SEZNAM ZKRATEK

AmpC	Ampicillinasa C
ARO.....	Anesteziologicko-resuscitační oddělení
ATB	Antibiotika; antibiotické
AUC.....	Area Under the Curve
CAP	Community-acquired pneumonia
c_{max}	Maximální koncentrace
CNS	Centrální nervová soustava
CPE.....	Carbapenemase-producing Enterobacterales
CRE	Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae
ČR.....	Česká republika
DC agar.....	Deoxycholát-citrátový agar
DNA	Deoxyribonucleic acid
EAEC.....	Enteroagregativní <i>E. coli</i>
ECDC	The European Centre for Disease Prevention and Control
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
EPEC	Enteropatogenní <i>E. coli</i>
ESBL	Extended-spectrum beta-lactamases
ETEC	Enterotoxická <i>E. coli</i>
EUCAST.....	The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA	Food and Drug Administration
IMP	Imipenemase enzymes

JIP	Jednotka intenzivní péče
JLABS	Janiga Labs
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae carbapenemase</i>
LIS	Laboratorní informační systém
MAC	Minimal Antibacterial Concentration
MALDI TOF MS.....	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization; Time-of-flight; Mass Spectrometry
MBLs	Metallo- β -lactamázy
MBC	Minimal Bactericidal Concentration
MIC.....	Minimal Inhibitory Concentration
MRSA.....	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
NDM-1	New Delhi metallo-beta-lactamase
NNH	Nemocnice na Homolce
NRL	Národní referenční laboratoř
OXA-48	Serinová β -laktamáza hydrolyzující oxacilin
PBP	Penicillin Binding Protein
PBPs	Penicilin Binding Proteins
PCR.....	Polymerase chain reaction
PK/PD.....	Pharmacokinetic/Pharmacodynamic
RPP	Ribosomal Protection Proteins
SIP	Jednotka semiintenzivní péče
t_{max}	Doba dosažení maximální koncentrace
t-RNA	Transferová RNA

UPEC..... Uropatogenní *E. coli*

UTI Urinary tract infection

VIM Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase

XLD agar Agar s xylózou, lysinem a deoxycholátem

ÚVOD

Pojem antibiotikum slyšíme téměř na každém rohu, je to velmi diskutované téma. Bakterie byly, jsou a budou součástí našeho každodenního života v pozitivním, ale i negativním slova smyslu. Antibiotika jako léčivo zachránily bezpočet životů a snížily finanční nákladnost na péči o pacienty. Zároveň s jejich uvedením se antibiotická léčba začala používat nejen pro léčbu lidí, ale i zvířat. Dnes už víme, že jejich masové používání bylo jedním z faktorů vzniku a šíření bakteriální rezistence.

Existuje široká škála antibiotik. S rostoucí dostupností těchto léků stoupá i jejich využití při léčbě. Mezi široce používaná antibiotika patří i skupina β -laktamových antibiotik, jejichž účinnost je založena na inhibici syntézy bakteriální buněčné stěny, tudíž jsou pro člověka netoxické. Vzhledem ke vzrůstající rezistenci, která je zcela přirozená pro všechny organismy, jsou některá antibiotika „označena“ a používána jako rezervní. Tato rezervní antibiotika se používají až v případě, že léky první linie nejsou účinné. A právě karbapenemy, kterým je věnována tato práce, jsou jedněmi z nich. Ale v 90. letech minulého století se začaly objevovat rezistence i na výše zmíněnou skupinu, a to konkrétně u gramnegativních bakterií pomocí horizontálního přenosu genů na mobilních genetických elementech.

V této práci jsem se snažila popsat pojem „Antibiotika“, konkrétněji skupinu beta-laktamů a jejich podskupinu karbapenemy. Dále zde krátce zmiňuji klinicky významné rody čeledi *Enterobacteriaceae* jejich detekci zejména u pacientů v nemocniční péči.

Praktická část je zaměřena na analýzu dat v Nemocnici na Homolce v určitém detekčním období pomocí jasně stanoveného algoritmu. Snažila jsem se zmapovat veškeré testy, které se v daném období provedly.

TEORETICKÁ ČÁST

1 ANTIBIOTIKA

Antibiotika jsou látky přírodního, ale i umělého původu. Nejčastěji jsou to produkty půdních mikroorganismů, které dokáží poškodit nebo usmrtit bakterie a zároveň nepoškozují lidské buňky a tkáň. Antibiotika působí proti patogenním mikroorganismům a patří do skupiny antiinfektiv spolu s antiviroty, antimykotiky, antiprotozoiky a antihelminiky (Beneš, 2018).

Slovo antibiotika pochází z řečtiny, skládá se ze slov *anti* – proti a *bios* – živý, život, tudíž z etymologického hlediska by se tento pojem měl používat jako název všech léků ze skupiny výše zmíněné. Z tradice se níměně tento pojem užívá pouze pro látky působící proti bakteriím (Beneš, 2018).

Pojem antibiotikum je definováno takto: „*Antibiotikum je chemická látka jakéhokoli původu s antibakteriálním účinkem a s minimální či alespoň tolerovatelnou toxicitou pro člověka*“¹

1.1 Historie antibiotik

Historie antibiotik se datuje kolem konce 19. století, kdy Louis Pasteur učinil objev a popsal protichůdné působení některých anaerobních bakterií na růst *Bacillus anthracis*. Nejspíše se antibiotika v nějaké formě užívala již ve starém Egyptě, kde byly v mumiiích nalezeny zbytky tetracyklinů. Skutečný rozmach antibiotika zažila až v roce 1929 objevem penicilinu sirem Alexanderem Flemिंगem, který si povšiml, že na Petriho miskách plíseň *Penicillium notatum* brání růstu *Staphylococcus aureus*. V praxi se penicilin začal užívat koncem 2. světové války. Objevy dalších antibakteriálně účinných produktů na sebe nenechaly dlouho čekat (Spížek, 1999).

Nově vznikající skupinu léčiv pojmenoval americký mikrobiolog Selman Abraham Waksman, který se zapsal do dějin též jako objevitel streptomycinu (1943). Zprvu se rozlišovalo mezi chemickými antibakteriálními sloučeninami (chemoterapeutiky) a přírodními

¹ ŠTEFAN, Marek. *Antibiotika v klinické praxi*. Praha: GALÉN, c2019. ISBN 978-80-7492-397-5.

antibakteriálními produkty (antibiotiky). Od tohoto dělení se časem upustilo, protože s vývojem semisyntetických přípravků se hranice těchto dvou skupin začala zužovat. V současné době se pojem chemoterapeutika používá výhradně v onkologické medicíně (Beneš, 2018).

1.2 Účinky antibiotik

Různé druhy antibiotik se od sebe odlišují různou velikostí molekul, ale i stavbou, proto mají rozdílný mechanismus účinku. Hledaná vlastnost antibiotik je tzv. selektivní toxicita, což znamená, že by měly zneškodnit či zastavit růst patogenu a zároveň mít co nejmenší vliv na hostitele a jeho organismus. Antibiotikum v organismu hledá citlivé místo, které označujeme jako cílová struktura (Schindler, 2014).

1.2.1 Antibiotika působící na buněčnou membránu

Funkčnost vnější buněčné membrány gramnegativních bakterií narušují polymyxiny, které působí jako detergent. Jejich nejznámější zástupce je kolistin. Výsledkem působení těchto antibiotik je smrt buňky, takže můžeme říct, že působí baktericidně. Nejsou selektivně toxické, jelikož spolu s buněčnou membránou patogenních buněk napadají i buněčnou membránu lidských buněk. Funkčnost vnitřní buněčné membrány grampozitivních bakterií (nemají zevní buněčnou membránu) poškozují lipopeptidy. Tato antibiotika se nedokáží navázat na vnější membránu gramnegativních bakterií, a tudíž je nemohou zneškodnit (Štefan, 2019).

1.2.2 Antibiotika působící na buněčnou stěnu

Do skupiny antibiotik porušující buněčnou stěnu patří pět druhů (beta-laktamy, glykopeptidy, lipoglykopeptidy, polypeptidy a fosfomycin). Díky stavbě lidských buněk, které nemají buněčnou stěnu, jsou tato antibiotika selektivně toxická. Peptidoglykan neboli murein, jež je součástí buněčné stěny a je syntetizován enzymy, je vázán na beta-laktamy, které následně ukončují funkci enzymů (Schindler, 2014). Patogeny s porušenou buněčnou stěnou podléhají lýze, antibiotika mají baktericidní účinek. Glykopeptidy mohou narušit funkci nefronů a tím negativně ovlivnit hostitelský organismus (Štefan, 2019).

Grampozitivní bakterie mají buněčnou stěnu, která je tvořena pouze silnou vrstvou peptidoglykanu spojenou s dalšími polymery (kyselina teichoová, kapsulární polysacharid) a nemají zevní buněčnou membránu. Buněčná stěna gramnegativních bakterií je slabší, tvoří ji pouze několik vrstev peptidoglykanu, nad kterými se nachází periplazmatický prostor ohraničený od vnějšího prostředí zevní buněčnou membránou (Němec, 2015). Peptidoglykan patří mezi největší makromolekuly tvořící buňky bakterií. Je tvořen z polysacharidových

řetězců složených ze střídajících se se β -1,4-vázanými zbytky N-acetylglukosaminu a N-acetylmuraminové kyseliny, které pojí krátké peptidy (Otten, 2017).

1.2.3 Antibiotika působící na úrovni proteosyntézy

Léčiva této skupiny mají výhradně bakteriostatický účinek, to znamená, že zamezují pouze množení bakterií, ale o zabití bakterie se musí postarat funkční imunitní systém hostitele. Působí na úrovni syntézy bílkovin, která probíhá na ribosomech. Ovlivňují i m-RNA či t-RNA. Mezi tato antibiotika patří tetracykliny, makrolidy, chloramfenikol, aminoglykosidy a oxazolidinony. Nejsou selektivně toxické, protože ovlivňují i funkci ribozomů lidských buněk. Aminoglykosidy jsou jediná antibiotika téhle skupiny, které působí baktericidně. Mimo inhibici proteosyntézy ovlivňují funkčnost buněčné stěny a vyvolávají tvorbu volných kyslíkových radikálů (Štefan, 2019).

1.2.4 Antibiotika působící na syntézu kyseliny deoxyribonukleové

Zpomalují funkci patogenní DNA, což má baktericidní účinky. Nejsou zcela selektivně toxické a mohou vyvolat nežádoucí účinky v lidském organismu. Patří sem fluorochinolony, co-trimoxazol, nitrofurantoin a nitroimidazoly (Štefan, 2019). Imidazoly rozlamují provazce DNA, fluorochinolony se vážou na topoizomerázu, která rozplétá a tvoří kopie provazce DNA (Schindler, 2014).

1.2.5 Antibiotika působící na syntézu kyseliny ribonukleové

Do této skupiny spadají dvojce baktericidně působící antibiotika – rifamyciny a fidaxomicin. Rozdíl mezi těmito dvěma léky je v toxicitě, zatímco fidaxomicin je téměř netoxický, u rifamycinu zaznamenáváme toxicitu poměrně vysokou (Štefan, 2019).

1.3 Mechanismus účinku – farmakodynamika a farmakokinetika

Farmakodynamika spadá stejně jako farmakokinetika pod farmakologii a zabývá se zkoumáním mechanického působení léčiv na cílové struktury, zatímco farmakokinetika se zabývá pohybem léku v organismu, což slouží k výpočtu dávkování léčiv. Tyto dva pojmy spolu úzce souvisí a jejich vztah vyjadřujeme zkratkou.

Většina infekcí se nachází mimo intravaskulární prostor, takže je nutný přestup léčiva z krve do dalších částí intersticiálního prostoru, kde se nachází cílové místo pro působení antibiotik. V intersticiálním prostoru se mohou navázat na tkáňové proteiny, pronikat do buněk anebo zůstat volně v intersticiální tekutině. Čím více se léčivo váže na plazmatické proteiny, tím méně dochází k průniku do buněk. Mezi volnou frakcí antibiotika v krevní plazmě a v intersticiálním prostoru se vytváří rovnováha díky procesům pasivní difuze.

Doba, která je potřebná k ustálení rovnováhy, je přímo úměrná ploše kapilárního řečiště, objemu tkáňové tekutiny a vlastnostem léčiva. Průnik do tkáni může být omezen přirozenými bariérami lidského těla (CNS, oko, prostata), aktivním transportem (P-glykoprotein), aktuálním pH, lokálním průtokem krve v místě infekce, hustotou krve a permeabilitou nebo osmotickým gradientem. Množství volné frakce antibiotika v krevní plazmě umožňuje pouze orientační odhad množství jeho volné frakce ve tkáni, jelikož jeho šíření z plazmy do dalších tělních částí je nerovnoměrné. Bohužel nemáme dostupné laboratorní metody, které by zvládly určit hladinu volné frakce ve tkáni či v krevní plazmě, tudíž využíváme laboratorní metody, které jsou schopny určit hodnoty celkové koncentrace antibiotika v plazmě, a díky znalostem o vazebné kapacitě určitého léčiva se hodnoty volné frakce odhadují (Halačová, 2014).

Znalost farmakodynamiky a farmakokinetiky jednotlivých antibiotik je důležitá pro porozumění vztahů mezi podávanou dávkou a účinkem, např. aby nedošlo k předávkování pacienta. Při léčbě nastává velké množství interakcí mezi pacientem, mikroorganismem a podaným léčivem, tudíž nelze vztah mezi dávkou a účinkem charakterizovat pouze podle výpočtů. Tento vztah ovlivňuje spoustu faktorů, jedním z nich je například charakteristika daného léčiva (hydrofilita či lipofilita, eliminační cesta, distribuční objem, vazba na proteiny, schopnost prostupovat do tkání...), interakční potenciál, vlastnosti infekčního agens, místo infekce a zdravotní stav pacienta (Halačová, 2014).

1.3.1 Farmakokinetika

Zabývá se změnou koncentrace léčiv v organismu s ohledem na vstřebávání, šíření, metabolizaci a vylučování – pro tyto hlavní děje se používá akronym ADME (z angl. *Absorption – Distribution – Metabolization – Elimination*)

1.3.1.1 Absorpce

Absorpce je popsána jako procento dávky, které se dostane do krevního oběhu pacienta. Léčiva, která se užívají nitrožilně, nepodstupují proces vstřebávání a mají 100% biologickou dostupnost. Při perorálním podání je biologická dostupnost menší. Míra absorpce perorálně je závislá i na požívání potravy. Některé antibiotické přípravky se musejí užívat na lačno, zatímco jiné po jídle, některé se nesmí užívat s mléčnými výrobky, protože jejich vstřebatelnost se snižuje v přítomnosti určitých kationtů, jako jsou například vápník a hořčík (Beneš, 2018). Léčiva jako vankomycin, aminoglykosidy a kolistin se z gastrointestinálního traktu nevstřebávají, proto je nutné parenterální podání. Například vankomycin se užívá

k léčbě klostridiové kolitidy a intravenózně podaný se do střeva nevyučuje, proto se nedá k její léčbě takto použít. Nejvyšších účinků dosahují antibiotika intravenózním podáním (Štefan, 2019).

Proces vstřebávání lze popsat pomocí následujících farmakokinetických pojmů, jako jsou biologická dostupnost, maximální koncentrace (c_{\max}) a doba dosažení maximální koncentrace (t_{\max}). Biologická dostupnost je podíl léčiva, které se dostává do krevního objemu, obsaženého v léčivém přípravku a zároveň se zjišťuje rychlost absorpce. Absolutní biologická dostupnost srovnává plochu pod křivkou (AUC) při orálním a parenterálním užívání. Relativní biologická dostupnost se používá k porovnávání dvou léčebných přípravků, kde se zkoumá jejich biologická dostupnost, která se vyjadřuje velikostí plochy pod křivkou (AUC) (Beneš, 2018).

1.3.1.2 Distribuce

Léčivý přípravek podaný různými cestami se dostává do krevního řečiště, ze kterého se dostává do cílových struktur. Podle distribučního kritéria dělíme antibiotika do tří skupin. Do první skupiny spadají léky s největší koncentrací v intravaskulární tekutině, vážou se na sérové proteiny, takže mají omezenou penetraci z krve do tkání. Druhá skupina se šíří do extracelulární tekutiny a třetí skupina se shromažďuje hlavně v tkáních a buňkách. Většina zástupců prvních dvou skupin patří mezi hydrofilní, mají nízký distribuční objem, vysokou koncentraci v séru, jsou vylučovány ledvinami a jejich penetrace do buněk je minimální. Zástupci třetí skupiny jsou lipofilní, mají velký distribuční objem, nízké sérové koncentrace a snadno pronikají do buněk (Štefan, 2019).

Distribuční objem je parametr sloužící k popisování šíření léku v organismu. Tento objem je přímo úměrný ke koncentraci antibiotika v krevním oběhu (Jindrák, 2014).

1.3.1.3 Metabolismus

Metabolismus většiny antibiotických látek probíhá v játrech. Některá působí jako inhibitory nebo induktory cytochromu P450. Inhibitor má za následek zpomalení metabolismu určitého léku, čímž se zvyšuje jeho koncentrace, tedy i účinnost. Induktor naopak metabolismus urychluje, čímž se koncentrace snižuje (Štefan, 2018).

1.3.1.4 *Eliminace*

Eliminace antibiotik je zajišťována tělními orgány (ledviny, játra, plíce). K výpočtu velikosti vylučování se užívá clearance. „Clearance je definovaná jako objem plasmy očištěný od dané látky za jednotku času“². Počítá se ze vzorce $Cl_R = \frac{c_U \times V}{c_P}$, kde c_U a c_P jsou koncentrace léku v moči (lat. *urea*) a plasmě, V je objem moči (Beneš, 2018).

Činnost některých antibiotik lze ovlivnit změnou pH moči, například rychlost vylučování.

Clearance léku je ovlivněna funkcí vylučovacích orgánů. Hydrofilní antibiotika jsou vylučována ledvinami. Při renální insuficienci dochází ke kumulaci a je zvýšené riziko toxicity. Naopak při renální hyperfunkci je riziko poddávkování. Lipofilní antibiotika jsou metabolizována v játrech. Ke změnám clearance dochází při změně průtoku krve játry, při funkčních změnách hepatocytů a při změněné vazbě na proteiny (Halačová, 2014).

1.3.2 *Farmakodynamika*

Farmakodynamika se zabývá popisováním účinku léku na cílové struktury, kterými mohou být buňky nebo receptory. Jelikož se bavíme o farmakodynamice antibiotik, cílem jsou bakteriální buňky (Beneš, 2018).

Z předchozího tématu již víme, že máme různé účinky antibiotik na bakterie: subinhibiční (poškozují bakteriální buňky pouze v malé míře), bakteriostatické neboli inhibiční (zamezují růst a šíření bakterie) a baktericidní (způsobují smrt bakterie). S těmito třemi kategoriemi účinku souvisí parametry, díky kterým je působení antibiotik popsáno. Minimální inhibiční koncentrace (MIC, z angl. *minimal inhibitory concentration*) je nejnižší koncentrace antibiotika, která je ještě schopna zamezit růstu či množení bakteriální populace v laboratoři. Antibiotikum je účinnější, čím je menší MIC hodnota (Štefan, 2019). MIC hodnota je měřena vystavením bakterie různým koncentracím antibiotika či se měří velikost inhibiční zóny kolem antibiotického disku nebo koncentrace na stupnici E-testu. Minimální antibakteriální koncentrace (MAC, z angl. *minimal antibacterial concentration*) je nejnižší koncentrace, která je ještě schopná způsobovat strukturální změny bakteriální populace. MAC

² BENEŠ, Jiří. *Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití*. Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 978-80-271-0636-3.

se v praxi nevyšetřuje, jelikož jeho stanovení je příliš náročné, tak má pouze teoretický význam. Minimální baktericidní koncentrace (MBC, z angl. *minimal bactericidal concentration*) je nejnižší koncentrace antibiotika, která má baktericidní účinek (Beneš, 2018).

1.4 Nežádoucí účinky

Ideální lék by měl působit pouze na patogen a pro pacienta by neměl být nikterak toxický. V reálném světě, takový lék neexistuje a všechny léky, včetně tak antibiotika, mohou mít celou řadu nežádoucích účinků. Ideálnímu antibiotiku se vzdáleně blíží beta-laktamy, ale i ty mohou mít nemalé vedlejší účinky, především alergické reakce.

Nežádoucí účinky antibiotik můžeme rozdělit do tří skupin: rozvoj alergické reakce, toxikologická rizika a mikrobiální účinky, jako je vznik rezistence na léčiva.

Mohou působit na tělo jako antigeny nebo hapteny, čímž se stávají cílovým místem působení imunitního systému. Nejčastější nežádoucí účinky jsou horečky kvůli přecitlivělosti na antibiotika, mohou se vyskytnout u jakéhokoli antiinfektiva. Časté jsou hematologické nežádoucí účinky jako leukopenie, anémie či trombocytopenie, které mohou vyvolat i beta-laktamová antibiotika. Aminoglykosidy mohou být zodpovědné i za některé neurologické potíže, mezi nejzávažnější patří encefalitida, spasmus, neuromuskulární blokáda a svalová spasticita. Jako většina léků, tak i antibiotika, jsou spojena s nevolností a zvracením. Některá mohou způsobovat hepatotoxicitu. Nefrotoxický potenciál mají aminoglykosidy podobný a liší se podle frekvence intravenózního podání. (Cunha, 2001).

Jisté vedlejší účinky mohou souviset s genetickou zátěží. Například lidé s nedostatkem glukóza-6-fosfát-dehydrogenázy mají sklony k hemolytickým reakcím po podání sulfonů, sulfonamidů, nitrofurantoinu a některých antimalarik. Podobná náchylnost k hemolýze hrozí i u jedinců s hemoglobinopatií (Beneš, 2018).

Alergické reakce jsou velmi častým vedlejším nežádoucím účinkem. Projevem mohou být kožní vyrážky jakéhokoli rozsahu. Nejnebezpečnější je však anafylaktický šok, který může být způsoben například injekčním podáním jednoduchých betalaktamů (Votava, 2001).

Biologický účinek antibiotik znamená, že ovlivňují přirozenou mikroflóru pacienta. Hospitalizovaní jedinci s poškozenou mikroflórou mohou být osidlováni rezistentnějšími a více patogenními, nemocničnými bakteriemi, než byla původní mikroflóra. Může také dojít

k namnožení původní potencionálně škodlivé mikroflóry, která byla udržována díky přirozené mikroflóře v neškodném množství (Votava, 2001).

2 BETA-LAKTAMOVÁ ANTIBIOTIKA

2.1 Beta-laktamy

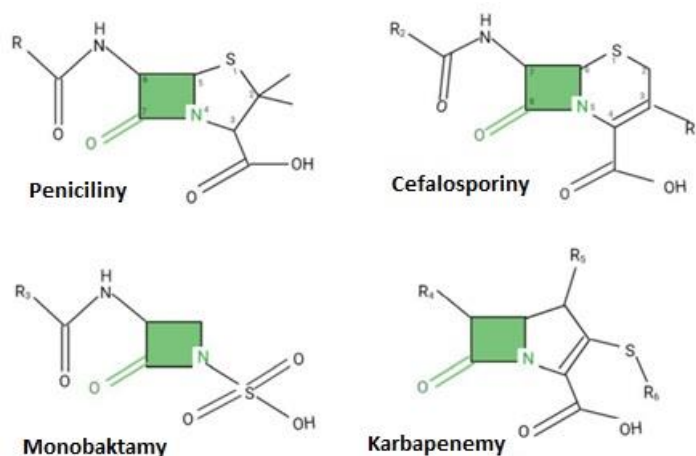
Beta-laktamová antibiotika v dnešní době představují nejvýznamnější, nejpočetnější a nejvyužívanější skupinu antibiotik. Tvoří zhruba 60 % všech produkovaných antibiotik. Již přes 2 miliardy let jsou produktem v přírodě volně žijících bakterií a hub. Díky vysoké aktivitě a minimálnímu vedlejšímu účinku jsou to nejčastěji používaná antibiotika pro léčbu infekčních onemocnění, mezi které můžeme zařadit i závažné nemocniční infekce. Jejich klinická účinnost je omezena v důsledku vývoje mikroorganismů, která vede k nárůstu rezistence mikrobů na daná antibiotika. (Egorov et al., 2020)

Dělíme je do pěti skupin: peniciliny, cefalosporiny, karbapenemy, monobaktamy a inhibitory β -laktamázy. Všechny skupiny mají stejný mechanismus účinku, který je založen na inhibici syntézy peptidoglykanu buněčné stěny s následnou autolýzou buňky. Rozdíl ve spektru účinku je podmíněn rozdílnou afinitou k cílovým strukturám. Cílové vazebné struktury jsou proteiny vázající penicilin – PBPs (z angl. *penicilin binding proteins*). Dále se od sebe odlišují farmakokinetickými vlastnostmi a odolností vůči rezistentním mechanismům (Kolářová, 2020).

2.1.1 Obecná struktura

Jak již bylo zmíněno, beta-laktamová antibiotika se dělí do čtyř skupin, jejichž společným základem je beta-laktamový kruh (Vrancianu a kol., 2020), na který se mohou vázat tři typy bicyklických struktur. U penicilinů je spojen s thiazolidinovým kruhem, u cefalosporinů šestičlenný dihydrothiazin a u karbapenemů je bicyklický systém doplněn o pětičlenný pyrrolin. Monobaktamy, jak už z názvu vyplývá, jsou monocyklické systémy, takže tam najdeme jen beta-laktamový kruh bez jiných fúzních kruhových struktur (Tooke et al.,

2019). Na obrázku 1 jsou ukázány chemické struktury jednotlivých antibiotik se zeleně zvýrazněným beta-laktamovým kruhem.



Obrázek 1: Chemická struktura 4 hlavních tříd beta-laktamů (Vrancianu et al., 2020), upraveno

S ohledem na molekulovou hmotnost se PBP dělí do dvou základních skupin – nízkomolekulární a vysokomolekulární. Nízkomolekulární fungují jako karboxypeptidázy (odštěpují jednotlivé aminokyseliny z karboxylového konce proteinů či peptidů), vysokomolekulární se dělí na A a B. Do třídy A spadají bifunkční enzymy složené z transpeptidázové a transglykosylázové domény. Třída B se skládá z transpeptidázy obsahující dipeptidovou doménu D-alanyl-D-alanin. Jedinečný soubor PBP pro každý bakteriální druh může obsahovat až osm enzymů. U gramnegativních bakterií mohou být PBP typu PBP1a, PBP1b, PBP2 a PBP3, jejichž inhibice může zastavit buněčné dělení nebo způsobit lýzu bakteriální buňky. (Vrancianu et al., 2020).

2.1.2 Mechanismus působení

Z kapitoly o mechanismu působení antibiotik víme, že beta-laktamová antibiotika působí výhradně baktericidně a zcela netoxicky pro lidský organismus. Selektivní toxicita je způsobena absencí buněčné stěny u lidských buněk.

β -laktamy ovlivňují syntézu peptidoglykanu v buněčných stěnách buněk. Konečný transpeptidační krok v syntéze peptidoglykanu umožňují transpeptidázy známé jako PBPs. Tyto bílkoviny se od sebe odlišují různou afinitou k vazbě na penicilin či na jiná β -laktamová antibiotika. Koncentrace PBPs je individuální pro různé bakteriální druhy (Shaku et al., 2020; Nordmann 2012).

Mechanismus spočívá v průniku antibiotika do buňky buď pomocí porinů u gramnegativních bakterií či přímo u grampozitivních bakterií. Díky podobnosti β -laktamů s D-alanyl-D-alanin je usnadněna vazba na PBPs. Beta-laktamový kruh se naváže na protein umožňující tvorbu peptidoglykanu, a tím znemožní konečnou transpeptidaci vznikající peptidoglykanové vrstvy, čímž dojde k narušení syntézy buněčné stěny. Za normálních situací způsobují peptidoglykanové prekurzory přeuspořádání buněčné stěny a díky tomu se spouští aktivace autolytických hydroláz. Autolytické hydrolázy jsou enzymy, které se účastní lýzy buňky, ale mimo jiné i regulaci růstu buněčné stěny a zvětšují póry buňky pro zabudování sekrečních aparátů. Inhibicí transpeptidace způsobí nahromadění peptidoglykanových prekurzorů, čímž je spuštěno trávení peptidoglykanu autolytickými hydrolázami bez současné produkce nového peptidoglykanu. Díky tomu se baktericidní účinek beta-laktamů zvyšuje a tím se snižuje strukturální celistvost buněčné stěny, což vede k lýze buněčného organismu (Nordmann, 2012; Vollmer 2008).

2.2 Karbapenemy

Antibiotika specifická svým širokým spektrem účinku a největší antibakteriální aktivitou ze všech beta-laktamů proti většině aerobních i anaerobních bakterií. Jsou to rezervní antibiotika určena k léčbě těžkých nemocničních infekcí a jsou odolné proti účinku širokospektrých betalaktamáz typu ESBL, AmpC atd., naopak rezistentní jsou pro stafylokoky rezistentní k oxacilinu (MRSA) a enterokoky (Štefan, 2019; Nyč, 2014). Díky svému širokému spektru účinku byly leckde hojně používány, což s sebou nese významná epidemiologická rizika selekce přirozeně rezistentních bakteriálních druhů, navození rezistence u pseudomonád a acinetobakterů, a hlavně rozšíření karbapenemáz (Kolářová et al. 2020). Bohužel v posledních letech narůstá rezistence i u některých enterobakterií (kmeny produkující karbapenemázy – CPE) jako jsou např. *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. či *Escherichia coli* (Otakar Nyč, 2014).

Vedlejší a nežádoucí účinky karbapenemů jsou téměř zanedbatelné a nejsou nikterak významné. Interakce s ostatními léky jsou též minimální (Štefan, 2019).

2.2.1 Historie karbapenemů

V 70. letech byl americkou firmou Merck objeven první karbapenem thienamycin jako produkt půdní bakterie *Streptomyces cattleya*. Tato látka zaujala svým silným antibiotickým působením, avšak díky své nestabilitě nemohla být využívána k lékařským účelům. V roce 1985 se však týmu vědců povedlo její molekulu modifikovat a tím dali vzniknout

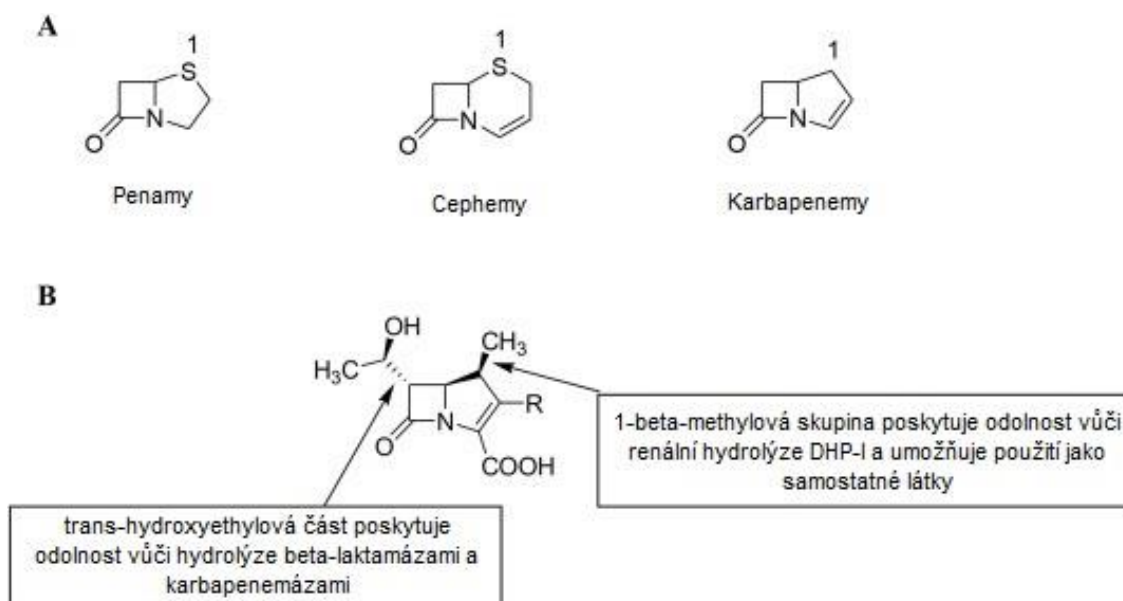
léku s názvem imipenem. Tento stabilní derivát se nazývá N-formimidoylthienamycin. Ke konci dvacátého století a na začátku století jednadvacátého se na farmaceutických trzích objevily další léky spadající do skupiny karbapenemů – meropenem (1996), ertapenem (2001) a doripenem (2007). Další antibiotika podobná karbapenemům nám známým byla vyvinuta v Japonsku, ale není pravděpodobné, že by pronikla na evropský či americký trh kvůli podobným vlastnostem, co mají antibiotika dosud používaná. (Beneš, 2018).

Strukturně se liší od ostatních beta-laktamů tím, že v heterocyklu je místo atomu uhlíku atom síry. Slovo karbapenem se skládá ze dvou částí, *karba* – uhlík a *penem* – nenasycená forma penamu (složen z betalaktamového kruhu a něj připojeného pentamerního kruhu) (Štefan, 2019).

Úskalí imipenemu tkvělo v deaktivaci pomocí přirozeně se vyskytující dehydropeptidáze I, která je produkována ledvinnými tubuly. Tato nežádoucí vlastnost byla vyřešena výrobou cilastatinu, který je schopen tento enzym inhibovat a umožnit aktivitu imipenemu. Cilastatin sám o sobě nemá žádný antibiotický účinek, slouží jen k inhibici dehydropeptidázy I. Naproti tomu metylhydrát imipenemu, meropenem, není žádným enzymem deaktivován a může být podáván samostatně stejně jako ostatní karbapenemy (Štefan, 2019).

2.2.2 Struktura karbapenemů

Strukturně mají podobu penicilinů. Skládají se z nenasyceného pětičlenného kruhu napojeného na kruh beta-laktamový. Rozdíl mezi peniciliny a karbapenemy tvoří dvojná vazba mezi C2 a C3 uhlíkem místo síry na C1. Díky tomuto uhlíku vynikají karbapenemy svým širokým spektrem účinku. Na beta-laktamovém kruhu mají trans-1-hydroxyethylový substituent namísto acylaminového. Tento postranní řetězec je prodloužen pod rovinu beta-laktamového kruhu a hraje roli v odolnosti vůči hydrolýze beta-laktamázi. Ačkoli karbapenemy rychle přeskupily serinové zbytky na beta-laktamázy, hydrolýza acylovaného enzymu je příliš pomalá, protože hydroxyethylová část vytěsňuje vodu, která je nezbytná pro hydrolýzu. Proto se enzym stává neaktivním. Metallo- β -laktamázy jsou zde výjimkou, protože jejich aktivita nevyžaduje kovalentní vazbu s β -laktamem. Později vyvinuté karbapenemy nejsou citlivé na hydrolýzu dehydropeptidázou I, protože jim byla přidána 1- β -methylóvá skupina. Trans konfigurace na vazbě C5 a C6 zvyšuje účinnost a napomáhá rezistenci vůči beta-laktamázi. Dalším strukturním rysem karbapenemů je kladně nabitý postranní řetězec v poloze 2 způsobený bazickým aminem nebo amidinem, který se při fyziologickém pH protonizuje (El-Gamal et al., 2017; Vrancianu et al., 2020).



Obrázek 2: Jádra penamů (peniciliny), cefemů (cefalosporiny) a karbapenemů (obr. 1A) a nejdůležitější strukturní rysy karbapenemových antibiotik (obr. 1B) (El-Gamal et al, 2017), upraveno

2.2.3 Imipenem

Jak již z předchozí kapitoly víme, imipenem byl první syntetizovaný karbapenem, je v lidském těle rychle rozkládán enzymem dehydropeptidázou I kvůli absenci 1-beta-methylové skupině, proto musí být chráněn inhibitorem tohoto enzymu, cilastatinem, který se přidává do léku v hmotnostním poměru 1:1. Samotný cilastatin nemá žádný antibi-otický účinek.

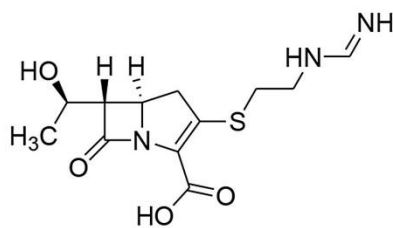
Lék imipenem je stabilní derivát od thienamycinu, který byl nestabilní, a pro léčivé účinky ho nebylo možné používat. Nestabilita thienamycinu byla způsobena mezimoleku-lární interakcí mezi azetidionem a cysteaminem (El-Gamal et al., 2017).

Má nejširší antibakteriální aktivitu ze všech antibiotik dostupných pro systémové po-užití u lidí. Je účinný proti streptokokům, meticilin citlivým stafylokokům, neisseriím, he-mofilům, anaerobům a běžným aerobním gramnegativním nozokomiálními patogenům včetně rodu *Pseudomonas*. (Hellinger, 1991). Ve srovnání se zbylými karbapenemy je imi-penem účinnější na *Enterococcus faecalis* i na některé grampozitivní bakterie, naopak vyka-zuje nižší účinnost proti enterobakteriím, hlavně proti rodům *Proteus* a *Morganella*. Proti bakteriím produkujícím inducibilní beta-laktamázy má menší inhibiční účinek než ce-foxitin, ale větší než meropenem nebo doripenem (Beneš, 2018).

Jako počáteční monoterapie poskytuje imipenem účinnou a dobře tolerovanou léčbu středně těžkých až těžkých infekcí různých tělesných systémů, včetně nitrobřišních, porodnických a gynekologických infekcí, infekcí dolních cest dýchacích, kůže a měkkých tkání, močových cest, a také u bakteriémie a septikémie a u pacientů s febrilní neutropenií související s malignitou (Buckley et al., 1992).

Podání je intravenózní, probíhá distribuce do tkání a tělních tekutin. Je vylučován ledvinami, tudíž při poruše ledvin musí být jeho dávka upravena. Poločas rozpadu je zhruba jedna hodina, zvyšuje se u pacientů s poruchami ledvin nebo při intramuskulárním podání (Buckley, 1992; El-Gamal et. al, 2017).

V klinických studiích je obecně dobře snášen jako ostatní beta-laktamová antibiotika. Nejčastější nežádoucí účinky mohou být nevolnost, zvracení, průjem, kožní vyrážky, zánět povrchových žil v místě vpichu, přechodné zvýšení výsledků jaterních testů či eozinofilie. U pacientů s poruchou CNS či selháním ledvin se vyskytly záchvaty při neupravené dávce léčiva. Riziko záchvatu se prudce zvyšuje se zvyšujícími se dávkami, což zdůrazňuje nutnost pečlivé úpravy dávkování u pacientů s poruchou funkce ledvin. Výhodou intramuskulárního podání je absence některým nežádoucím účinku jako je zánět povrchových žil v místě vpichu a nevolnost, které jsou spojené pouze s intravaskulárním podáním (Buckley, 1992).



Imipenem

Obrázek 3: Struktura imipenemu (El-Gamal, 2017), upraveno

2.2.4 Meropenem

Meropenem je druhým celosvětově zavedeným karbapenemem, který má klinické využití od roku 1994. Je stabilní vůči inaktivaci lidskou dehydropeptidázou a díky tomu nevyžaduje současné podávání inhibitoru tohoto enzymu, cilastatinu. Stejně jako ostatní karbapenemy má širokospektrý antibakteriální účinek proti širokému spektru gramnegativních, grampozitivních i anaerobních bakterií, včetně β -laktamáz s rozšířeným spektrem účinku

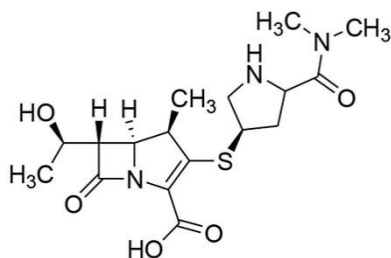
(ESBL) a *Enterobacteriaceae* produkujících AmpC. Studie in vitro zahrnující izoláty od pacientů na jednotkách intenzivní péče (JIP) ukazují, že meropenem je účinnější proti většině gramnegativních patogenů než jiné srovnávací látky (včetně imipenemu), ačkoli ve srovnání s imipenemem je meropenem méně účinný proti většině grampozitivních organismů (Hurst, 2000).

Prokázal dobrou in vitro aktivitu proti klinicky významným enterobakteriím (*Citrobacter freundii*, *C. koseri*, *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae* complex, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris* a *Serratia marcescens*). Byl účinný proti ESBL a AmpC produkujícím enterobakteriím, přičemž hodnoty MIC₉₀ se ve srovnání s kmeny neprodukujícími ESBL a AmpC nelišili téměř vůbec. Naopak slabou aktivitu vykazoval u meticillin/oxacilin rezistentním stafylokokům a proti *Enterococcus faecalis* (Baldwin, 2008).

Jak již víme, meropenem je rezistentní proti většině β -laktamáz, včetně ESBL a AmpC, ale může být ovlivněn karbapenemázami jako jsou například metallo- β -laktamázy, serinové karbapenemázy a oxacil-linázy s karbapenemázovou aktivitou (Baldwin, 2008). Rezistence vůči β -laktamovým antibiotikům zahrnuje několik mechanismů, včetně produkce β -laktamáz, modifikace PBPs získáním genu nebo změnou cílové struktury, regulace efluxních pump a ztrátou porinu vnější membrány (Dhilon, 2018).

Meropenem je schválen pro použití u širokého množství závažných (např. bakteriálních sepsí, komplikovaných infekcí nitrobřišních, komplikovaných infekcí kůže a kožních struktur, meningitid, pneumonie, febrilní neutropenie atd.) (Baldwin, 2008).

Dle vědeckých studií má meropenem příznivý bezpečnostní profil. Výskyt nežádoucích účinků byl podobný jako u imipenemu a jako u léků na bázi cefalosporinů a klindamycinu, se kterými byl srovnáván. Nejčastějšími nežádoucími účinky hlášenými u meropenemu byly průjem, vyrážka a nevolnost či zvracení (Linden, 2007). Jeho téměř nulový sklon k vyvolávání záchvatů znamená, že je vhodný pro léčbu bakteriální meningitidy a je jediným karbapenemem schváleným pro její léčbu (Baldwin, 2008).



Meropenem

Obrázek 4: Struktura meropenemu (El-Gamal, 2017), upraveno

2.2.5 Ertapenem

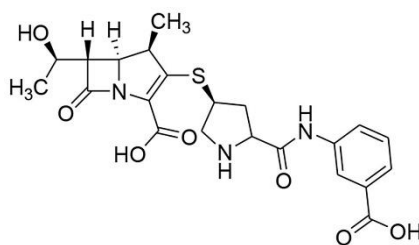
Ertapenem patří do třídy karbapenemů účinkujícím proti většině gramnegativním, grampozitivním, anaerobním i aerobním bakteriím, je účinný i proti bakteriím tvořící širokospektrou beta-laktamázu (ESBL, AmpC). Byl syntetizován roku 2001. Od ostatních karbapenemů se liší nízkou účinností proti *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter species*, čímž je jeho použití určeno spíše pro léčbu komunitních než nozokomiálních nákaz. Díky dlouhému poločasu účinku je vhodný pro pacienty v ambulantní nebo domácí péči (Beneš, 2011). V Evropské unii je registrován k léčbě nitrobřišních a gynekologických infekcí či komunitní pneumonie. Jinde ve světě, včetně USA, je ještě k tomu registrován pro léčbu infekcí kůže a kožních struktur nebo pro UTI (Livermore, 2003). Je nejcitlivější k účinku karbapenemáz, což je využíváno v diagnostice. Tato diagnostika má vysokou senzitivitu, ale malou specifickou.

Molekula ertapenemu má základ v molekule meropenemu, ke které je připojena kyselina benzoová. Podobně jako meropenem má na 1. uhlíku v pětičlenném řetězci metylovou skupinu, který ho chrání před rozkladem dehydropeptidázou produkovanou ledvinovými tubuly. Hydroxyethylová skupina, jež je připojena k betalaktamovému kruhu, zajišťuje ochranu proti většině beta-laktamázám (Beneš, 2011). V důsledku téměř stejného složení molekuly s meropenem, tak stejně i ertapenem nejlépe váže PBP2 u *Escherichia coli*, poté PBP3, ale dobrou afinitu má i k PBP1a a PBP1b. Rozdíly propustnosti pro porovnání ertapenemu a meropenemu nebyly zaznamenány, ale z logiky věci vyplývá, že ertapenem jako větší a negativně nabitá molekula nejspíše prostupuje gramnegativními bakteriemi pomaleji (Livermore, 2003).

Podání ertapenemu je shodné jako u ostatních karbapenemů, intravenózně či intramuskulárně, vstřebávání orální cestou je zanedbatelné (Curran, 2003; Beneš, 2011; Livermore, 2003).

Vylučování ertapenemu je z 80 % močí (ledvinami), a z 10 % stolicí. U pacientů s poruchou ledvin by měla být denní dávka antibiotika upravena, aby nedošlo k akumulaci v organismu.

Stejně jako ostatní karbapenemy, tak i ertapenem neměl téměř žádné nežádoucí účinky. U většiny pacientů s komplikovanými infekcemi po intravenózním podáním byly vedlejší účinky mírné až střední. Nejčastěji byl hlášen průjem, nevolnost, bolest hlavy, vaginitida, zánět povrchových žil a zvracení. Po intramuskulárním podání byly nežádoucí účinky téměř nulové, byly hlášeny lokální příznaky v místě vpichu, jako je přecitlivělost, bolest či krevní výrony. Záchvaty byly hlášeny vzácně. (Keating, 2005; Pramod, 2003).



Ertapenem

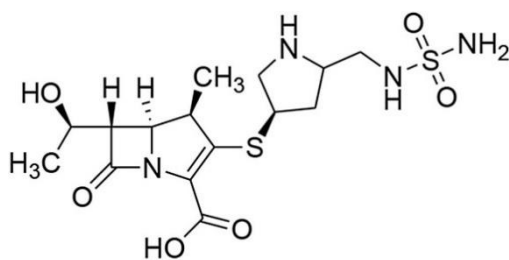
Obrázek 5: Struktura ertapenemu (El-Gamal, 2017), upraveno

2.2.6 Doripenem

Doripenem je širokospektré antibiotikum s podobnou účinností jako ostatní karbapenemy. In vitro aktivitou proti grampozitivním bakteriím je podobný imipenemu a proti gramnegativním bakteriím meropenemu. Rozdíl od ostatních karbapenemů tkví ve vynikající aktivitě proti *Pseudomonas aeruginosa*, protože je odolnější proti kmenům, které jsou schopny zvyšovat svou resistenci pomocí modifikace porinů (So Won Kim, 2018).

Byl schválen americkým úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) roku 2007 pro léčbu komplikované nitrobršňní infekce a infekce močových cest (Paterson, 2009). Původně byl registrován pro země evropské unie, v České republice však nikoli. Na žádost výrobce byla jeho registrace v evropské unii zrušena v roce 2014. Důvod není zcela znám,

ale bylo to nejspíše v souvislosti se zvýšenou mortalitou pacientů na doripenemu pro léčbu ventilátorové pneumonie (Beneš, 2018).



Doripenem

Obrázek 6: Struktura doripenemu (El-Gamal, 2017), upraveno

2.3 Karbapenemy s inhibitory

Tazobaktam, kyselina klavulanová či sulbaktam jsou starší inhibitory β -laktamáz. Podporují aktivitu β -laktamů proti některým enterobakteriím, které produkují β -laktamázy třídy A. Bohužel však nemají žádnou aktivitu proti karbapenemázám a ani proti enzymům třídy C, včetně AmpC. Proto byly vyvinuty nové inhibitory β -laktamáz, relebaktam a vaborbaktam, které jsou schopny ničit i karbapenem-rezistentní gramnegativní bakterie. Jsou to první inhibitory, které byly vyvinuty pro použití s imipenemem a meropenemem. Oba dva prokazují *in vitro* aktivitu proti beta-laktamázám třídy A (např. KPC) a beta-laktamázám třídy C (např. AmpC) (Zhanel, 2017).

2.3.1 Imipenem – Relebaktam

Přesněji imipenem/cilastatin/relebaktam je intravenózně podávané léčivo, které je složeno z kombinace imipenemu, cilastatinu, inhibitoru renální dehydropeptidázy-I, a inhibitoru β -laktamáz relebaktamu. Relebaktam je inhibitor pro beta-laktamázy třídy A a C, který dává imipenemu schopnost působit proti kmenům necitlivým na imipenem/cilastatin. Tato trojkombinace léčiva je schválena pro užívání v USA a EU k léčbě nozokomiálních infekcí (Heo, 2021).

Relebaktam nemá sám o sobě žádnou antibakteriální aktivitu, slouží pouze k ochraně imipenemu před beta-laktamázami třídy A a C. Imipenem nechrání před metalo- β -laktamázami třídy B ani proti oxacilinázám třídy D. Jeho aktivita tkví ve snižování MIC imipenemu

dva až stovacetiosminásobně proti ESBL nebo KPC produkujícím enterobakteriím (Heo, 2021).

Používá se pro léčbu komplikovaných nitrobřišních infekcí či infekcí močových cest (Campanella, 2020). Tato trojkombinace je vhodná i k léčbě infekcí způsobených *Pseudomonas aeruginosa* rezistentních ke karbapenemům (Lob, 2019).

2.3.2 Meropenem – vaborbaktam

Meropenem – vaborbaktam byl první kombinací karbapenemu s novým cyklickým inhibitorem beta-laktamázy na bázi kyseliny boronové. Kombinace meropenemu a vaborbaktamu byla vybrána z důvodu širokospektré in vitro aktivity, velkému bezpečnostnímu profilu a velké účinnosti v léčbě gramnegativních infekcí tohoto karbapenemu. Tato dvojkombinace prokázala silnou in vitro aktivitu proti gramnegativním patogenům produkující karbapenemázy, hlavně *Klebsiella pneumoniae* (Wenzler, 2020).

Vaborbaktam byl dříve kombinován s biapenemem, což je karbapenemem uváděný na trh v Japonsku. Ve srovnání s meropenemem vykazuje biapenem stabilitu vůči některým β -laktamázám třídy B a D. Tato kombinace není na trh uváděna z důvodu lepších bezpečnostních výsledků meropenemu a problémem registrace biapenemu v ostatních zemích (Zhanel, 2018).

Je schválen k léčbě komplikovaných infekcí močových cest včetně pyelonefritidy, pneumonií, včetně pneumonie spojené s ventilátory, pro léčbu komplikovaných nitrobřišních infekcí a bakteriémie (Bhavnani, 2022).

3 REZISTENCE NA ANTIBIOTIKA

Rezistence antimikrobiálních látek je velký problém v humánní medicíně, veterinární medicíně ale i v zemědělství. Byl prokázán vztah mezi nesprávným užíváním antibiotik a narůstající rezistencí bakterií. Masivní zneužívání antibiotik při chovu zvířat ve veterinární medicíně vede k rozvoji rezistentních kmenů, které se mohou šířit i na lidskou populaci (Štefan, 2019).

Základní prevence vzniku a šíření rezistence tkví v omezení užívání antibiotik (dávka léčiva by měla několikanásobně převyšovat MIC dané bakterie), zkrácení délky užívání léčiva a prevenci šíření nozokomiálních nákaz. Vhodná kombinace několika antibiotik může také snížit riziko vzniku rezistence, což neplatí všeobecně, nesprávná kombinace léčiv naopak může ke vzniku rezistence přispět (Štefan, 2019).

U některých bakterií se nachází přirozená rezistence na antibiotika, která je dána strukturou jejich buňky nebo metabolismem. Máme několik důvodů přítomnosti přirozené rezistence, např. buňka nemá transportní systém, který by byl schopen dopravit antibiotikum do buňky, nebo se v buňce nenalézá cílová struktura, na kterou antibiotikum působí, nebo mají buněčnou stěnu nepropustnou pro daný druh léčiva. Dále může buňka přirozeně produkovat beta-laktamázy nebo může jít o aktivní transport antibiotika z buňky, tzv. eflux (Schindler, 2014; Štefan, 2019).

Velkým problémem pro budoucnost antibiotik je získaná rezistence antibiotik, kdy se původně citlivé bakterie po čase stávají rezistentní. Získaná rezistence může být geneticky podložena mutací či přenesením genu pro rezistenci pomocí plazmidu nebo transpozomu (Votava, 2005).

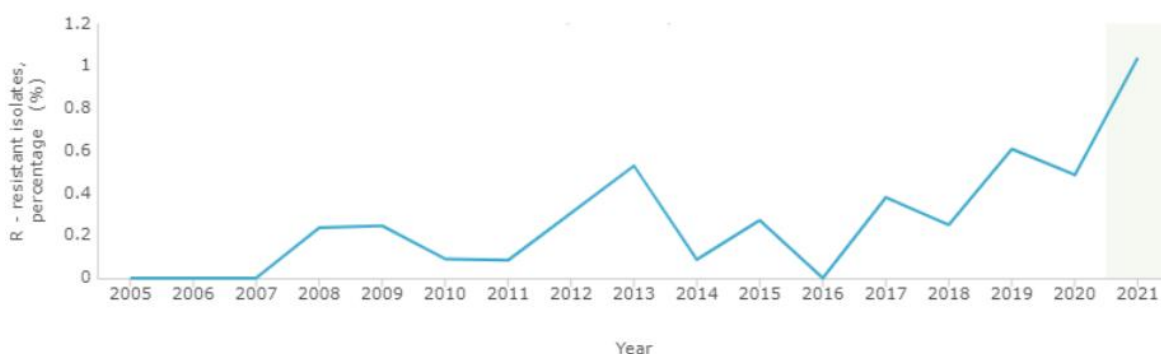
3.1 Mechanismy rezistence

3.1.1 Enzymatická inaktivace

Jedná se o velmi častý typ rezistence. Dochází k ní v případě, že molekula antibiotika byla rozštěpena nebo k ní byla připojena postranní skupina (Beneš, 2018). Tento typ šíření rezistence je nejvýznamnější, protože je pro buňku energeticky výhodnější, nejnebezpečnější je horizontální přenos.

Typickým příkladem enzymatické inaktivace je produkce beta-laktamáz, které mají schopnost inaktivovat beta-laktamy. Jejich funkce spočívá ve štěpení amidové vazby beta-

laktamového kruhu. Beta-laktamázy se podle Amblera klasifikují do čtyř tříd podle aminokyselinové struktury označovaných jako A, B, C a D. Zatímco aktivním místem tříd A, C a D je serin, u třídy B je to metalo- β -laktamáza. Funkční rozdělení podle K. Bush je do tří skupin, na cefalosporinázy, serinové betalaktamázy (penicilinázy a cefalosporinázy) a metalo- β -laktamázy (MBLs). Serinové betalaktamázy jsou jako jediné inhibovány kyselinou klavulanovou. Beta-laktamázy s rozšířeným spektrem účinku (ESBL) jsou enzymy produkováné bakteriemi, které jsou schopny hydrolyzovat penicilíny a cefalosporiny s rozšířeným spektrem působnosti. AmpC jsou chromozomální beta-laktamázy rezistentní proti cefalosporinům a inhibitorům beta-laktamáz s kys. klavulanovou, sulbaktamu a tazobaktamu, naopak inhibitory jako avibaktam, relebaktam a vaborbaktam proti nim zůstaly účinné. Karbapenemázy produkované gramnegativními organismy byly vzácné, ale jejich výskyt se v posledních letech v České republice razantně zvýšil. V celosvětovém měřítku zaznamenáváme zvýšený výskyt v posledních dvou desetiletích. (Lai, 2022; Bush, 2010).



Obrázek 7: Rezistentní izoláty *Klebsiella pneumoniae* na karbapenemy (*Surveillance Atlas of infectious disease*)

3.1.2 Snížená intracelulární koncentrace

Může nastat například díky snížení propustnosti. To může být v důsledku odlišné stavby buněk gramnegativních a grampozitivních bakterií. Gramnegativní bakteriální buňky mají zevní membránu tvořenou z pevně vázaných lipopolysacharidů, která funguje jako bariéra. Molekuly hydrofilních látek se do buňky dostávají pomocí porinů, kterých si každá bakteriální buňka vytváří několik druhů. Rychlost průniku antibiotik do bakteriální buňky je závislá na počtu a vlastnostech těchto kanálků. Omezení vstupu antibiotik přes poriny spočívá v omezení množství příslušných porinů, kterými prochází antibiotikum, nebo jejich zúžení či změnou náboje v kanálcích. Obecně platí, že čím větší je molekula antibiotika, čím je negativněji nabitá a čím větší je stupeň hydrofobicity, tím menší je pravděpodobnost, že pronikne vnější membránou do buňky. Ke snížení nebo ztrátě porinů často dochází

u klinických izolátů a výsledkem je mnohonásobná rezistence vůči antibiotikům (Beneš, 2019; Lai 2022).

K odstraňování nežádoucích látek z cytoplazmy jsou využívány efluxní systémy. Skládají se z energeticky závislých membránových transportních systémů, které odčerpávají molekuly z cytoplazmy i proti koncentračnímu gradientu. Jejich omezení spočívá v omezené kapacitě, za jednotku času dokáží vypumpovat jen určité množství molekul (Beneš, 2018, Lai, 2022).

Dalším způsobem pro snížení koncentrace léčiva v buňce je změna cílového místa, která může být zapříčiněna mutací genu cílového enzymu anebo změnou napadené metabolické dráhy. Změny mohou nastat například na ribosomech, na prekurzoru buněčné stěny, na PBPs a v enzymech pro replikace DNA. (Aurilio, 2022). Ochrana ribozomů je zprostředkována proteiny chránícími ribozomy (RPP). Tyto RPPs chrání ribozom před působením tetracyklinu tím, že ruší vazbu tetracyklinu na ribozom (Lai, 2022).

3.2 Šíření rezistence

Rezistence je geneticky podmíněná a dědí se stejně jako ostatní genetické informace. Máme dva druhy šíření: klonální (vertikální), z mateřských buněk na dceřiné, a horizontální, které je založeno na přenosu genetické informace mezi klony, různými druhy, rody nebo taxonomickými útvary. Horizontální šíření se může uskutečnit třemi způsoby. Konjugací, což je přímý přenos genetické informace z jedné bakteriální buňky do druhé pomocí speciálního výběžku cytoplazmy. Transdukcí, kde je přenos informace zprostředkován virem, bakteriofágem. Transformací, kde bakterie dostávají informace přímo z okolního prostředí, nejčastěji z uhynulých bakterií (Beneš, 2018).

Horizontální šíření rezistence může být zprostředkováno mobilními genetickými elementy, plazmidy a transpozony. Transpozony v buňce přesouvají a přeskupují chromozomální DNA, mohou se přesouvat v rámci chromozomu, ale i mezi bakteriálními buňkami pomocí plazmidů (Frost, 2005). Plazmidy jsou malé extrachromozomální úseky DNA nacházející se v cytoplazmě. Buňky mohou využívat plazmidovou DNA jako vlastní DNA, ale mohou se také plazmidů lehce zbavit (Beneš, 2018).

3.3 Rezistence na karbapenemy

Rezistence na karbapenemy je u některých rodů vrozená. Rezistence ke karbapenemům není častá, ale zvyšuje se záhyt invazivních izolátů. Zatímco grampozitivní bakterie jsou rezistentní ke karbapenemům díky mutacím způsobujícím změny PBPs, tak gramnegativní bakterie využívají jiné mechanismy, například snížení propustnosti zevní membrány, efluxem nebo produkcí karbapenemáz. Karbapenemázy štěpí všechny druhy beta-laktamů. Mezi bakterie nejčastěji produkují získané karbapenemázy patří např. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter species*, *Citrobacter species*, *Acinetobacter species* a *Pseudomonas aeruginosa*. Nejčastějšími karbapenemázami jsou KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) a NDM-1 (New Delhi metallo-beta-lactamase). Bohužel, v posledních letech dochází i u nás k zvýšení výskytu těchto karbapenemáz. Výskyt ve zdravotnických zařízeních k časné kontrole šíření vyžaduje naléhavá opatření, jako je správná identifikace typu rezistence a důsledná izolační opatření u pacienta. Bakterie rezistentní na karbapenemy jsou často rezistentní i na ostatní nepříbuzná léčiva. Ve vysoce nákladné terapii se často používá kolistin jako léčivo poslední záchrany a novější karbapenemy společně s inhibitory (Štefan, 2019; Meletis 2015).

3.3.1 Karbapenem-rezistentní enterobakterie

CRE jsou enterobakterie, které mají získanou rezistenci k nejméně jednomu karbapenemu (např. epidemiologicky významná produkce karbapenemáz). CRE tvoří heterogenní skupinu patogenů s mnoha potenciálními mechanismy rezistence, které se obecně dělí na ty, které produkují karbapenemázy, a ty, které karbapenemázy neprodukují. Fenotypové testy, biochemické testy, jako je modifikovaná metoda inaktivace karbapenemů (např. komerční test Carba NP) a imunochromatické testy, mohou pomoci rozlišit CRE produkující karbapenemázu a CRE neprodukující karbapenemázu. Molekulární testy mohou identifikovat specifické rodiny karbapenemáz (Tamma, 2021).

4 ENTEROBACTERIACEAE

Největší čeleď gramnegativních tyček. Zahrnuje přes 53 rodů a stovky druhů bakterií. Enterobakterie jsou gramnegativní, fakultativně anaerobní tyčinky nenáročné na kultivaci. Vyskytují se přirozeně v zažívacím traktu člověka i zvířat, s jejich výkaly se dostávají do půdy a odpadních vod, tudíž jejich přítomnost v životním prostředí je důkazem fekálního znečištění (Kolářová et al., 2020; Jindrák 2014; Schindler, 2014).

4.1 Charakteristika

Jsou to bakterie kataláza-pozitivní, oxidáza negativní, jsou biochemicky aktivní, nevytvářejí spory, redukují nitráty a fermentují glukózu. Optimální teplota pro jejich růst je 37°C. Až na klebsiely, yersinie a shigely jsou všechny enterobakterie pohyblivé, tudíž mají jeden či více bičíků. Na jejich povrchu se nacházejí fimbrie (pili) sloužící buď k přilnutí ke specifickým receptorům, nebo k výměně informací pomocí horizontálního přenosu (Kolářová et al., 2020; Jindrák 2014).

Antigenní struktura spadá do OHK systému. Lipopolysacharid nacházející se na buněčné stěně nazýváme jako O antigen a je termostabilní. Ten se skládá ze tří částí: vnější somatický O polysacharid významný pro klasifikaci kmenů a pro epidemiologické účely, core polysacharid přítomný u všech enterobakterií a lipid A, endotoxin všech enterobakterií. H antigen je tvořen bičíky buňky, tudíž se nachází pouze u pohyblivých druhů. K antigeny jsou termolabilní a jsou dvojího druhu, kapsulární a antigeny fimbrií (Holt, 2022; Kolářová et al., 2020; Schindler, 2014).

4.2 Laboratorní diagnostika

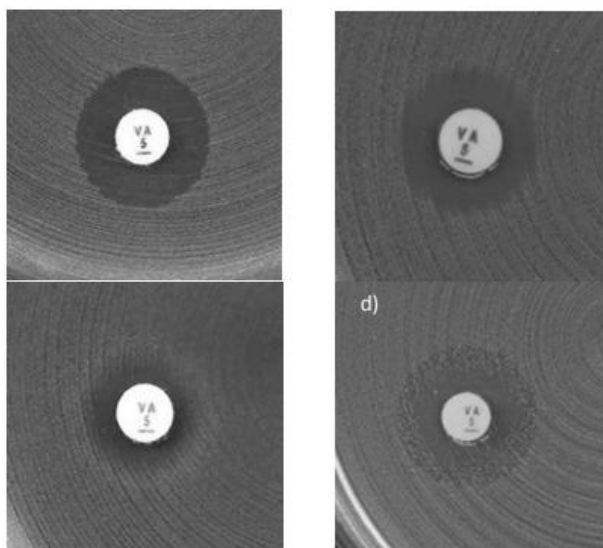
Bakterie rostou v termostatu při 37°C na běžných kultivačních půdách. K selekci mikrobů se používají půdy s obsahem laktózy a pH indikátorem, což je MacConkeyho nebo Endův agar. Inhibitor růstu bakterií v Endově agaru je bazický fuchsin, inhibitor pro štěpení laktózy je Schiffovo činidlo, což je bazický fuchsin odbarvený siřičitanem sodným. Bakterie, které štěpí laktózu, zde rostou v rudých koloniích, kolikrát se zlatožlutým kovovým odleskem, půda okolo nich se také barví dočervena. Obarvení nastává díky přítomnosti siřičitanu, kvůli kterému se při metabolismu laktózy hromadí v půdě acetaldehyd, který reaguje se Schiffovým činidlem za vzniku rudého zbarvení. Bakterie neštěpící laktózu zde rostou v bezbarvých, průsvitných koloniích. Pohyblivé kmenu rodu *Proteus* se po povrchu Endova agaru plazí. MacConkeyho agar obsahuje laktózu a též rozlišuje bakterie na štěpící a neštěpící laktózu, zde je indikátorem neutrální červeň. Laktózu štěpící kmény

zde rostou v růžových či až červených koloniích, jejich okolí může být zbarveno do růžova. Kmeny laktózanegativní jsou opět v bezbarvých koloniích. Salmonely mohou být diagnostikovány díky produkci sirovodíku na XLD a DC půdách. K druhové identifikaci se využívá metoda MALDI-TOF MS (Kolářová et al., 2020; Votava, 2005).

4.3 Vyšetření citlivosti bakterií k antibiotikům

Vyšetření citlivosti na antibiotika můžeme provést buď kvantitativně či kvalitativně.

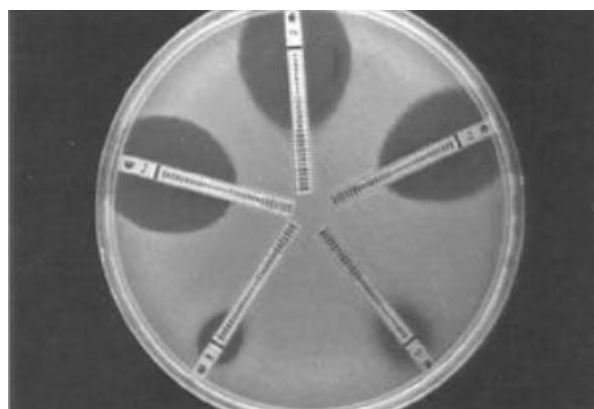
Kvalitativním vyšetřením je desková difuzní metoda, která umožňuje stanovení citlivosti k širokému spektru antibiotických léčiv. Tudíž díky němu můžeme stanovit, zda je daný mikrob citlivý či nikoliv. Je součástí rutinní diagnostiky, je levná, rychlá a jednoduchá na provedení. Umožňuje vyšetřit velké množství mikrobů na pestré škále antibiotik (Kolářová et al, 2020). Agarová plotna se rovnoměrně naočkuje suspenzí mikrobů, rozloží se na ní antibiotické disky a nechá se inkubovat 18-24 hodin při 37 °C. Využívá se tu tzv. fenoménu inhibiční zóny, ten spočívá v tom, že daný mikrob, citlivý na dané antibiotikum, okolo disku s antibiotikem neroste. Kolem disků se vytvoří zóny inhibice růstu bakterie. Poté se tato zóna změří, obvykle v milimetrech (Schindler, 2014; Votava 2005). Vyhodnocení spočívá v porovnání inhibiční zóny s tzv. breakpointy, což jsou koncentrace antibiotika oddělující citlivé a rezistentní bakterie arbitrárně stanovené dohodou odborných společností (v Evropě zaveden společností ECDC dle pravidel skupiny EUCAST). Veškerá rozmezí breakpointů lze dohledat na internetových stránkách EUCAST. Pokud je inhibiční zóna větší, než breakpoint je bakterie označena za citlivou, rezistentní je v případě, že mikrob vytvořil menší inhibiční zónu (Kolářová et al, 2020; Urbášková, 2010).



Obrázek 8: Disková difuzní metoda (Giske, 2017)

Diluční metoda je naopak kvantitativním vyšetřením, tudíž slouží ke zjištění míry citlivosti nebo rezistence. Test se provádí v serologických mikrodestičkách, jejichž jamky jsou vyplněny médiem s obsahem stoupající koncentrace daných antibiotik. Jehlovým inokulátorem se bakteriemi naočkují důlky a nechají se inkubovat. Po inkubaci se prohlédne zákal jamek. V případě, že v jamce nevznikne zákal, antibiotikum inhibovalo v dané koncentraci růst bakterií. Nejnižší koncentrace antibiotik v jamkách, která ještě zabránila růstu bakterií, se označuje jako minimální inhibiční koncentrace (MIC) (Schindler, 2014; Votava 2005).

Jednodušší ale finančně náročnější kvantitativně difuzní metodou je tzv. E-test. Jde o papírový proužek, který je nasycen antibiotickou látkou ve vzestupné koncentraci, která je vyznačena na proužku. Proužek se pokládá na naočkovanou půdu. Po inkubaci se na misce utvoří inkubační zóna „slzičkového“ tvaru a odečítá se hodnota, ke které sahá špička slzy (Schindler, 2014; Votava 2005, Kolářová et al, 2020).

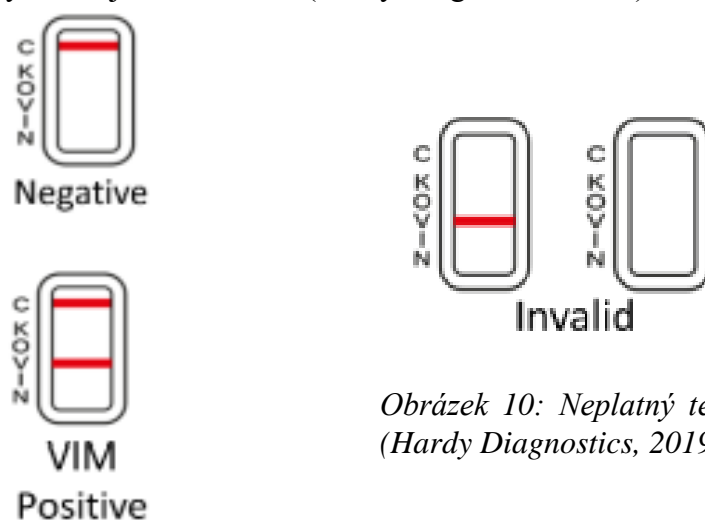


Obrázek 9: E-test (Sader, 1994)

4.3.1 Detekce beta-laktamáz

Pro snadnou a rychlou identifikaci producentů karbapenemáz u enterobakterií bylo komerčně uvedeno na trh velké množství různých testů. Velmi rozšířený je např. biochemický test vytvořený Nordmannem a spol. (Carba NP test). V tomto testu jsou využívány izolované bakteriální kolonie a jeho principem je in vitro hydrolýza imipenemu. Jako indikátor je zde použita fenolová červeň, která zjišťuje produkci karbapenemáz na základě poklesu pH, při které tento indikátor změní barvu z červené na oranžovou nebo žlutou. Jelikož pokles pH je zapříčiněn hydrolýzou beta-laktamového kruhu, je zde nízké riziko falešně pozitivních výsledků. Touto metodou mohou být detekovány karbapenemázy všech skupin. Tento test není nijak časově náročný, trvá cca dvě hodiny (Nordmann, 2012).

K detekci karbapenemáz v Nemocnici na Homolce se využívá imunochromatografický test CARBA 5 od firmy NG-biotech, který je schopen detekovat až pět různých karbapenemáz v bakteriálních koloniích, jedná se o KPC, OXA-48 like, IMP, VIM a NDM. Součástí sady je extrakční pufr, který se používá jako roztok lyzující buňky po smíchání s kolonií. Myší monoklonální protilátky jsou imobilizovány na testovacích zónách v nitrocelulózové membráně (K pro KPC, O pro OXA, V pro VIM, I pro IMP a N pro NDM). Test spočívá v nakapání vzorku smíchaným s extrakčním pufrům do kazetkové jamky. Vzorek migruje díky kapilárním silám ke konjugací podložce a v přítomnosti dané karbapenemázy reaguje s myšími monoklonálními protilátkami imobilizovanými v testovacích zónách. Test obsahuje kontrolní proužek C, který je tvořen značeným streptavidinem a monoklonálními protilátkami. Ty reagují s biotin-BSA a kozími polyklonálními protilátkami imobilizovanými na membráně namířené proti myším monoklonálním protilátkám. Vzorek je pozitivní v případě, že se objeví červený proužek v kontrolní zóně C a v jedné nebo více testovacích zónách. V případě negativity se objeví červený proužek jen v místě kontrolní zóny C. Pokud se neobjeví proužek v oblasti kontrolní zóny C, test je neplatný. Test není nijak časově náročný, výsledek je do 20 minut (Hardy Diagnostics, 2019).



Obrázek 10: Neplatný test CARBA 5 (Hardy Diagnostics, 2019)

Obrázek 11: Pozitivní a negativní test CARBA5 (Hardy Diagnostics, 2019)

Karbapenemázy je možné předběžně určit pomocí fenotypových testů jako je například průkaz metalo- β -laktamáz či průkaz KPC, popřípadě lze využít k jejich detekci i molekulárně-mikrobiologické techniky (PCR, mikročipy). Tyto testy ale slouží pouze jako doplňkové a jejich negativní výsledek nesmí být považován za vyloučení produkce karbapenemázy (Věstník ministerstva zdravotnictví České republiky, 2012). Fenotypový průkaz MBL je prováděn na základě synergie chelátorů kovových iontů (např. EDTA) a imipenemu,

meropenemu a ceftazidimu. Fenotypový průkaz KPC je založen na schopnosti některých látek inhibovat tyto enzymy. Jedná se především o kyselinu fenylboritou a její deriváty (Hrabák, 2011).

K detekci karbapenemáz se využívá i hmotnostní spektrometr MALDI-TOF. Umožňuje zobrazovat látky i o velmi malé molekulové hmotnosti. Tato metoda je navržena k rutinní praxi, tudíž není nijak náročná ani finančně nákladná. Tato metoda umožňuje detekci molekul karbapenemu, jeho degradačních produktů nebo jeho solí, podle čehož zjistí či nezjistí přítomnost karbapenemáz. Za producenta karbapenemázy můžeme považovat kmen, ve kterém se nachází alespoň jedna molekula jeho degradačního produktu (Hrabák, 2012). MALDI-TOF dokáže detekovat celou řadu enzymů všech tříd, a to včetně karbapenemáz ze skupiny D (Hrabák, 2013). I přes cenovou a časovou nenáročnost má metoda i jistá omezení, která tkví v jisté odborné znalosti pro interpretaci výsledného spektra a nemožnosti identifikace typu enzymu. Proto by i tato metoda měla být doplňována genetickými testy (Hammoudi, 2014).

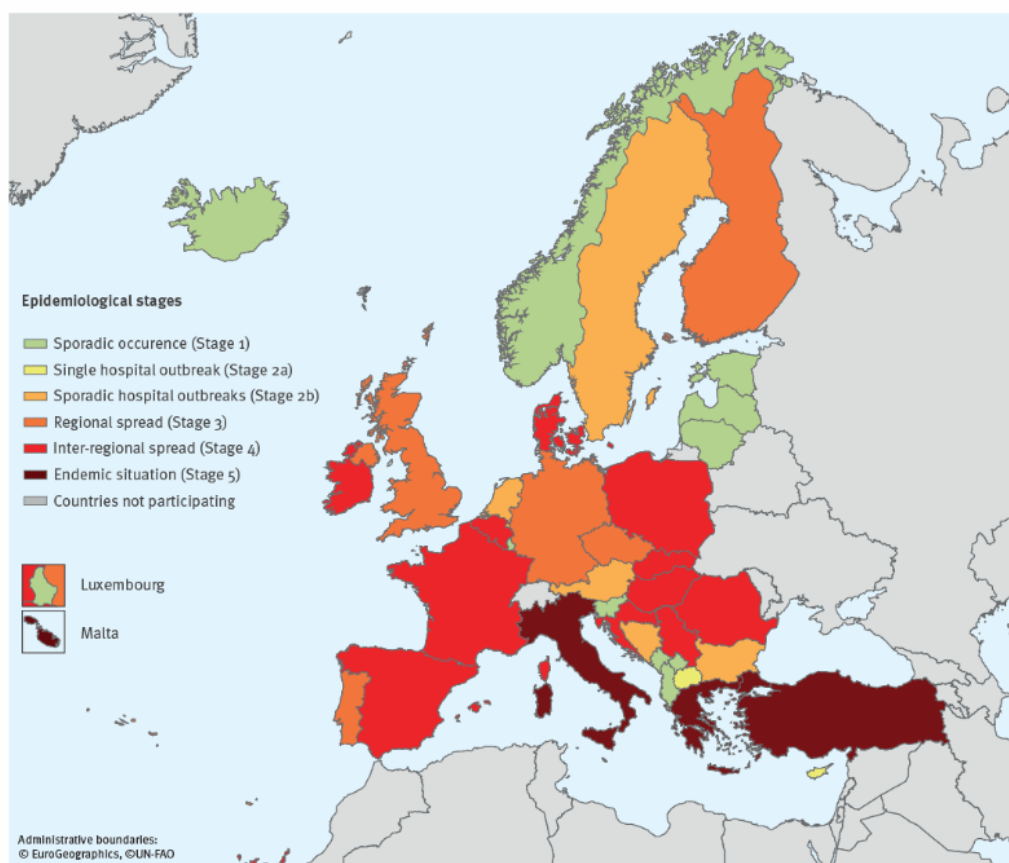
4.4 Výskyt karbapenemáz u pacientů v nemocniční péči

V dnešní době dochází k významnému nárůstu šíření rezistentních gramnegativních bakterií v mnoha zemích celého světa. CPE mají zásadní vliv na léčbu jimi způsobených onemocnění. Nejčastěji se setkáváme s příslušníky čeledi *Enterobacteriaceae* a s druhy *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter baumannii*. Nejvýznamnějším typem rezistence je produkce karbapenemáz, které jsou schopny hydrolyzovat beta-laktamová antibiotika. Mezi nejvíce zaznamenávané druhy rezistence patří enzymy *Klebsiella pneumoniae* karbapenemase (KPC) a metalo-beta-laktamázy u enterobakterií. (Hrabák, 2008). V posledních letech se šíří hojně i karbapenemázy typu oxacilináz.

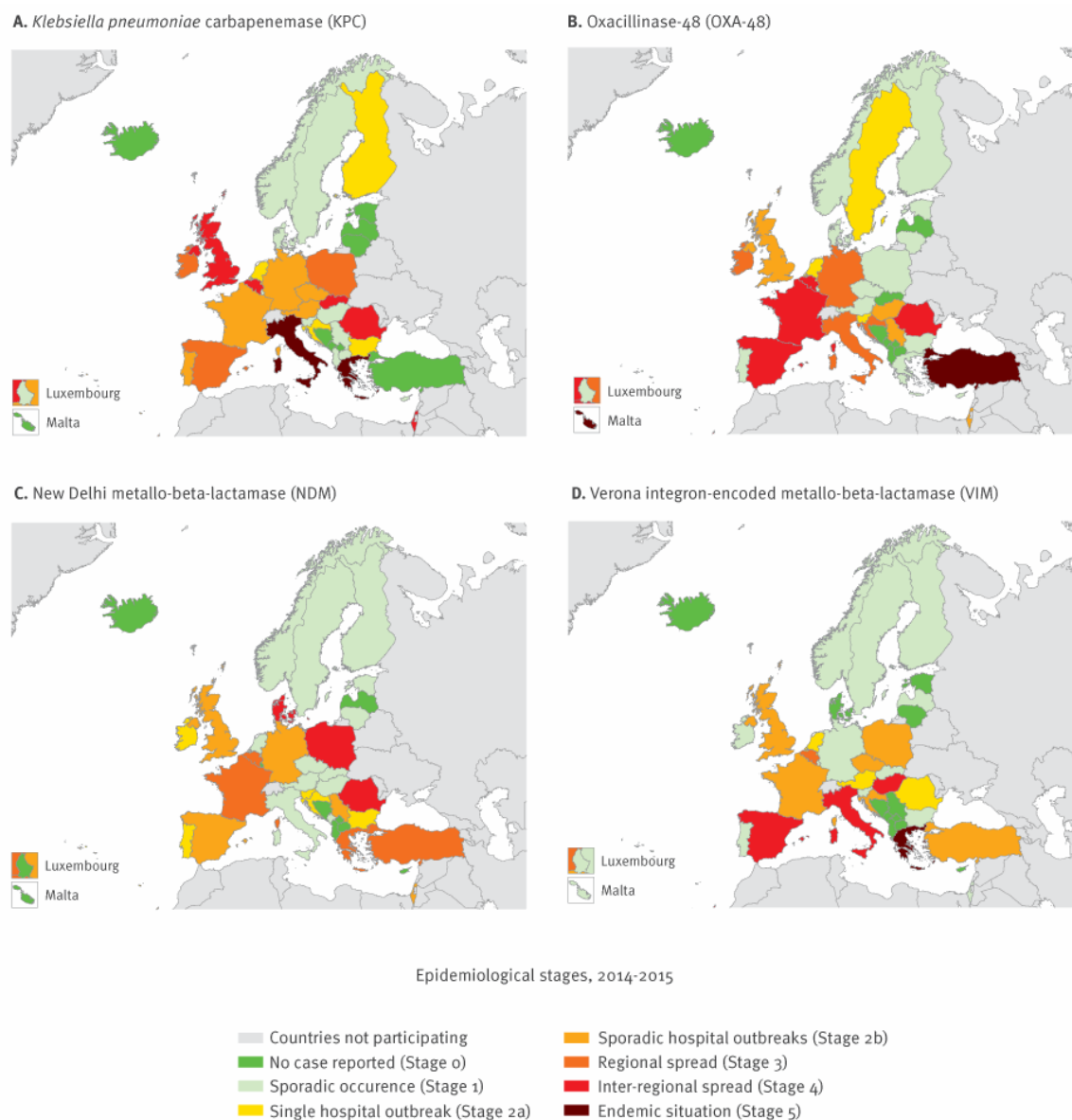
Z důvodu epidemických epizod výskytu CPE v nemocničních zařízení a z důvodu jejich rozšíření do více zdravotnických zařízení je v České republice od roku 2016 patrný nárůst výskytu CPE. I přes to je jejich výskyt v ČR nízký oproti jiným evropským státům. V předešlých letech byly nálezy KPC ve spojení s importem ze zemí s vysokým výskytem těchto enterobakterií, v posledních letech dominuje spíše lokální přenos (Žemličková, 2020).

Stejně jako k nárůstu komunitních onemocnění tak i k rozšíření rezistence na karbapenemy pomáhají mezinárodní konflikty, které podporují migraci obyvatelstva či sníženou starost o rizikové faktory, výjimkou není ani vojenský konflikt na Ukrajině. K rozšíření tohoto typu rezistence přispěla i celosvětová pandemie COVID-19.

V České republice byl první zjištěný výskyt CPE v roce 2009. Od roku 2018 je u nás výskyt regionální. Od roku 2015 do roku 2018 je znatelný rostoucí trend ve výskytu CPE, z čehož se dá odvozovat i nárůst i v nastávajících letech až po současnost. V roce 2018 nahlásilo 37 zúčastněných zemí případy CPE, zatímco v roce 2015 tři země ještě neidentifikovaly ani jeden případ. Celkem 11 zemí hlásilo vyšší epidemiologický stupeň CPE než v roce 2015, 25 zemí nepopsalo žádnou změnu a jedna země hlásila po zvládnutí nemocničního ohniska zlepšení epidemiologické situace CPE. Nejhorší situace v rozšíření rezistentních enterobakterií je v jižní a v jihovýchodní Evropě (Brolund, 2019).



Obrázek 12: Epidemiologická situace enterobakterií produkujících karbapenemázy (Brolund, 2019).



Obrázek 13: Enterobakterie produkující karbapenemázu v Evropě (Albiger, 2015)

4.5 Podrobnější charakteristiky klinicky významných rodů

4.5.1 *Escherichia coli*

Je nejvýznamnějším zástupcem rodu *Escherichia*. Přirozeně se vyskytuje v gastrointestinálním traktu savců včetně člověka. Jak již bylo řečeno výše, její přítomnost v životním prostředí značí fekální znečištění. Většina kmenů je nepatogenních a člověku prospěšná, její přítomnost ve střevech je důležitá například pro syntézu různých vitamínů a chrání organismus před kolonizací různými patogenními bakteriemi. Avšak některé její kmeny mohou vyvolat onemocnění díky přítomnosti genů, které mají schopnost kódovat faktory virulence. Kultivačně není *E. coli* nijak náročná. Můžeme mít dva druhy *E. coli*, rozdělujeme je

podle místa, kde způsobují infekci – intestinální a extraintestinální (Kolářová et al., 2020; Jindrák, 2014).

Enterotoxická *E. coli* (ETEC) způsobuje průjemové infekce nejčastěji cestovatelů či dětí z rozvojových zemí. Nákaza je zprostředkována infikovanou potravou či vodou, přenos mezi lidmi není možný. Příznaky jsou podobné choleře, ale průběh onemocnění je mírnější. Produkuje dvě skupiny enterotoxinů termostabilní a termolabilní (Kolářová et al., 2020; Schindler, 2014).

Enteropatogenní *E. coli* (EPEC) způsobuje průjmy u novorozenců. Enteroagregativní *E. coli* (EAEC) způsobuje vodnaté průjmy a dehydrataci novorozenců. Enterohemoragická *E. coli* je schopna vyvolat krvácení ve střevě a může vyvolat smrtelný hemoragicko-uremický syndrom. Enteroinvazivní *E. coli* vyvolává průjmy velice vzácně. Uropatogenní *E. coli* (UPEC) je nejčastějším původcem komunitních močových infekcí a má za následek i značnou část nozokomiálních močových infekcí (Kolářová et al., 2020; Schindler, 2014).

4.5.2 *Klebsiella* spp.

Její přirozený výskyt je v gastrointestinálním traktu lidí a zvířat. Spadá sem několik druhů, která způsobují různá onemocnění. Díky své vysoké odolnosti vůči zevnímu prostředí jsou klebsiely častým původcem nozokomiálních infekcí. Buňky nemají bičíky, tudíž jsou nepohyblivé, mají bakteriální pouzdro, jsou biochemicky velmi aktivní. Přenos je většinou důležitý v nemocničním prostředí, zdrojem je typicky gastrointestinální trakt a mohou se šířit kontaktem. Po *E. coli* jsou nejčastějším původcem močových infekcí, ale mohou způsobovat i infekce krevního řečiště a meningitidy. Nejvýznamnější původce je *Klebsiella pneumoniae* a způsobuje často nozokomiálních infekce (Kolářová et al., 2020; Schindler, 2014). Zastoupení *K. oxytoca* je méně časté, ale je původcem podobného spektra onemocnění jako *K. pneumoniae*. *K. granulomatis* je na rozdíl od ostatních klebsiel pohlavně přenosná a způsobuje vředové onemocnění genitálií (Milner, 2016).

4.5.3 *Enterobacter* spp.

Patří mezi nejběžnější enterobakterie, které se nacházejí v gastrointestinálním traktu člověka. Nejvýznamnějšími druhy jsou *E. cloacae* complex a *E. aerogenes*. Biochemickou aktivitou jsou podobné klebsielám, ale pohybují se pomocí bičíků. Mohou způsobovat infekce močových cest ať už komunitní nebo nozokomiální. Dále jsou schopny vyvolávat pneumonie, infekce krevního řečiště, sepse či meningitidy (Kolářová et al., 2020; Chavda, 2016).

PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL A ÚKOLY PRÁCE

5.1 Hlavní cíl

Hlavním cílem mé práce bylo zanalyzovat výsledky detekce karbapenemáz od června roku 2021 do konce roku 2022 v Nemocnici na Homolce v Praze.

5.2 Dílčí cíle

1. Seznámit se podrobněji s pojmem „Antibiotika“.
2. Seznámit se s vlivem antibiotik na lidský organismus.
3. Zjistit více o rezistenci antibiotik.
4. Seznámit se s čeledí *Enterobacteriaceae* a blíže s jejími klinicky významnými rody.

6 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY

Na základě cílů jsem stanovila tyto výzkumné otázky:

1. Kolik záchtů karbapenémáz bylo v daném období?
2. Jaké druhy karbapenémáz byly zachyceny?
3. Kolika procentní shoda byla s NRL?

7 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

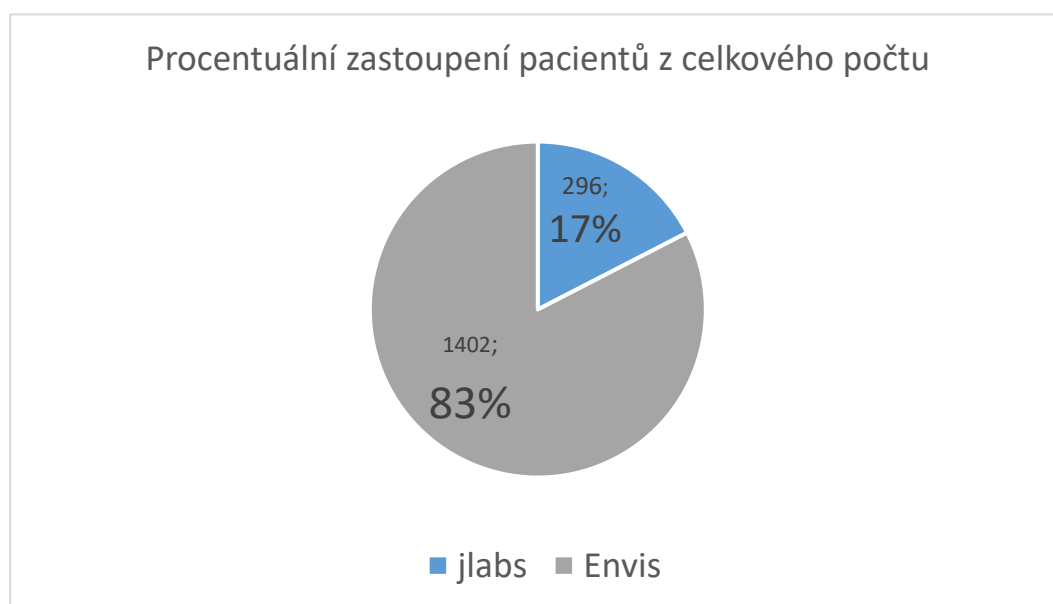
Soubor je tvořen z pozitivních nálezů selektivního screeningu na půdách pro detekci CRE dle nastavených pravidel v NNH. Jedenkrát týdně se provádí rektální screening na JIP, při překladech mimo i v rámci nemocnice na JIP a screening na základě hodnocení individuálního rizika při mikrobiologických konsiliích. Ve sledovaném období se screeningová kritéria nijak neměnila.

Soubor je složen z 2363 pacientů a ze 4873 izolátů. Izoláty jsou unikátní dle metodiky z čeledi *Enterobacteriaceae*, každý druh a rod je u pacienta zařazen pouze jedenkrát. Rozdělení dle věku a pohlaví není pro tuto analýzu stěžejní.

Analýza byla prováděna ze záznamů z nemocničního LIS za období od 1. 6. 2021 do 31. 12. 2022. V tomto období se vystřídal dva informační systémy. V období od 1. 6. 2021 do 4. 10. 2021 byl zdrojem dat informační systém Janiga Labs. Od 4. 10. 2021 se přešlo na informační systém ENVIS, který se v nemocnici využívá nadále.

	Pacienti	Izoláty
jlabs	296	508
Envis	1402	3224
Celkem	1698	3732

Tabulka 1: Počet pacientů a izolátů v jednotlivých systémech a celkem



Graf 1: Procentuální zastoupení pacientů z celkové počtu

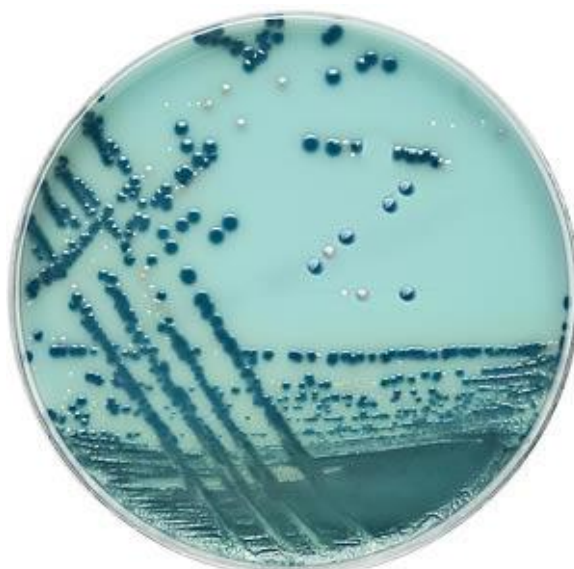
8 METODIKA PRÁCE

Detekce karbapenemáz v Nemocnici na Homolce je prováděna od roku 2021 podle jasně daného algoritmu, kterým by se měly řídit veškeré odběry screeningových vzorků.

Provádí se vstupní a periodický screening. Vstupní se provádí výběrově při příjmu pacienta do nemocnice, při překladech na JIP NNH z jiné nemocnice, při překladech na JIP v rámci NNH, u pacientů s rizikovými faktory, na oddělení chirurgie před velkými výkony nebo při repatriaci či po recentní hospitalizaci v zahraničí. Periodický screening se provádí vždy první den v týdnu pravidelného screeningu ze specializovaných lůžkových oddělení NNH (např. ARO, oborové JIP a vybrané SIP) nebo u pacientů s anamnézou kolonizace či infekce CPE. Kultivace se při obou typech screeningu provádí na selektivním chromogenním agaru. Screening má v případě positivity několik kroků neboli stupňů, kterými je potřeba se řídit.

Toto vyšetření se provádí z výtěru z rektu. Vzorek je následně zaslán do laboratoře v odběrových soupravách buď na suchém sterilním tampónu, kde zpracování materiálu by nemělo být později než 2 hodiny po odběru, nebo na sterilním tampónu v transportní půdě s aktivním uhlím, kde zpracování musí proběhnout do 24 hodin po odběru.

Výtěry byly masivně naočkovány na $\frac{1}{4}$ chromogenní půdy Brilliance CRE Medium od firmy Oxoid, která se následně inkubovala na minimální dobu 18 hodin do termostatu při 37°C. Vyočkování na $\frac{1}{4}$ plotny má čistě ekonomický důvod, na jednu plotnu se tak vejdou čtyři vzorky najednou. Zároveň se celý tampón vložil pomnožit na 24 hodin do játrového bujónu. Všechny pomnožovací bujóny se opět masivně vyočkowały na $\frac{1}{4}$ plotny Brilliance CRE Medium a opět inkubowały po 18-20 hodin v termostatu při 37°C. Při negativním výsledku na vyočkováných plotnách bylo vyšetření ukončeno s negativním výsledkem. V případě pozitivního nárůstu na screeningové půdě byla provedena izolace kmene na selektivně diagnostickou půdu a následně inkubace po 18-20 hodin v termostatu při teplotě 37°C a současně byla provedena identifikace pomocí detekce hmotnostní spektrometrií MALDI TOF.



Obrázek 14: Brilliance CRE Medium s pozitivním nálezem (Oxoid)

Jako na ostatních chromogenních živných půdách, tak i na Brilliance CRE Medium rostou různé bakterie v různých barvách. Např. *Klebsiella pneumoniae* tvoří modré kolonie, *Escherichia coli* světle růžové a *Acinetobacter baumannii* bezbarvé až krémové kolonie.

Po úspěšné kultivaci byla ze selektivně diagnostické půdy očkovací kličkou odebrána jedna kolonie a rozmíchána ve zkumavce s fyziologickým roztokem, aby vznikl zákal rovný 0,5 McFarlandu. Dále se roztok ze zkumavky rovnoměrně očkuje na kultivační půdu Mueller-Hinton. Na tuto půdu se následně rází antibiotické disky meropenemu, imipenemu a ertapenemu. Metodika vyšetření diskovou difúzní citlivostí byla dle pravidel Evropského výboru pro testování antimikrobiální citlivosti EUCAST. Vyhodnocení výsledku stanovení citlivosti tímto krokem detekce bylo hodnoceno měřením inhibiční zóny kolem antibiotických disků a následně byly porovnávány s definovanými hranicemi pro screening rezistence ke karbapenemům, tzv. „breakpointy“ EUCAST. Při inhibičních zónách u meropenemu větších nebo rovných 28 mm byla hodnocena rezistence ke karbapenemům jako nepravděpodobná. U imipenemu a ertapenemu byly zvoleny hodnoty pro zařazení do testování na základě distribuce divoké populace dle publikovaných dat EUCAST (větší nebo rovno 25 mm, resp. větší nebo rovno 22 mm). Zvolenou metodikou byla rezistence ke karbapenemům hodnocena jako nepravděpodobná. Klinické stavy pacientů a epidemiologické souvislosti nebyly ve studii hodnoceny a neměly vliv na další vyšetření izolátů. Při menších inhibičních zónách, než stanovené „breakpointy“, byly všechny izoláty enterobakterií dále vyšetřeny.

V dalším kroku byla z izolace opět vyšetřena jedna kolonie a opět v roztoku zákal kultury a postupováno stejně jako při předchozím kroku. Namísto antibiotických disků byl

na Mueller-Hintonův agar položen proužek ke stanovení citlivosti metodou E-test. Citlivost byla vyšetřena k meropenemu a imipenemu. Zde se hodnotí gradientní difúzní metodou MIC. Vyřazena z dalšího testování byly enterobakterie s MIC u meropenemu rovných či nižších než koncentrace 0,125 mg/l a u imipenemu rovných či nižších než koncentrace 0,5 mg/l (dle doporučené metodiky EUCAST). U bakterií s MIC s výsledkem odpovídajícím interpretaci rezistenci byla rovnou vyšetřena produkce karbapenemázy. Jiné fenotypy rezistence nebyly ve studii hodnoceny. Současně byla část izolátu vyšetřena na molekulárně-genetickém vyšetření PCR nejčastějších genů kódujících karbapenemázy. Metoda nebyla dostupná po celé období studie, a tedy výsledky PCR diagnostiky nejsou ve studii hodnoceny.

Posledním stupněm bylo provedení imunochromatografického komerčního testu CARBA 5, jehož výsledek byl pokládán v laboratorním algoritmu za finální. Test byl proveden z kultury na půdě Mueller-Hinton z předchozího kroku. Všechny kultury v tomto stupni byly bez ohledu na výsledek testu CARBA 5 odeslány v rámci národního screeningu do NRL k vyšetření fenotypu rezistence.

9 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Jak již bylo řečeno výše, analýza je prováděna ze dvou odlišných LIS, které se střídaly v tomto období.

9.1 Analýza z laboratorního systému Janiga labs

Jako první byl využíván informační systém od firmy Janiga a to v období od 1.6. 2021 do 4.10. 2021. Za tuto dobu se v tomto systému zadalo k vyšetření 508 izolátů od 296 různých pacientů. Testů na sníženou citlivost na meropenem, imipenem či ertapenem podle velikosti průměru inhibičních zón se provádělo celkem u 68 izolátů u 56 různých pacientů, což odpovídá 4,12 % z celkového počtu provedených vyšetření u izolátů a 18,92 % z celkového počtu provedených vyšetření u pacientů v tomto období.

E-test se prováděl už pouze u 19 izolátů a 17 pacientů. To znamená, že z nastaveného algoritmu na zjištění citlivosti, nevyhovělo velikosti daných „breakpointů“ u difuzního testu z 2. stupně 19 izolátů z 68 a 17 pacientů z 56. Což tvoří 27,94 % izolátů z předchozího stupně a 3,74 % izolátů z celkového počtu vyšetření. 30,36 % pacientů z předchozího stupně a 5,74 % z celkového počtu vyšetřených pacientů.

E-test s výsledkem I či R podle MIC u meropenemu měly 2 izoláty a podle MIC nevyhověl 1 izolát. U imipenemu byli 3 izoláty s výsledkem I či R, ale 2 byly shodné s tímto kritériem u meropenemu, podle MIC nevyhověl jeden izolát, ale ten také nesplnil kritérium ani u meropenemu. V tomto stupni byl shodný počet izolátů a pacientů. Tudiž test CARBA 5 se dělal ve čtyřech případech. Což odpovídá 21,05 % z dělaných E-testů u izolátů a 0,79 % z celkového počtu provedených vyšetření u izolátů a 23,53 % pacientům z provedených E-testů a 1,35 % z celkového počtu vyšetřených pacientů.

Test CARBA 5 vyšel pozitivní v 1 případě. Což odpovídá 25 % z prováděných testů CARBA 5 u izolátů a pacientů a 0,20 % z celkového počtu vyšetřených izolátů a 0,34 % z celkového počtu vyšetřených pacientů. Tento test byl pozitivní na OXA-48 like.

		1. stupeň	2. stupeň	3. stupeň	4. stupeň	Počet pozitivních
Izoláty	Počet	508	68	19	4	1
	Procenta z přechozího stupně		13,39 %	27,94 %	21,05 %	25,00 %
	Procenta z celku		13,39 %	3,74 %	0,79 %	0,20 %
Pacienti	Počet	296	56	17	4	1
	Procenta z přechozího stupně		18,92 %	30,36 %	23,53 %	25,00 %
	Procenta z celku		18,92 %	5,74 %	1,35 %	0,34 %

Tabulka 2: Analýza dat z laboratorního systému Janiga labs

9.2 Analýza z laboratorního systému Envis

Od 4. 10. 2021 laboratoř přešla na laboratorní systém od firmy Envis, který se využívá nadále. V analyzovaném období bylo provedeno vyšetření u 3224 izolátů u 1402 různých pacientů. Testů na sníženou citlivost u meropenemu, imipenemu a ertapenemu se provádělo u 232 izolátů u 101 různých pacientů. Což odpovídá v obou případech 7,20 % z celkového počtu prováděných vyšetření u izolátů a pacientů.

E-test se prováděl u 45 izolátů a 40 pacientů. To znamená, že z nastaveného algoritmu na zjištění citlivosti, nevyhovělo velikosti daných „breakpointů“ u difuzního testu z 2. stupně 45 izolátů z 232 a 40 pacientů ze 101. Což tvoří 19,40 % izolátů z provedených difuzních citlivostí a 1,40 % z celkového počtu provedených vyšetření u izolátů. U pacientů to tvoří 39,60 % z provedených difuzních citlivostí a 2,85 % z celkového počtu vyšetřených pacientů.

E-test s výsledkem I či R podle MIC u meropenemu mělo 5 izolátů a podle MIC nevyhovělo 15 izolátů. U imipenemu byly 4 izoláty s výsledkem I či R, ale 3 byly shodné s tímto kritériem u meropenemu, podle MIC nevyhovělo 13 izolátů, ale 10 z nich také nesplnilo kritérium u meropenemu. Z čehož vyplývá, že test CARBA 5 se prováděl ve 24 případech u izolátů, ale jen u 23 pacientů. To znamená, že se prováděl v 53,33 % z dělaných E-testů u izolátů a v 0,74 % z celkového počtu vyšetřovaných izolátů, v 57,50 % se prováděl u dělaných E-testů u pacientů a 1,64 % z celkového počtu vyšetřovaných pacientů.

Test CARBA 5 vyšel pozitivní u 12 izolátů a 11 pacientů. Což odpovídá 50 % z dělaných CARBA 5 testů u izolátů a 0,37 % celkového počtu vyšetřovaných izolátů, test byl pozitivní u 47,83 % pacientů, u kterých byl prováděn a u 0,78 % celkově vyšetřených pacientů. Tyto testy byly pozitivní ve 4 případech na OXA-48 like, ve 2 případech na NDM, ve 2 případech na KPC a ve dvou případech na VIM.

		1. stupeň	2. stupeň	3. stupeň	4. stupeň	Počet pozitivních
Izoláty:	Počet	3224	232	45	24	12
	Procenta z přechozího stupně		7,20 %	19,40 %	53,33 %	50,00 %
	Procenta z celku		7,20 %	1,40 %	0,74 %	0,37 %
Pacienti:	Počet	1402	101	40	23	11
	Procenta z přechozího stupně		7,20 %	39,60 %	57,50 %	47,83 %
	Procenta z celku		7,20 %	2,85 %	1,64 %	0,78 %

Tabulka 3: Analýza dat z laboratorního systému Envis

9.3 Sloučená data z obou laboratorních systémů

Celkově ve třech pololetích³ v obou systémech bylo provedeno vyšetření 3732 izolátů a 1698 pacientů. Testů na sníženou citlivost na meropenem, imipenem či ertapenem podle velikosti průměru inhibičních zón se provádělo celkem u 300 izolátů u 157 různých pacientů, což odpovídá 8,04 % z celkového počtu provedených vyšetření u izolátů a 9,25 % z celkového počtu pacientů.

E-test se prováděl u 64 izolátů a 57 pacientů. To znamená, že z nastaveného algoritmu na zjištění citlivosti, nevyhovělo velikosti daných „breakpointů“ u difuzního testu z 2. stupně 64 izolátů z 300 a 57 pacientů ze 157. Což tvoří 21,33 % izolátů z provedených difuzních citlivostí a 1,71 % z celkového počtu provedených vyšetření u izolátů. U pacientů to tvoří 36,31 % z provedených difuzních citlivostí a 3,36 % z celkového počtu vyšetřených pacientů.

CARBA 5 test se prováděl celkově u 28 izolátů a 27 pacientů. Což odpovídá 43,75 % z prováděných E-testů u izolátů a 0,75 % z celkového počtu izolátů, 47,37 % z prováděných E-testů u pacientů a 1,59 % z celkového počtu pacientů.

³ Vzhledem k zavedení detekce v NNH je první pololetí bráno od 1. 6. 2021 do 31. 12. 2021. Zbýlá dvě pololetí jsou půl roční.

Test byl pozitivní celkem u 13 izolátů a 12 pacientů. To je 46,43 % z provedených testů CARBA 5 u izolátů a 0,35 % z celkově vyšetřených izolátů, 44,44 % z provedených CARBA 5 testů u pacientů a 0,71 % z celkově vyšetřených pacientů. Tyto testy byly pozitivní v 6 případech na OXA-48 like, ve třech případech na NDM, ve dvou případech na KPC a ve dvou případech na VIM. Jeden pacient byl pozitivní na dva producenty karbapenemáz.

		1. stupeň	2. stupeň	3. stupeň	4. stupeň	Počet pozitivních
Izoláty:	Počet	3732	300	64	28	13
	Procenta z přechozího stupně		8,04 %	21,33 %	43,75 %	46,43 %
	Procenta z celku		8,04 %	1,71 %	0,75 %	0,35 %
Pacienti:	Počet	1698	157	57	27	12
	Procenta z přechozího stupně		9,25 %	36,31 %	47,37 %	44,44 %
	Procenta z celku		9,25 %	3,36 %	1,59 %	0,71 %

Tabulka 4: Sloučená analýza dat z obou systémů

Výsledky dělaných CARBA 5 testů se posílají do Národní referenční laboratoře (NRL) pro ověření správnosti. Bohužel tato data lze dohledat pouze v systému Envis. V tomto období se dělalo 24 CARBA 5 testů u izolátů u 23 pacientů. Z toho odeslaných do NRL bylo 22 testů izolátů u 21 pacientů. Tato odchylka mohla být způsobena jasně ne-definovaným algoritmem, který toto na začátku detekce stanovoval a hotové CARBA 5 testy tedy nebyly odeslány pro kontrolu. Ale u 22 odeslaných testů izolátů u 21 pacientů byla shoda výsledku v pozitivitě testu i u určení karbapenemázy. Tudíž shoda v odeslaných výsledcích byla 100%.

	Počet T_carba	Počet odeslaných do NRL	Shoda	Procentuální shoda
Izoláty:	24	22	22	100 %
Pacienti:	23	21	21	100 %

Tabulka 5: Porovnání dělaných CARBA 5 testů s výsledky NRL

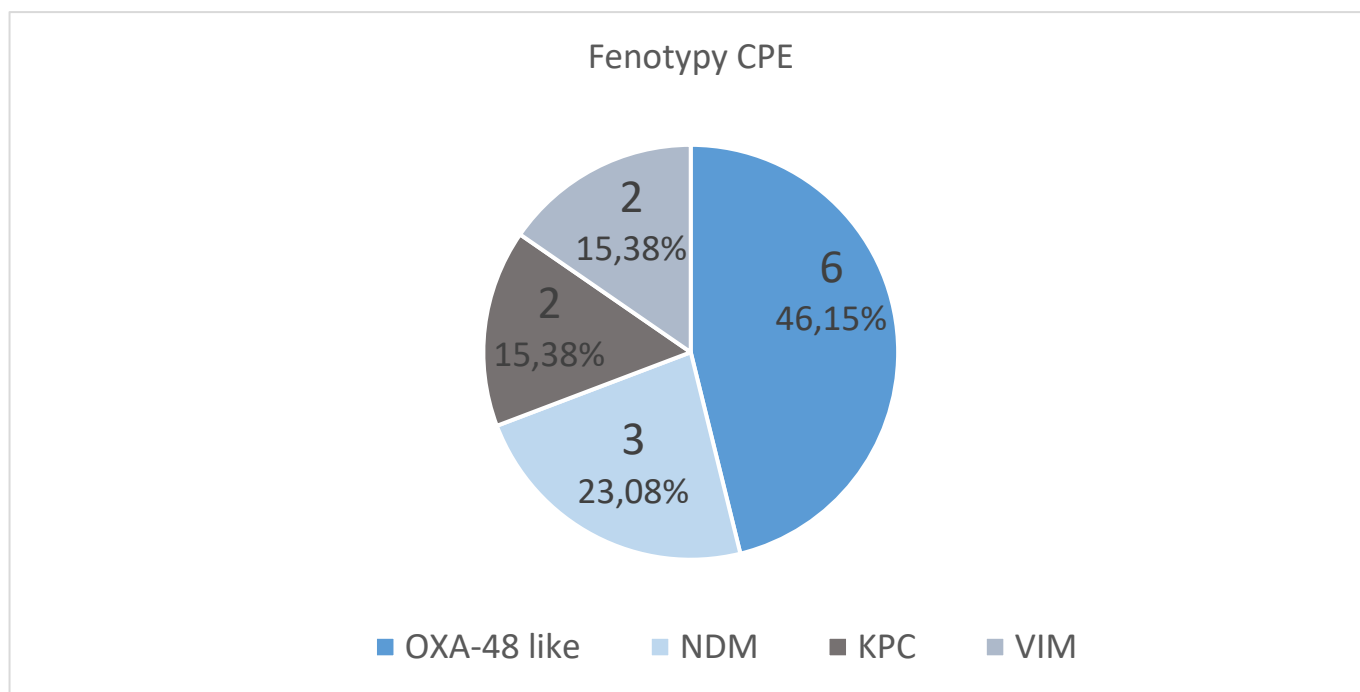
9.4 Fenotypy CPE

Celkově se ve sledovaném období provádělo 28 komerčních CARBA 5 testů. Karbapenemáza nebyla prokázána celkem v 15 případech, potvrzena byla ve 13 případech. Celkem byla prokázána šestkrát karbapenemáza OXA-48 like, třikrát NDM, dvakrát KPC a VIM. Karbapenemáza IMP nebyla potvrzena v žádném případě. Ani PCR metoda nepotvrdila karbapenemázu v jiných případech, než ukázal CARBA 5 test. Výsledky z NRL byly ve všech případech shodné s výsledky testu CARBA 5.

46,15 % všech pozitivních CARBA 5 testů tvořily OXA-48 like, 23,08 % NDM a ve stejném procentuálním zastoupení 15,38 % byly KPC a VIM.

	Neprokázána	Prokázána	OXA-48 like	NDM	KPC	VIM	IMP	NON OXA-48 like
Envis	12	12	5	3	2	2	0	0
Janiga	3	1	1	0	0	0	0	0
Celkem	15	13	6	3	2	2	0	0

Tabulka 6: Fenotypové rozdělení CPE



Graf 2: Poměrové zastoupení fenotypů CPE

Procentuální zastoupení fenotypů CPE z celkového množství zachycených enterobakterií u pacientů je nízké. OXA-48 like tvoří pouze 0,35 % z celkově pozitivních pacientů, NDM 0,18 %, KPC a VIM 0,12 %, IMP a NON OXA-48 like se nevyskytly u žádného pacienta.

	OXA-48 like	NDM	KPC	VIM	IMP	NON OXA-48 like
	6	3	2	2	0	0
Procentuální výskyt CPE	0,35 %	0,18 %	0,12 %	0,12 %	0 %	0 %

Tabulka 7: Procentuální výskyt jednotlivých karbapenemáz

9.5 Trendy ve čtvrté úrovni detekce

Celkem se dělalo 28 CARBA 5 testů u 27 pacientů za celé sledované období. Z toho jich bylo s pozitivním výsledkem zaznamenáno 13 u 12 pacientů.

Ve druhém pololetí roku 2021 bylo provedeno 6 CARBA 5 testů u 6 pacientů. Karbapenemáza byla prokázána v 50 %, tudíž tři byly s pozitivním výsledkem. Dvakrát byla prokázána OXA-48 like a v jednom případě KPC.

V prvním pololetí roku 2022 bylo provedeno 12 CARBA 5 testů u 11 pacientů. Opět byla karbapenemáza prokázána v 50 %, tudíž bylo 6 testů s pozitivním výsledkem. Třikrát byla prokázána OXA-48 like, jedenkrát NDM a dvakrát VIM.

Ve druhém pololetí roku 2022 bylo provedeno 10 CARBA 5 testů u 10 pacientů. Karbapenemáza byla prokázána ve 40 %, 4 testy byly s pozitivním výsledkem. OXA-48 like byla zaznamenána v jednom případě, NDM ve dvou a KPC také v jednom případě.

	Izoláty	Pacienti	Neprokázána	Prokázána	OXA-48 like	NDM	KPC	VIM	IMP	NON OXA-48 like
2. pololetí 2021	6	6	3	3	2	0	1	0	0	0
1. pololetí 2022	12	11	6	6	3	1	0	2	0	0
2. pololetí 2022	10	10	6	4	1	2	1	0	0	0
Celkem	28	27	15	13	6	3	2	2	0	0

Tabulka 8: Trendy ve čtvrté úrovni detekce

9.6 Trendy ve třetí úrovni detekce

Celkem se provádělo 64 E-testů u 57 pacientů.

Ve druhém pololetí roku 2021 se E-test prováděl u 21 izolátů a 18 pacientů.

V prvním pololetí roku 2021 se E-test prováděl u 18 izolátů u 16 pacientů.

Ve druhém pololetí roku 2022 se E-test prováděl u 25 izolátů u 23 pacientů.

	izoláty	pacienti
2. pololetí 2021	21	18
1. pololetí 2022	18	16
2. pololetí 2022	25	23
Celkem	64	57

Tabulka 9: Trendy ve třetí úrovni detekce

9.7 Počty pacientů na CPE screening

Ve druhém pololetí roku 2021 se provedlo celkem 587 vyšetření pacientů. Z toho se vyšetření ve třetím stupni detekce pomocí E-testu provedlo u 3,07 %. Čtvrtý stupeň detekce se provedl u 1,02 % pacientů vyšetřených v tomto období.

V prvním pololetí roku 2022 se provedlo celkem 568 vyšetření pacientů. Z toho vyšetření ve třetím stupni detekce pomocí E-testu se provedlo u 2,82 % pacientů vyšetřených v tomto období. Čtvrtý stupeň se provedl u 1,94 % pacientů.

Ve druhém pololetí roku 2022 se provedlo celkem 543 vyšetření pacientů. Z toho vyšetření ve třetím stupni detekce pomocí E-testu se provedlo u 4,24 % pacientů vyšetřených v tomto období. Čtvrtý stupeň se provedl u 1,84 % pacientů.

Jak již výše bylo zmíněno ve třetí úrovni detekce bylo z celkového počtu vyšetřeno 3,36 % pacientů a ve čtvrté úrovni 1,59 % pacientů.

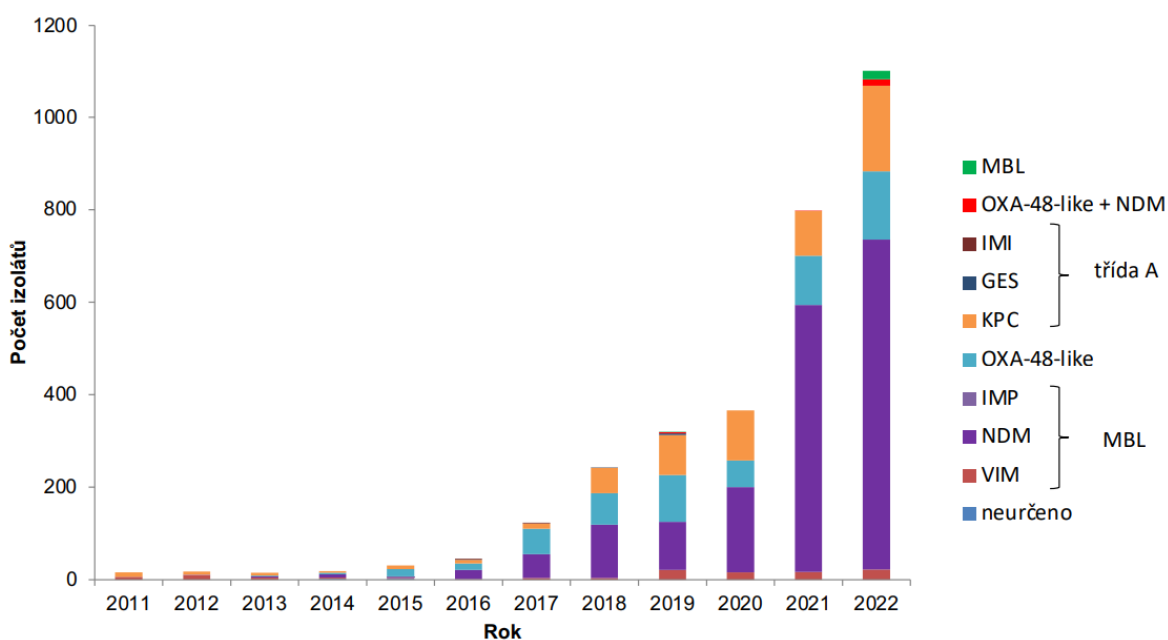
	Janiga	Envis	Celkem	3. úroveň	4.úroveň
2. pololetí 2021	296	291	587	3,07 %	1,02 %
1. pololetí 2022		568	568	2,82 %	1,94 %
2. pololetí 2022		543	543	4,24 %	1,84 %
Celkem	296	1402	1698	3,36 %	1,59 %

Tabulka 10: Počty pacientů na CPE screening

DISKUZE

Antibiotika, jejich nadužívání a s tím spojená zvyšující se antibiotická rezistence se řadí mezi největší globální problémy dnešní doby. Hlavním cílem teoretické části mé bakalářské práce bylo získání informací ohledně antibiotik a jejich rezistencí. Konkrétně jsem se zaměřila na výskyt karbapenemáz u enterobakterií v nemocniční péči. V praktické části se zabývám analýzou dat výskytu karbapenemáz u enterobakterií z laboratorních systémů v Nemocnici na Homolce. Slabinou zvoleného algoritmu by mohla být například metoda stanovení MIC pouze pomocí E-testu.

Bohužel v krátkém detekčním období není vidět žádný trend v nárůstu či poklesu výskytu karbapenemáz. V Nemocnici na Homolce bylo v tomto období detekováno 13 kmenů čeledi *Enterobacteriaceae* rezistentních ke karbapenemům, což činilo pouze 0,35 % z celkového množství enterobakterií zachycených v tomto detekčním období. Porovnání s průměrnou prevalencí rezistentních enterobakterií ke karbapenemům v různých částech světa je tato hodnota nízko pod průměrem. Ve srovnání s daty NRL je v zastoupení nejčastější v souboru OXA, kdežto v národním souboru je NDM. V NNH byl zaznamenán dvakrát větší výskyt OXA-48 like než NDM. Sledovaný soubor je nicméně velmi malý. Bohužel se mi nepodařilo najít aktuální studii z jiné nemocnice v ČR pro porovnání výsledků.



Obrázek 15: Prezentovaná data z NRL pro ATB rezistenci na odborném kurzu (Chudějová, 2022; poskytl MUDr. Kubele)

Na výše zobrazeném grafu je vidět masivní nárůst přibývajících karbapenemáz u lidí v nemocniční péči v České republice. V roce 2021 bylo dle grafu zaznamenáno 527 izolátů s karbapenemázou NDM, 106 s OXA-48 like, 97 s KPC, 17 s VIM a jeden izolát s kombinací NDM a OXA-48 like.

Výskyt OXA-48 like byl v detekčním období 0,35 %, NDM byl 0,18 %, KPC a VIM 0,12 % z celkového množství enterobakterií u pacientů. Analýza nemá špatné výsledky, myslím, že oproti procentům České republiky a celého světa, se NNH pohybuje na velmi nízkých číslech. Nízký záchyt karbapenemáz z celkově vyšetřených vzorků je jednak velkou variabilitou možných příčin snížené rezistence ke karbapenemům a nastavením screeningových „breakpointů“ s cílem dosažení co nejvyšší citlivosti. Srovnání dat se srovnatelnou nemocnicí využívající obdobné schéma screeningu se mi nepodařilo najít. Vhodné by bylo mít stanovenou národní proveditelnou metodu screeningu včetně aktuálně dostupných mikrobiologických metod.

Ačkoli má detekce jasně daná pravidla, tak musíme mít na paměti, že vlivem lidské chyby mohla být nějaká vyšetření ukončena jako falešně negativní, a tudíž se u nich nepokračovalo v testování. Bohužel tomuto faktoru nelze nikterak zabránit.

Z celkového počtu 4729 izolátů bylo 0,27 % označeno za produkce karbapenemáz. Ačkoli to není vysoké číslo, producenti karbapenemáz v nemocničním prostředí představují potencionálně vysoké epidemiologické riziko šíření a výskytu nevléčitelných onemocnění způsobených gramnegativními bakteriemi u rizikové populace pacientů. Proto je pravidelný screening při známém zvýšeném riziku (Obrázek 15) velmi důležitou součástí péče o pacienty.

Ve třech pololetí bylo provedeno vyšetření 3732 izolátů u 1698 pacientů a posledním stupněm bylo pozitivních na karbapenemázu 0,35 % izolátů (0,71 % pacientů) z celkového počtu vyšetření. V 6 případech byla pozitivní OXA-48 like karbapenemáza, ve třech případech NDM a ve dvou KPC a VIM. Jak již bylo řečeno výše, z krátkého detekčního období nelze určit trend a ani se mi nepodařilo najít podobně metodicky založenou studii, se kterou bych mohla výsledky porovnat. Jeden pacient byl pozitivní na dva producenty karbapenemáz, a to na NDM a OXA-48 like. Kombinace dvou karbapenemáz byla dle dostupných dat v ČR zachycena zcela vzácně (Obrázek 15).

V tuto chvíli tato analýza má čistě informativní charakter a udává počty a druhy karbapenemáz, které byly zachyceny v tomto období v NNH.

Frekvence výskytu karbapenem-rezistentních mikroorganismů a zastoupení jednotlivých karbapenemáz se ve světě individuálně liší a může být významně odlišný i regionálně. Například porovnání se studii v Číně, Řecku a Iráku.

V Číně byla v roce 2020 publikována studie zabývající se touto problematikou. Cílem té studie bylo zjistit rozšíření a vlastnosti KPC, NDM, OXA-48 like, IMP a VIM mezi kmeny karbapenem-rezistentních enterobakterií izolovaných od dospělých a dětských pacientů. Celkem 935 neduplicitních kmenů CRE bylo shromážděno z 36 nemocnic v letech 2016-2018. Celkově byly karbapenemázy produkovány u 97,4 % (u 911 z 935 kmenů) kmenů CRE. KPC byla potvrzena u 51,6 % (u 482 z 935 kmenů), NDM u 35,7 % (u 334 z 935 kmenů) a OXA-48 like karbapenemáza u 7,3 %, (u 68 z 935 kmenů). Z procentuálního zastoupení vyplývá, že někteří pacienti byli osídleni dvěma nebo více karbapenem-rezistentními kmeny. Což v mé analýze v NNH bylo potvrzeno pouze v jednom případě (zdroj č. 62).

Obdobná studie byla publikována i v Řecku. Zahrnovala karbapenemázy produkované bakterií *Klebsiella pneumoniae* mezi lety 2014-2016. V rámci studie bylo vyšetřeno celkem 394 izolátů *Klebsiella pneumoniae*. KPC zůstala nejčastěji zachovanou karbapenemázou, byla potvrzena v 66,5 %. Druhou nejrozšířenější karbapenemázou byla NDM v 13,7 % případů. VIM byla potvrzena v 8,6 % a OXA-48 like v 6,3 % případů. Přítomnost dvou karbapenemáz u jednoho izolátu zůstala vzácná, pouze u 3,6 % izolátů (zdroj č. 64).

Studie prováděná v Iráku v roce 2021 čítala celkem 200 enterobakterií z čehož bylo 55 % (110 izolátů) rezistentních k beta-laktamům. Jako karbapenem-rezistentní bylo označeno 30,9 % (34) izolátů, za producenty karbapenemáz bylo identifikováno 59 % (65 izolátů). U 53 izolátů byla prováděna fenotypová zkouška, která prokázala jednu nebo více přítomných karbapenemáz u jednoho izolátu. Nejčastěji přítomná karbapenemáza byla NDM, která byla potvrzena u 44 kmenů z 53 testovaných. OXA-48 like byla přítomna u 75 % (u 40 z 53 izolátů), VIM u 49 % (u 26 z 53 izolátů), IMP u 43 % (u 23 z 53 izolátů). KPC se vyskytovala s velkým rozdílem nejméně, vyskytovala se v 7 % případů (u 4 z 53 izolátů) (zdroj č. 63).

V mé studii jsem nezaznamenala takto alarmující výsledky, ale na studiích z jiných zemí světa je viditelná narůstající epidemiologická katastrofa, které bychom se měli snažit vyvarovat.

Jak již bylo řečeno výše, zastoupení jednotlivých karbapenemáz se ve světě individuálně liší. V NNH byla OXA-48 like zaznamenána v nejvíce případech a IMP v nejméně, zatímco průzkum prováděný v Číně ukázal největší zastoupení karbapenemázy KPC a nejmenší OXA-48 like. V Řecku byla taktéž prokázána nejvíce karbapenemáza KPC a nejméně OXA-48 like. Irán měl nejčastěji zastoupenou karbapenemázu NDM, a naopak nejméně častá byla karbapenemáza typu KPC. Dle dostupných dat z NRL z roku 2021 byla v ČR nejčastěji vyskytující se karbapenemázou NDM a nejméně častá byla VIM. Rozdílné zastoupení může být způsobeno mnoha faktory přírodních i kulturních vlivů. Nicméně v našem souboru může být odlišné zastoupení způsobeno nedostatečnou velikostí souboru a malým počtem pozitivních vzorků.

ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se nás snaží seznámit s pojmem „Antibiotika“, s beta-laktamovými antibiotiky konkrétněji s karbapenemy. Snažím se zde popsat vliv antibiotik na lidský organismus a jejich vedlejších účinků. Konkrétně se zabývám stavbou a složením karbapenemů a jejich účinkem. Součástí práce je i krátká charakteristika klinicky významných enterobakterií.

Snažím se zde zmapovat vyšetření citlivosti na antibiotika pomocí různých testů a metod. Konkrétněji se zde věnuji detekci beta-laktamáz.

Má práce je v obecné části zaměřena hlavně na výskyt rezistentních enterobakterií u pacientů v nemocniční péči včetně vývoje identifikace karbapenemáz ve světě i ČR.

Praktická část vyhodnocuje detekci karbapenemáz v Nemocnici na Homolce nově zavedenou metodou screeningu. Výsledky jsou z analyzovaných dat v období od 1. 6. 2021 do 31. 12. 2022 získaných na základě jasně daného algoritmu. Algoritmus má čtyři úrovně, první úroveň vyloučila plně citlivé kmeny na základě chromogenní diagnostické půdy. Druhá úroveň difuzní metodou testování citlivosti třech karbapenemů odlišila kmeny se sníženou citlivostí, která byla na třetí úrovni upřesňována stanovením MIC metodou E-test. Čtvrtá úroveň spočívala v provedení detekce karbapenemáz komerčním testem (CARBA 5). Tyto vzorky byly zároveň odeslány a vyhodnoceny v referenční laboratoři (NRL pro antibiotika). V mé práci jsem došla k výsledku stoprocentní shodě výsledku detekce karbapenemáz zvoleným testem a výsledků z NRL.

Ve sledovaném období bylo zachyceno 13 izolátů produkujících karbapenemázu od 12 pacientů s nejčastějším výskytem OXA-48 like karbapenemázy. Počet pozitivních kmenů neumožňuje srovnání s národními daty. Z důvodu krátkého detekčního období nelze vyhodnotit žádný konkrétní trend a tím určit, zda rezistence ke karbapenemům má rostoucí či klesající charakter.

Závěrem bych ocenila na základě poznatků z provedené práce, kdyby byla dostupná odborně schválená metoda screeningu obsahující i aktuálně dostupné mikrobiologické metody.

SEZNAM LITERATURY

- 1 BENEŠ, Jiří. *Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití*. Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 978-80-271-0636-3.
- 2 SPÍŽEK, Jaroslav. Rezistence na antibiotika. *VESMÍR* [online]. 1999, 1999(78), 4 [cit. 2022-10-24]. Dostupné z: <https://vesmir.cz/download-file.html?d=11257&f=2055&hash=d12a58cee53e59816116843d9ec699bbf3736a8e551f88f40e6c356614b3e45770abd4fc75f02320a75a8f1f391b2160970ab637c04226ac371d426cbd9f7e4f>
- 3 SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: Pro studenty zdravotnických oborů*. 2., doplněné a přepracované vydání. Praha 7: Granada Publishing, 2014. ISBN 978-80-247-4771-2.
- 4 ŠTEFAN, Marek. *Antibiotika v klinické praxi*. Praha: GALÉN, c2019. ISBN 978-80-7492-397-5.
- 5 JINDRÁK, Vlastimil, Dana HEDLOVÁ, Pavla URBÁŠKOVÁ a Milada HALAČOVÁ. *Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici*. Praha: Mladá fronta, 2014. Aeskulap. ISBN 978-80-204-2815-8.
- 6 NĚMEC, Miroslav a Dagmar MATOULKOVÁ. *Základy obecné mikrobiologie*. Brno: Masarykova univerzita, 2015. ISBN 978-80-210-7923-6.
- 7 OTTEN, Christian, Matteo BRILLI, Waldemar VOLLMER, Patrick H. VIOLLIER a Jeanne SALJE. Peptidoglycan in obligate intracellular bacteria. *Molecular Microbiology* [online]. 2018, 107(2), 142-163 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0950382X. Dostupné z: doi:10.1111/mmi.13880
- 8 CUNHA, Burke A. ANTIBIOTIC SIDE EFFECTS. *Medical Clinics of North America* [online]. 2001, 85(1), 149-185 [cit. 2023-03-10]. ISSN 00257125. Dostupné z: doi:10.1016/S0025-7125(05)70309-6
- 9 VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. Brno: Neptun, 2001. ISBN 80-902-8962-2.

- 10 KOLÁŘOVÁ, Libuše. *Obecná a klinická mikrobiologie*. Praha: Galén, [2020]. ISBN 978-80-7492-477-4.
- 11 EGOROV, A. M., M. M. ULYASHOVA a M. Yu. RUBTSOVA. Inhibitors of β -Lactamases. New Life of β -Lactam Antibiotics. *Biochemistry (Moscow)* [online]. 2020, 85(11), 1292-1309 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0006-2979. Dostupné z: doi:10.1134/S0006297920110024
- 12 VRANCIANU, Corneliu Ovidiu, Irina GHEORGHE, Elena-Georgiana DOBRE, et al. Emerging Strategies to Combat β -Lactamase Producing ESKAPE Pathogens. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2020, 21(22) [cit. 2023-03-10]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms21228527
- 13 TOOKE, Cathrine. B-Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of Molecular Biology* [online]. 2019, 23.08.2019, 2019(18), [cit. 2022-12-10]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
- 14 SHAKU, Moagi, Christopher EALAND, Ofentse MATLHABE, Rushil LALA a Bavesh D. KANA. *Advances in Applied Microbiology* [online]. New York: Academic Press is an imprint of Elsevier, 2020, 183 s. [cit. 2022-12-10]. ISBN 978-0-12-820707-9. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/penicillin-binding-proteins>
- 15 VOLLMER, Waldemar, Didier BLANOT a Miguel A. DE PEDRO. Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2008, 32(2), 149-167 [cit. 2023-03-10]. ISSN 1574-6976. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6976.2007.00094.x
- 16 NORDMANN, Patrice, Laurent DORTET a Laurent POIREL. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm!. *Trends in Molecular Medicine* [online]. 2012, 2012, 18(5), 263-272 [cit. 2022-12-10]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.03.003>
- 17 EL-GAMAL, Mohammed et al. Recent updates of carbapenem antibiotics. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 1966-, 2017(131), 185-195 [cit. 2022-12-19]. ISSN 0223-5234. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.022>

- 18 BUCKLEY, Micaela M., Rex N. BROGDEN, Lee B. BARRADELL a Karen L. GOA. Imipenem/Cilastatin. *Drugs* [online]. 1992, 44(3), 408-444 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.2165/00003495-199244030-00008
- 19 HELLINGER, Walter C. a Nelson S. BREWER. Imipenem. *Mayo Clinic Proceedings* [online]. 1926-, 1991(66), 1074-1081 [cit. 2022-12-19]. ISSN 0025-6196. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/S0025-6196(12)61732-7.
- 20 LINDEN, Peter. Safety Profile of Meropenem. *Drug Safety* [online]. 2007, 30(8), 657-668 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0114-5916. Dostupné z: doi:10.2165/00002018-200730080-00002
- 21 BALDWIN, Claudine M, Katherine A LYSENG-WILLIAMSON a Susan J KEAM. Meropenem. *Drugs* [online]. 2008, 68(6), 803-838 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.2165/00003495-200868060-00006
- 22 HURST, Miriam a Harriet M. LAMB. Meropenem. *Drugs* [online]. 2000, 59(3), 653-680 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.2165/00003495-200059030-00016
- 23 DHILLON, Sohita. Meropenem/Vaborbactam: A Review in Complicated Urinary Tract Infections. *Drugs* [online]. 2018, 78(12), 1259-1270 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.1007/s40265-018-0966-7
- 24 BENEŠ, Jiří. Ertapenem a jeho postavení mezi ostatními karbapenemy. *Klinická farmakologie a farmacie*. 2011, 25(3), 144-149.
- 25 LIVERMORE, D. M. Properties and potential of ertapenem. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 2003, 52(3), 331-344 [cit. 2023-03-10]. ISSN 1460-2091. Dostupné z: doi:10.1093/jac/dkg375
- 26 CURRAN, Monique P, Dene SIMPSON a Caroline M PERRY. Ertapenem. *Drugs* [online]. 2003, 63(17), 1855-1878 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.2165/00003495-200363170-00006
- 27 KEATING, Gillian M a Caroline M PERRY. Ertapenem. *Drugs* [online]. 2005, 65(15), 2151-2178 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.2165/00003495-200565150-00013

- 28 SHAH, P. M. Ertapenem, the first of a new group of carbapenems. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 2003, 52(4), 538-542 [cit. 2023-03-10]. ISSN 1460-2091. Dostupné z: doi:10.1093/jac/dkg404
- 29 KIM, So Won, Sangmin CHOE, Dong Jin KIM, Dae Young ZANG a Dong-Hwan LEE. Pharmacokinetics of Doripenem in Healthy Koreans and Monte Carlo Simulations to Explore Optimal Dosage Regimens in Patients With Normal and Enhanced Renal Function. *Therapeutic Drug Monitoring* [online]. 2018, 40(4), 425-434 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0163-4356. Dostupné z: doi:10.1097/FTD.0000000000000528
- 30 PATERSON, David L. a Daryl D. DEPESTEL. Doripenem. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 2009, 49(2), 291-298 [cit. 2023-03-10]. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1086/600036
- 31 ZHANEL, George G., Courtney K. LAWRENCE, Heather ADAM, et al. Imipenem–Relebactam and Meropenem–Vaborbactam: Two Novel Carbapenem- β -Lactamase Inhibitor Combinations. *Drugs* [online]. 2018, 78(1), 65-98 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.1007/s40265-017-0851-9
- 32 HEO, Young-A. Imipenem/Cilastatin/Relebactam: A Review in Gram-Negative Bacterial Infections. *Drugs* [online]. 2021, 81(3), 377-388 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.1007/s40265-021-01471-8
- 33 CAMPANELLA, Toni A a Jason C GALLAGHER. A Clinical Review and Critical Evaluation of Imipenem-Relebactam: Evidence to Date. *Infection and Drug Resistance* [online]. 2020, 13, 4297-4308 [cit. 2023-03-10]. ISSN 1178-6973. Dostupné z: doi:10.2147/IDR.S224228
- 34 LOB, Sibylle H, James A KARLOWSKY, Katherine YOUNG, Mary R MOTYL, Stephen HAWSER, Nimmi D KOTHARI, Melinda E GUENY a Daniel F SAHM. Activity of imipenem/relebactam against MDR *Pseudomonas aeruginosa* in Europe: SMART 2015–17. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 2019, 74(8), 2284-2288 [cit. 2023-01-19]. ISSN 0305-7453. Dostupné z: doi:10.1093/jac/dkz191
- 35 WENZLER, Eric a Patrick J. SCOBLE. An Appraisal of the Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Meropenem-Vaborbactam. *Infectious Diseases and*

- Therapy [online]. 2020, 9(4), 769-784 [cit. 2023-01-21]. ISSN 2193-8229. Dostupné z: doi:10.1007/s40121-020-00344-z
- 36 BHAVNANI, S. M., M. TRANG, D. C. GRIFFITH, et al. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Target Attainment Analyses as Support for Meropenem-Vaborbactam Dosing Regimens and Susceptibility Breakpoints. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. 2022, 66(12), e02130-21 [cit. 2023-01-21]. ISSN 0066-4804. Dostupné z: doi:10.1128/aac.02130-21
- 37 LAI, Christopher K.C., Rita W.Y. NG, Sharon S.Y. LEUNG, Mamie HUI a Margaret IP. Overcoming the rising incidence and evolving mechanisms of antibiotic resistance by novel drug delivery approaches – An overview. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2022, 181 [cit. 2023-01-21]. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2021.114078
- 38 BUSH, Karen a George A. JACOBY. Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. American Society for Microbiology, 2010, 54(3), 969-976 [cit. 2023-03-02]. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09
- 39 AURILIO, Caterina, Pasquale SANSONE, Manlio BARBARISI, et al. Mechanisms of Action of Carbapenem Resistance. *Antibiotics* [online]. 2022, 11(3) [cit. 2023-01-21]. ISSN 2079-6382. Dostupné z: doi:10.3390/antibiotics11030421
- 40 FROST, Laura S., Raphael LEPLAE, Anne O. SUMMERS a Ariane TOUSSAINT. Mobile genetic elements: the agents of open source evolution. *Nature Reviews Microbiology* [online]. 2005, 3(9), 722-732 [cit. 2023-01-21]. ISSN 1740-1526. Dostupné z: doi:10.1038/nrmicro1235
- 41 MELETIS, Georgios. Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. *Therapeutic Advances in Infectious Disease* [online]. 2016, 3(1), 15-21 [cit. 2023-01-21]. ISSN 2049-9361. Dostupné z: doi:10.1177/2049936115621709
- 42 TAMMA, Pranita D, Samuel L AITKEN, Robert A BONOMO, Amy J MATHERS, David VAN DUIN a Cornelius J CLANCY. *Infectious Diseases Society of America Guidance on the Treatment of Extended-Spectrum β -lactamase Producing Entero-*

- bacterales (ESBL-E), Carbapenem-Resistant Enterobacterales (CRE), and Pseudomonas aeruginosa with Difficult-to-Treat Resistance (DTR- P. aeruginosa). Clinical Infectious Diseases [online]. 2021, 72(7), e169-e183 [cit. 2023-01-21]. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1093/cid/ciaa1478
- 43 HOLT, Kathryn E., Florent LASSALLE, Kelly L. WYRES, Ryan WICK a Rafał J. MOSTOWY. Diversity and evolution of surface polysaccharide synthesis loci in Enterobacterales. The ISME Journal [online]. 2020, 14(7), 1713-1730 [cit. 2023-01-22]. ISSN 1751-7362. Dostupné z: doi:10.1038/s41396-020-0628-0
- 44 European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance – Version 2.0, July 2017. Växjö: EUCAST; 2017. Available from: http://www.eucast.org/resistance_mechanisms.
- 45 URBÁŠKOVÁ, Pavla, Helena ŽEMLIČKOVÁ a Jaroslav HRABÁK. Jaké breakpointy používat pro interpretaci výsledků vyšetření citlivosti bakterií k antibiotikům?. Zprávy EM (SZÚ, Praha) [online]. 2010, 19(9), 266-267 [cit. 2023-01-25]. Dostupné z: https://szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/19_2010/09_zari/266_breakpointy.pdf
- 46 GISKE, Christian G., Luis Martinez MARTINEZ a Helena ŽEMLIČKOVÁ. Návod EUCAST pro detekci mechanismů rezistence a specifické rezistence s klinickým a/nebo epidemiologickým významem [online]. 2. přepracované vydání. EUCAST, 2017 [cit. 2023-01-25]. Dostupné z: https://szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/EUCAST/EUCAST_mechanizmy_rezistence_v2_2017.wrong.pdf
- 47 SADER, Helio Silva a Antonio Carlos Campos PIGNATARI. E Test: a novel technique for antimicrobial susceptibility testing. Sao Paulo Medical Journal [online]. 1994, 112(4), 635-638 [cit. 2023-01-25]. ISSN 1516-3180. Dostupné z: doi:10.1590/S1516-31801994000400003
- 48 NORDMANN, Patrice, Laurent POIREL a Laurent DORTET. Rapid Detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerging Infectious Diseases [online]. 2012, 18(9), 1503-1507 [cit. 2023-01-24]. ISSN 1080-6040. Dostupné z: doi:10.3201/eid1809.120355

- 49 NG-Test CARBA 5. Hardy Diagnostics [online]. Santa Maria: HARDY DIAGNOSTICS, 2019 [cit. 2023-03-10]. Dostupné z: <https://hardydiagnostics.com/wp-content/uploads/2019/10/CARBA5-IFU.pdf>
- 50 Věstník ministerstva zdravotnictví České republiky [online]. 2012. 2012 [cit. 2023-03-10]. Dostupné z: <https://www.mzcr.cz/wp-content/uploads/webpub/6865/36193/V%C4%9Bstn%C3%ADk%20MZ%20%C4%8CR%208-2012.pdf>
- 51 HRABÁK, Jaroslav, ŽEMLIČKOVÁ H., Výskyt multirezistentních gramnegativních bakterií v českých nemocnicích – upozornění na problém šíření bakterií produkujících transferabilní karbapenemázy. NRL pro ATB SZÚ, Ústav mikrobiologie LF UK v Plzni, PSMR při NRL pro ATB.
- 52 HRABÁK, Jaroslav, WALKOVÁ, R., ŽEMLIČKOVÁ, H., BERGEROVÁ, T., & URBÁŠKOVÁ, P. (2012). Detekce karbapenemáz u enterobakterií pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie (MS), fenotypových inhibičních testů a molekulárně-mikrobiologickými technikami. ZPRÁVY CENTRA EPIDEMIOLOGIE A MIKROBIOLOGIE (SZÚ, Praha), 21(4), 148–156.
- 53 HRABÁK, Jaroslav, Eva CHUDÁČKOVÁ a Radka WALKOVÁ. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry for Detection of Antibiotic Resistance Mechanisms: from Research to Routine Diagnosis. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2013, 26(1), 103-114 [cit. 2023-01-24]. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.00058-12
- 54 HAMMOUDI, D., C. AYOUB MOUBARECK a D. KARAM SARKIS. How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods. *Journal of Microbiological Methods* [online]. 2014, 107, 106-118 [cit. 2023-01-24]. ISSN 01677012. Dostupné z: doi:10.1016/j.mimet.2014.09.009
- 55 HRABÁK, Jaroslav a Eva CHUDÁČKOVÁ. Rezistence enterobakterií ke karbapenemům. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* [online]. 2008, 2008(4), 125-136 [cit. 2023-01-25]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/epidemiologie/2008-4/rezistence-enterobakterii-ke-karbapenemum-935>

- 56 HRABÁK J., URBÁŠKOVÁ P., BERGEROVÁ T., ŽEMLIČKOVÁ H.: Komentář k polskému doporučení postupu při výskytu kmenů Enterobacteriaceae produkujících karbapenemázy typu KPC ve zdravotnických zařízeních, Zprávy epidemiologie a mikrobiologie 19, 2010, 196-198.
- 57 ŽEMLIČKOVÁ, Helena, Anna SKÁLOVÁ, Vladislav JAKUBŮ, Kateřina CHUDĚJOVÁ, Veronika ROTOVÁ, Petra ŠPANĚLOVÁ, Costas C. PAPAGIANNITSIS a Jaroslav HRABÁK. Výskyt Enterobacterales produkujících karbapenemázy (CPE, Carbapenemase-Producing Enterobacterales) v České republice v letech 2014–2019. Zprávy CEM (SZÚ, Praha) [online]. 2020, 29(3), 114-118 [cit. 2023-01-25]. Dostupné z: https://szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/29_2020/03_brezen/114_008_Enterobacterales.pdf
- 58 MILNER, Danny A., Isaac SOLOMON, Nicole PECORA a Thing Rinda SOONG. Diagnostic Pathology: Infectious Diseases [online]. Elsevier, 2016 [cit. 2023-01-25]. ISBN 978-0-323-37677-8. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978032337677850053X>
- 59 CHAVDA, Kalyan D., Liang CHEN, Derrick E. FOUTS, et al. Comprehensive Genome Analysis of Carbapenemase-Producing Enterobacter spp: New Insights into Phylogeny, Population Structure, and Resistance Mechanisms. MBio [online]. 2016, 7(6), e02093-16 [cit. 2023-01-25]. ISSN 2161-2129. Dostupné z: doi:10.1128/mBio.02093-16
- 60 BROLUND, Alma, Nina LAGERQVIST, Sara BYFORS, Marc J STRUELENS, Dominique L MONNET, Barbara ALBIGER a Anke KOHLENBERG. Worsening epidemiological situation of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe, assessment by national experts from 37 countries, July 2018. Eurosurveillance [online]. 2019, 24(9) [cit. 2023-03-27]. ISSN 1560-7917. Dostupné z: doi:10.2807/1560-7917.ES.2019.24.9.1900123
- 61 ALBIGER, Barbara, Corinna GLASNER, Marc J. STRUELENS, Hajo GRUNDMANN a Dominique L. MONNET. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. Eurosurveillance [online]. 2015, 20(45) [cit. 2023-03-27]. ISSN 1560-7917. Dostupné z: doi:10.2807/1560-7917.ES.2015.20.45.30062

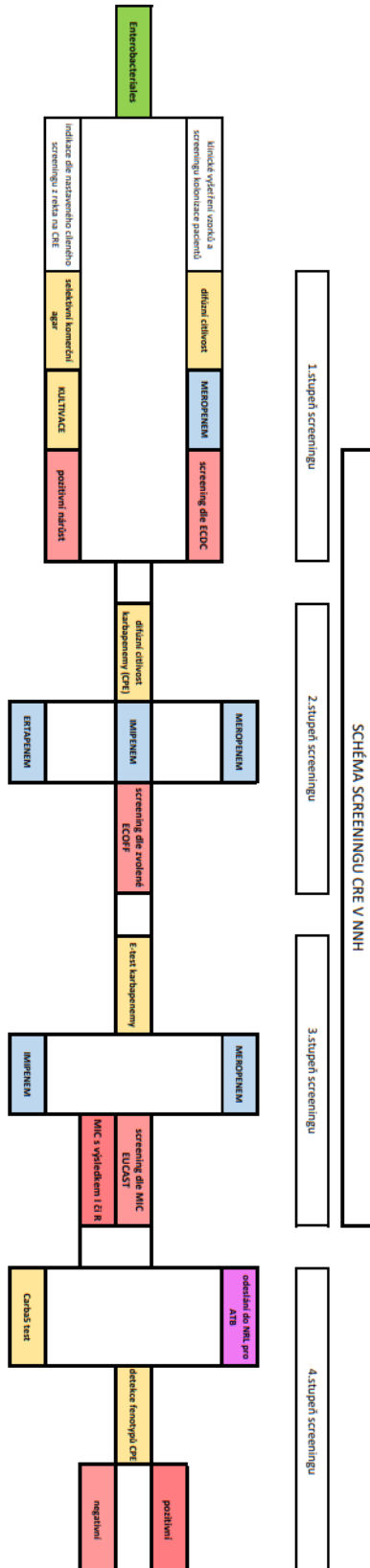
- 62 HAN, Renru, Qingyu SHI, Shi WU, et al. Dissemination of Carbapenemases (KPC, NDM, OXA-48, IMP, and VIM) Among Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Isolated From Adult and Children Patients in China. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [online]. 2020, 10 [cit. 2023-03-31]. ISSN 2235-2988. Dostupné z: doi:10.3389/fcimb.2020.00314
- 63 HAJI, Sayran Hamad, Safaa Toma Hanna AKA, Fattma A. ALI a Abdelazeem Mohamed ALGAMMAL. Prevalence and characterisation of carbapenemase encoding genes in multidrug-resistant Gram-negative bacilli. *PLOS ONE* [online]. 2021, 16(11) [cit. 2023-03-31]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0259005
- 64 GALANI, Irene, Ilias KARAIKOS, Irene KARANTANI, et al. Epidemiology and resistance phenotypes of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece, 2014 to 2016. *Eurosurveillance* [online]. 2018, 23(31) [cit. 2023-03-31]. ISSN 1560-7917. Dostupné z: doi:10.2807/1560-7917.ES.2018.23.30.1700775

SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha 1 – Postup diagnostiky betalaktamáz CPE
- Příloha 2 – Povolení o čerpání informací z LIS

PŘÍLOHY

Příloha 1 – Postup diagnostiky betalaktamáz CPE



Příloha 2 – Povolení o čerpání informací z LIS



Roentgenova 2, 150 30 Praha 5
Tel.: +420 257 271 111
IČO: 00023884

03_F_NNH_104
Žádost o provádění výzkumného šetření v NNH za účelem studijních prací

Žádost o provádění výzkumného šetření v NNH za účelem studijních prací

Jméno a příjmení žadatele	Kateřina Vitnerová
Datum narození	6. 2. 2000
Adresa trvalého bydliště	Draha 298, Řevničov 27054
Kontaktní telefon	723 726 312
Kontaktní email	vitnka@seznam.cz
Název vzdělávací instituce, kde žadatel studuje	Západočeská univerzita v Plzni
Anotace výzkumu	V posledních letech byl opakovaně zaznamenán endemický výskyt karbapenem rezistentních enterobakterií (CRE). V důsledku pandemie covid-19 a vlny na Ukrajině došlo k rozšíření těchto fenoménů a byly identifikovány nové varianty multirezistentních enterobakterií. Časná identifikace u hospitalizovaných pacientů je jedním ze zásadních mechanismů umožňujících zavedení včasných izolčních opatření. Cílem práce je ověřit detekční schopnosti zavedené detekce karbapenemů na základě výsledků analýzy dat ve sledovaném období.
Způsob provádění výzkumu	Analýza výsledků zavedené a rozšířené laboratorní detekce karbapenemů u enterobakterií v Nemocnici Na Homolce za období 2021 - 2022. Popis nastaveného algoritmu s odbornými podklady pro jednotlivé metody. Sběr dat s využitím lokálního LIS. Srovnání s výsledky referenční laboratoře.
Oddělení, na kterém bude výzkum prováděn	KMAS v Nemocnici na Homolce
Doba trvání výzkumu (od – do)	2022-2023
Způsob ochrany osobních údajů pacienta (GDPR), tj. přesně uvést, jak budou data získávána, kde budou uloženy zdrojové formuláře, v jaké formě budou data dále zpracovávána	Anonymní zpracování souborných dat čerpány z databáze LIS na KMAS. Primář MUDr. Jan Kubala

V Praze dne 13.10.2022

V Praze dne 17.10.2022

Vyjádření a podpis náměstka OP/náměstka LPP

<input checked="" type="checkbox"/> souhlasím	<input type="checkbox"/> nesouhlasím
---	--------------------------------------

Verze: 01, 7/2018

Vitnerová
Podpis studenta
Primář MUDr. Jan Kubala
Podpis garanta výzkumu (vedoucí stud. práce)
MUDr. Jana Křičnerová
náměstkyně pro očkovatelskou péči
Podpis náměstka OP/náměstka LPP

Stránka 1 z 1