

66. Hanley FL. The various therapeutic approaches to aortic coarctation: Is it fair to compare? *J Am Coll Cardiol* 1996;27:471–2.
67. Rao PS. Should balloon angioplasty be used instead of surgery for native aortic coarctation? *Br Heart J* 1995;74:578–9.
68. Presbitero P, Demarie D, Villani M i sur. Long term results (15–30 years) of surgical repair of aortic coarctation. *Br Heart J* 1987;57:462–7.
69. Cohen M, Fuster V, Steele PM i sur. Coarctation of the aorta. Long-term follow-up and prediction of outcome after surgical correction. *Circulation* 1989;80:840–5.
70. Toro-Salazar OH, Steinberger J, Thomas W i sur. Long-term follow-up of patients after coarctation of the aorta repair. *Am J Cardiol* 2002;89:541–7.
71. Deanfield J, Thaulow E, Warnes C i sur. Management of grown up congenital heart disease. *Eur Heart J* 2003;24:1035–84.
72. Beekman RH, Katz BP, Moorehead-Steffens C i sur. Altered baroreceptor function in children with systolic hypertension after coarctation repair. *Am J Cardiol* 1983;52:112–7.
73. O'Sullivan JJ, Derrick G, Darnell R. Prevalence of hypertension in children after early repair of coarctation of the aorta: a cohort study using casual and 24-hour blood pressure measurement. *Heart* 2002;88:163–6.
74. Romfh A, Pluchinotta FR, Porayette P, Valente AM, Sanders SP. Congenital heart defects in adults: A field guide for cardiologists. *J Clin Exp Cardiol* 2012, S:8.
75. Rosenthal E. Coarctation of the aorta from fetus to adult: curable condition of life long disease process? *Heart* 2005;91(11):1495–1502

PRVI OPIS KARBAPENEMAZE U OSJEČKO-BARANJSKOJ ŽUPANIJI U UNESENOM IZOLATU *ENTEROBACTER CLOACAE* IN VITRO OSJETLJIVOM NA KARBAPENEME

FIRST REPORT OF CARBAPENEMASES IN OSIJEK-BARANJA COUNTY IN IMPORTED *ENTEROBACTER CLOACAE* ISOLATE IN VITRO SUSCEPTIBLE TO CARBAPENEMS

BRANKA BEDENIĆ, VLASTA ZUJIĆ ATALIĆ, MAJA BOGDAN, NATAŠA BEADER,
KARMEN GODIĆ TORKAR, SENKA IŽAKOVIĆ*

Deskriptori: *Enterobacter cloacae* – enzimi, djelovanje lijeka; Beta-laktamaze – biosinteza; Testovi mikrobne osjetljivosti; Karbapenemi – farmakologija, terapijska primjena; Antibakterijski lijekovi – farmakologija, terapijska primjena; Bakterijska otpornost na lijekove; Hospitalne infekcije – mikrobiologija

Sažetak. Karbapenemi su često posljednja terapijska opcija za liječenje infekcija uzrokovanih multirezistentnim gram-negativnim bakterijama. Pojava karbapenemaza u izolatima enterobakterija ograničava terapijske mogućnosti. Izolati enterobakterija rezistentni na karbapenem pojavili su se od 2008. diljem Hrvatske. U Osječko-baranjskoj županiji do 2013. godine nije zapažena pojava izolata rezistentnih na karbapenem iz porodice *Enterobacteriaceae*. Prvi takav izolat (*Enterobacter cloacae*) identificiran je u kolovozu 2013. godine u bolesnice koja je prethodno boravila u KBC-u Zagreb radi liječenja akutne limfocitne leukemije. Molekularnim metodama dokazana je produkcija VIM-1 metalo-β-laktamaze (MBL). Unatoč produkciji metalo-β-laktamaze izolat nije pokazivao rezistenciju na imipenem u disk-difuzijskom i dilucijskom testu. Iz ovog prikaza proizlazi da rutinsko testiranje osjetljivosti koje se provodi u većini mikrobioloških laboratorija ne mora uvijek detektirati karbapenemazu u enterobakterija. Budući da su metalo-β-laktamaze kodirane prenosivim genskim elementima, postoji opasnost od horizontalnog širenja na druge bakterijske izolate enterobakterija i mogućnost pojave bolničkih epidemija.

Descriptors: *Enterobacter cloacae* – enzymology, drug effects; Beta-lactamases – biosynthesis; Microbial sensitivity tests; Carbapenems – pharmacology, therapeutic use; Anti-bacterial agents – pharmacology, therapeutic use; Drug resistance, bacterial; Cross infection – microbiology

Summary. Carbapenems are often the only therapeutic option to treat infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria. Emergence of carbapenemases in the isolates of *Enterobacteriaceae* limits therapeutic options. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* have emerged since 2008 throughout Croatia. In Osijek-Baranja County carbapenem-resistant strains of *Enterobacteriaceae* were not reported until 2013. The first carbapenem-resistant strain (*Enterobacter cloacae*) was identified in August 2013 in a patient previously hospitalized at University Hospital Center Zagreb for the treatment of acute lymphoblastic leukemia. Molecular analysis revealed the production of VIM-1 metallo-β-lactamase (MBL). In spite of the metallo-β-lactamase production the strain was not resistant to imipenem and meropenem in disk-

* Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb (prof. dr. sc. Branka Bedenić, dr. med.; doc. dr. sc. Nataša Beader, dr. med.), Služba za mikrobiologiju, Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije (dr. sc. Vlasta Zujčić Atalić, dr. med.; Maja Bogdan, dr. med.), Fakultet zdravstvenih znanosti, Univerzitet u Ljubljani (doc. dr. sc. Karmen Godić Torkar,

univ. dipl. biol.), Klinika za pedijatriju, KBC Osijek (Senka Ižaković, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Prof. dr. sc. B. Bedenić, Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju, KBC Zagreb, Kišpatičeva 12, e-mail: branka.bedenic@zg.t-com.hr

Primljeno 4. veljače 2014., prihvaćeno 24. studenoga 2014.

-diffusion and microdilution test. This report shows that routine susceptibility testing carried out in most laboratories does not necessarily detect carbapenemase production in *Enterobacteriaceae*. Since these enzymes are encoded on mobile genetic elements there is a risk of horizontal spread to other enterobacterial isolates and the development of hospital outbreaks.

Liječ Vjesn 2015; 137:17–21

Rezistencija na karbapeneme u enterobakterija nastaje različitim mehanizmima, ali najčešće zbog produkcije karbapenemaze iz grupa A, B i D iako pojačana aktivnost efluksnih pumpa i gubitak porina vanjske membrane mogu pridonijeti nastanku rezistencije.^{1,2} U klasi A nalaze se SME, NMC, IMI i KPC β -laktamaze,^{3–6} klasa B obuhvaća metalo- β -laktamaze iz serije^{7–9} VIM, IMP i NDM, a u klasi D opisana je OXA-48 β -laktamaza.¹⁰ U enterobakterija se može razviti smanjena otpornost na karbapeneme i zbog gubitka porina vanjske membrane (OmpK35 i OmpK36) u kombinaciji s produkcijom β -laktamaza proširenog spektra ili plazmidnih AmpC β -laktamaza.¹¹

Prvi opis metalo- β -laktamaza u Hrvatskoj bila je NDM-1 opisana 2008. u KBC-u Zagreb;¹² prva karbapenemaza iz grupe A bila je KPC-2 također iz KBC-a Zagreb, a pojavila se u 2011. godini.¹³ Nakon toga je u 2012. godini zabilježeno epidemijско pojavljivanje VIM metalo- β -laktamaza u KBC-u Zagreb i KBC-u Split, a sporadični slučajevi opisani su u županijskoj bolnici u Puli.^{14,15} U prethodnim istraživanjima dominirale su karbapenemaze iz porodice VIM, a u manjoj mjeri bile su zastupljene one iz porodica NDM i KPC.¹⁴ Podaci o stopama rezistencije na karbapeneme u pojedinih enterobakterija dostupni su u publikacijama Akademije medicinskih znanosti.^{16,17} U Osijeku je tijekom 2011.–2012. prikupljeno pet izolata sa smanjenom osjetljivošću na ertapenem i meropenem, ali su izolati bili pozitivni samo na β -laktamaze proširenog spektra (ESBL) iz porodice CTX-M uz vjerojatni gubitak porina vanjske membrane, ali točan mehanizam rezistencije nije bio istraživani. Prave karbapenemaze nisu opisane do 2013. godine kada se pojavio uneseni izolat od bolesnika koji je prethodno boravio u KBC-u Zagreb.

Prikaz bolesnice

Djevojčici u dobi od 9 godina dijagnosticirana je akutna limfocitna leukemija (ALL), na odjelu Klinike za pedijatriju KBC-a Osijek u travnju 2013. godine. Dogovorno je upućena u KBC Zagreb, Zavod za hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju na daljnje liječenje. Nakon završetka liječenja u KBC-u Zagreb, 25. 8. 2013. otpuštena je uz preporuku uzimanja ove terapije: kotrimoksazol 2 \times 240 mg, mikonazol 3 \times 1 žlica, merkaptopurin 1 \times 1/4 tbl. Ponovno liječenje u KBC-u Zagreb bilo je predviđeno za 4. 9. 2013., no zbog febriliteta djevojčica je primljena 27. 8. 2013. na odjel Klinike za pedijatriju KBC-a Osijek. Na dan prijma djevojčica je bila pri svijesti, visoko febrilna (aksilarna temperatura 40 °C), tlak 105/60 mmHg, sed. 15, CRP 57,1, PCT 0,58, D-dimeri 490, L 2,9, nes 5, neu 65, ly 23, mo 5, nešto toksično granuliranih. Ostali laboratorijski nalazi bili su uredni. Djetetu je odmah uvedena empirijska antibiotska terapija meropenemom u dozi od 20 mg/kg 3 \times na dan uz vankomicin 10 mg/kg 4 \times na dan.

Iz uzoraka hemokultura, uzetih odmah nakon prijma, treći dan je izoliran *Enterobacter cloacae* u Mikrobiološkoj službi Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije. Budući da je soj pokazivao smanjene zone disk-difuzije na ertapenem i imipenem, posavjetovali smo se s Odjelom za bolničke infekcije KBC-a Osijek i primijenjeni su mjere za kontrolu i sprječavanje bolničkih infekcija.

Unatoč poboljšanom općem stanju i padu tjelesne temperature trećeg dana hospitalizacije, antibiotska je terapija meropenemom nastavljena.

Izolirani soj poslan je na retestiranje u Referentni centar za praćenje rezistencije Ministarstva zdravlja pri Klinici za infektivne bolesti »Fran Mihaljević«. Potvrdio je da je izolirani soj *Enterobacter cloacae* koji producira VIM metalo- β -laktamazu.

Daljnji tijek liječenja prošao je bez komplikacija tako da je djevojčica već 5. 9. otišla u KBC Zagreb radi nastavka citostatske terapije.

Analiza rezistencije bakterijskog soja

Bakterije iz roda enterobakter mogu uzrokovati sepsu, infekcije urinarnog trakta, intraabdominalne infekcije i infekcije središnjega živčanog sustava. Imaju prirodenu rezistenciju na peniciline, cefalosporine prve generacije, cefoksitin i na kombinacije aminopenicilina s inhibitorima β -laktamaza. Stečena rezistencija na β -laktame može nastati zbog produkcije β -laktamaza širokog i proširenog spektra i karbapenemaza.

Inicijalno testiranje osjetljivosti na antibiotike provedeno je u Zavodu za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije prema smjernicama EUCAST-a disk-difuzijskom metodom i E-testom.¹⁸ U disk-difuzijskom testu soj je pokazivao smanjenu osjetljivost na imipenem (zona 20 mm) i rezistenciju na ertapenem (zona 21 mm), dok je na meropenem (zona 25 mm) bio osjetljiv. Prema EUCAST-u inhibicijska zona veća od 22 mm označava osjetljivost na meropenem i imipenem, a manja od 16 mm označava rezistenciju. Za ertapenem veličina zone veća od 25 mm označava osjetljivost, a manja od 22 mm rezistenciju disk-difuzijskom metodom.¹⁸ Vrijednosti E-testa bile su za meropenem (MIK = 0,38 mg/L), ertapenem (MIK = 0,75 mg/L) i imipenem (MIK = 0,75 mg/L). Prema smjernicama EUCAST-a vrijednost MIK-a (minimalne inhibitorne koncentracije) veća od 8 mg/L označava rezistenciju na meropenem i imipenem, a veća od 1 mg/L rezistenciju na ertapenem. Prijelomne točke koje označavaju osjetljivost iznose 2 mg/L za meropenem i imipenem, a 0,5 mg/L za ertapenem.¹⁸ Izolat je poslan na retestiranje u Referentni centar za praćenje rezistencije Ministarstva zdravlja pri Klinici za infektivne bolesti »Fran Mihaljević« gdje je dokazana produkcija VIM metalo- β -laktamaze, a E-testom je utvrđena osjetljivost na meropenem (MIK = 0,25 mg/L), imipenem (MIK = 0,75 mg/L) i ertapenem (MIK = 0,25 mg/L). Nakon toga je soj upućen u Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju KBC-a Zagreb radi molekularne analize metalo- β -laktamaze (MBL). Fenotipska i molekularna karakterizacija β -laktamaza načinjena je u KBC-u Zagreb gdje je osjetljivost na antibiotike testirana mikrodilucijom u bujonu prema CLSI-u.¹⁹ Prema smjernicama CLSI-a vrijednost MIK-a (minimalne inhibitorne koncentracije) od 4 mg/L označava rezistenciju na meropenem i imipenem, a od 2 mg/L rezistenciju na ertapenem. Prijelomne točke koje označavaju osjetljivost iznose 1 mg/L za meropenem i imipenem, a 0,5 mg/L za ertapenem.²⁰ Određivanjem MIK-a utvrđen je visok stupanj rezistencije na amoksisicilin sam i u kombinaciji s

Tablica 1. Minimalne inhibitorne koncentracije (mg/L) različitih antibiotika za soj *E. cloacae* 3294
 Table 1. Minimum inhibitory concentrations (mg/L) of various antibiotics for the strain *E. cloacae* 3294

| Izolati | Datum | Uzorak | Odjel | AMX | AMC | PIP | TZP | CZ | CXM | CAZ | CTX | CRO | FEP | FOX | IMI | MEM | ERT | GM | CIP | COL |
|---------|---------------|------------------------------|----------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|-----|------|
| Isolate | Date | Specimen | Department | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3294 | 27. 08. 2013. | Hemokultura Blood culture | Pedijatrija Paediatrics | >128 | >128 | >128 | >128 | >128 | >128 | >128 | >128 | 16 | 8 | 32 | 1 | 1 | 0,25 | >128 | 2 | 0,12 |

klavulanskom kiselinom, piperacilin sam i u kombinaciji s tazobaktamom, cefazolin, cefuroksim, ceftazidim, cefotaksim, cefoksitin i gentamicin s minimalnom inhibitornom koncentracijom (MIK) od >128 mg/L. Soj je bio umjereno osjetljiv na ciprofloksacin (MIK 2 mg/L) prema smjernicama CLSI-a, a rezistentan prema EUCAST-u. Pokazivao je osjetljivost na imipenem, meropenem (MIK 1 mg/L) i ertapenem (0,5 mg/L) uz neznatno više vrijednosti MIK-a dobivene metodom mikrodilucije u bujonu u odnosu na E-test. Zadržana je osjetljivost na kolistin, što se vidi iz tablice 1. Produkcija karbapenemaze testirana je modificiranim Hodgeovim testom²¹ i metodom kombiniranih diskova s fenilboroničnom kiselinom za detekciju KPC β-laktamaza i EDTA za detekciju metalo-β-laktamaza.²² Produkcija β-laktamaza proširenog spektra (ESBL) testirana je metodom dvostrukog diska²³ i metodom kombiniranih diskova uz dodatak klavulanske kiseline prema CLSI-u.¹⁹ Geni koji kodiraju i β-laktamaze širokog i proširenog spektra (ESBL) (*bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}),²⁴⁻²⁶ plazmidne AmpC β-laktamaze²⁷ i karbapenemaze iz klase A (*bla*_{KPC}, *bla*_{IMI}, *bla*_{NMC}),³⁻⁶ B (*bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{NDM})⁷⁻¹⁰ i D (*bla*_{OXA48})¹⁰ i *qnr* A, B i S^{28,29} geni su detektirani PCR-om kao što je prije opisano. Integron je amplificiran početnicama za klasu 1 integrona, a metodom PCR-mapiranja utvrđen je položaj *bla*_{VIM} gena unutar integrona.³⁰ Plazmidi koji kodiraju karbapenemaze tipizirani su metodom *PCR replicon typing*.³¹ Hodgeov test i test kombiniranih diskova s EDTA (povećanje inhibicijske zone oko diska meropenema uz dodatak EDTA u odnosu na kontrolni disk bez metalnog kelatora) bio je pozitivan (povećanje zone za 10 mm), što je upućivalo na produkciju metalo-β-laktamaze. Test kombiniranih diskova s klavulanskom kiselinom za detekciju ESBL-a i s fenilboroničnom kiselinom za detekciju plazmidnih AmpC β-laktamaza bio je negativan. PCR je davao produkt s početnicama specifičnim za *bla*_{VIM}, *bla*_{TEM} i *qnr* B gene. Sekvenciranjem tih gena identificirane su VIM-1 i TEM-1 β-laktamaze. *Bla*_{VIM-1} bio je smješten u klasi 1 integrona kao prva genska kasetna. Metodom *replicon typing* utvrđeno je da plazmid koji kodira tu metalo-β-laktamazu spada u IncA/C PBRT.

Rasprava i zaključak

Ovo je prvi prikaz pojave metalo-β-laktamaze u kliničkom izolatu enterobakterije u Osječko-baranjskoj županiji. S obzirom na to da je bolesnica prethodno boravila na Zavodu za hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju KBC-a Zagreb gdje je dokazano epidemijsko pojavljivanje VIM-pozitivnih izolata *E. cloacae*¹⁴ nameće se zaključak da je došlo do kolonizacije takvim sojem za vrijeme liječenja u Zagrebu. Međutim, za razliku od izolata iz Zagreba soj iz Osijeka pokazivao je osjetljivost na karbapeneme, kao i nedostatak *bla*_{ESBL} i plazmidnih *bla*_{ampC} gena, ali je zadržao *qnrB* gen koji kodira smanjenu osjetljivost na fluorokinolone. Moguće je objašnjenje da je ponavljanim pasažama soja bez selekcijskog učinka karbapenema došlo do smanjenja ekspresije *bla*_{VIM-1} gena, kao i do gubitka plazmidnih gena koji kodiraju β-laktamaze proširenog spektra i plazmidne

AmpC β-laktamaze. U planu su istraživanja genotipizacije soja koja bi omogućila usporedbu PFGE profila izolata iz Osijeka i VIM-pozitivnih izolata s KBC-a Zagreb, što bi dalo uvid u podrijetlo soja. Zahvaljujući učinkovitim metodama za sprječavanje bolničkih infekcija, soj se nije proširio na ostale bolesnike ili na druge odjele. Pojava metalo-β-laktamaza u enterobakterija u KBC-u Osijek upućuje na regionalno širenje stečenih karbapenemaza u Hrvatskoj transferom koloniziranih bolesnika. VIM-1 je vrlo proširen tip metalo-β-laktamaze u enterobakterija na Dalekom istoku,³² ali postoje izvještaji i iz Grčke, Španjolske i Austrije.³³⁻³⁵ Visoka učestalost stečenih karbapenemaza zapažena je u velikim bolničkim centrima u Zagrebu i Splitu koji sadržavaju hematološke odjele i odjele za transplantaciju organa gdje se nalazi velik broj imunodeficientnih bolesnika koloniziranih multirezistentnim sojevima.^{14,15} U KBC-u Zagreb izoliran je u 2012. 121 soj od 11.891 izolata enterobakterija sa smanjenom osjetljivošću na karbapeneme (1%), dok su u KBC-u Osijek od ukupno 7423 enterobakterije izolirane 4 takva soja (0,05%).¹⁴ U manjim bolničkim centrima javljaju se najčešće uneseni slučajevi zbog transfera bolesnika. Rijeđak oblik rezistencije na karbapeneme opisan je nedavno u izolatu *E. cloacae* u KB »Sveti Duh«. Rezistencija na karbapeneme bila je uzrokovana produkcijom IMI-1 karbapenemaze koja spada u grupu A.³⁶ U Hrvatskoj se rezistencija na antibiotike sustavno prati s obzirom na rad Odbora za praćenje rezistencije Akademije medicinskih znanosti Hrvatske i Referentnog centra Ministarstva zdravlja za praćenje rezistencije pri Klinici za infektivne bolesti »Dr. Fran Mihaljević« i dio je nacionalnog programa koji provodi Interdisciplinarna sekcija za kontrolu rezistencije na antibiotike (ISKRA). U sklopu nacionalnog praćenja referentni centar prikuplja izolate enterobakterija rijetkog fenotipa iz cijele Hrvatske, što je omogućilo uočavanje prvih sojeva s novim mehanizmima rezistencije. Pravodobno otkrivanje sojeva koji sadržavaju karbapenemaze, pogotovo onih koji pokazuju i veliki epidemijski potencijal, poput ST 258 *Klebsiella pneumoniae*, preduvjet je za uspješno kontroliranje širenja rezistencije.¹⁶ Kako bi se spriječilo regionalno širenje enterobakterija pozitivnih na karbapenemazu trebalo bi načiniti probir svih bolesnika koji dolaze iz druge zdravstvene ustanove u Hrvatskoj ili iz inozemstva na enterobakterije rezistentne na karbapenem uzimanjem obriska rektuma ili pretragom stolice. Preporuka Ministarstva zdravlja Republike Hrvatske jest da sve bolesnike koji dolaze iz sjeverozapadne Hrvatske treba smjestiti u kontaktnu izolaciju dok se nadzornim kulturama ne isključi kliconoštvo. Ta je mjera usmjerena na detekciju KPC sojeva koji se epidemiološki najbrže šire, no otkrila bi i izolate koji proizvode ostale karbapenemaze. Pravilna i pravodobna laboratorijska identifikacija takvih sojeva izuzetno je važna. U Hrvatskoj se od 2010. primjenjuju smjernice EUCAST-a u rutinskoj obradi sojeva,¹⁸ međutim, enterobakterije koje produciraju karbapenemazu mogu imati MIK-ove ispod prijelomne točke za rezistenciju.³⁷ Prema smjernicama EUCAST-a za detekciju rezistentnih mehanizama i specifičnih rezistencija od kliničkog i epidemiološkog značenja iz 2012. godine

sumnja na produkciju karbapenemaze postavlja se na temelju tzv. *cutt off* vrijednosti inhibicijskih zona oko diskova karbapenema (zona <25 mm za meropenem i ertapenem i <23 mm za imipenem) ili vrijednosti MIK-a (>0,125 za meropenem i ertapenem i >1 za imipenem). Prema tim smjernicama meropenem ima najbolju osjetljivost i specifičnost i samim time može najbolje detektirati proizvodnju karbapenemaze. U laboratoriju se najčešće uočava rezistencija na ertapenem. Ovaj karbapenem, iako vrlo osjetljiv kada su u pitanju karbapenemaze, nedovoljno je specifičan budući da se rezistencija iskazuje i u izolata koji imaju ESBL i AmpC β-laktamaze, posebice u kombinaciji s gubitkom porina.³⁷ U našem slučaju meropenem se nije pokazao dovoljno osjetljivim u disk-difuziji jer su zone inhibicije u inicijalnom testiranju bile ne samo iznad prijelomne točke nego i iznad *cutt off* vrijednosti za detekciju rezistencije za razliku od ertapenema koji je bio dovoljno osjetljiv i u inicijalnom testiranju rezistentan.

Izolatu smanjene osjetljivosti na karbapeneme može se načiniti modificirani Hodgeov test koji fenotipski dokazuje produkciju karbapenemaze, ali budući da nije dovoljno specifičan ni osjetljiv, po smjernicama EUCAST ne bi ga trebalo rabiti. Preporuka je i primjena Carba NP (Nordmann i Poirel) testa koji je jednostavan za izvođenje i ima visoku osjetljivost i specifičnost. To je biokemijski test koji se bazira na hidrolizi imipenema, što dovodi do promjene pH i posljedično do promjene boje.³⁸ Ne zahtijeva dodatnu opremu, ali se ne preporučuje u laboratorijima bez dovoljno iskustva u detekciji β-laktamaza.

Moguće je i zasijavanje bolesničkih uzoraka na kromogene ploče za detekciju karbapenemaze (CHROM agar), ali ta metoda nije pouzdana za detekciju OXA-48 β-laktamaze. U ovom su slučaju i rezultati dobiveni testom dilucije u bujonu i E-testom upućivali na osjetljivost. Zlatni standard za detekciju karbapenemske rezistencije jest PCR s početnicama specifičnim za karbapenemaze iz grupa A, B i D. Neki autori preporučuju određivanje hidrolize karbapenemskih supstrata UV spektrofotometrijskom metodom koja je jeftina, ali je komplicirana za izvođenje i zahtijeva veliki utrošak vremena i educirano osoblje.³⁸ Važan je zaključak i da terapija meropenemom može dovesti do kliničkog izlječenja unatoč produkciji metalo-β-laktamaze ako soj pokazuje *in vitro* osjetljivost na karbapeneme, što je bio slučaj u našeg pacijenta.

Prema podacima iz literature kombinacija dvaju ili više djelotvornih lijekova za sada ima prednost u liječenju infekcija uzrokovanih gram-negativnim enterobakterijama koje produciraju karbapenemazu i u smislu prevencije razvoja rezistencije i u smislu utjecaja na preživljavanje. Ako je MIK za meropenem manji od 4 μg/mL, meropenem se preporučuje dati u kombinaciji s kolistinom, tigeciklinom ili jednim aminoglikozidom (npr., amikacin je često učinkovit kod multirezistentnih sojeva). Ako je MIK za meropenem između 4 i 8 μg/mL, meropenem se još može dati u kombinaciji, ali ako se primijeni u višoj dozi i kontinuiranoj infuziji (3-satna infuzija 2 grama svakih 8 sati).^{39,40} Zasadu ne postoje jasno određene preporuke vezane uz terapiju karbapenemima ako soj proizvodi karbapenemazu, ali pokazuje osjetljivost na karbapeneme. Tigeciklin nije pogodan za liječenje sepse i infekcija urinarnog trakta zbog niskih koncentracija u tim tjelesnim tekućinama. Tijekom liječenja kolistinom, ako se daje u monoterapiji, postoji rizik od pojave heterorezistencije.

Liječenje infekcija uzrokovanih gram-negativnim bakterijama koje produciraju karbapenemazu velik je terapijski

problem u bolnicama, a valja očekivati i njihovo pojavljivanje u izvanbolničkoj populaciji kao što se dogodilo i s β-laktamazama proširenog spektra koje su se nakon širenja u bolnicama počele pojavljivati i u izvanbolničkih pacijenata.⁴¹

Infekcije uzrokovane sojevima koji produciraju karbapenemazu povezane su s većim mortalitetom, produženim boravkom u bolnici, povećanim troškovima liječenja i znatno većim rizikom od terapijskog neuspjeha i pojave komplikacija.

LITERATURA

- Poirel L, Pitout JD, Nordmann P. Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiol* 2007;2:501–12.
- Canton R, Akova M, Carmely Y i sur. Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:413–31.
- Yigit H, Quennan AM, Anderson GJ i sur. Novel carbapenem-hydrolyzing β-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1151–61.
- Naas T, Vandel W, Sougakoff W, Livermore DM, Nordmann P. Cloning and sequence analysis of the gene for carbapenem hydrolyzing class A β-lactamase, SME-1 from *Serratia marcescens* S6. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:1262–70.
- Nordmann P, Mariotte S, Naas T, Labia R, Nicolas MH. Biochemical properties of a carbapenem-hydrolyzing β-lactamase of *Enterobacter cloacae* and cloning of the gene into *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:939–46.
- Prottumarthy S, Moland ES, Jeretschko S, Swanzy R, Thomson KS, Fritsche TR. NMC-A carbapenem-hydrolyzing enzyme in *Enterobacter cloacae* in North America. *Emerg Infect Dis* 2003;9:999–1002.
- Yan JJ, Ko WC, Tsai SH, Wu HM, Wu JJ. Outbreak of infection with multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* carrying bla_{IMP-8} in a University Medical Center in Taiwan. *J Clin Microbiol* 2001;39:4433–9.
- Giakkoupi P, Xanthaki A, Kanelopoulou M i sur. VIM-1 Metallo-β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Greek Hospital. *J Clin Microbiol* 2003;41:3893–6.
- Mulvey MR, Grant JM, Plewes K, Roscoe D, Boyd DA. New Delhi metallo-β-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*, Canada. *Emerging Infect Dis* 2011;17:103–6.
- Aktas Z, Kayacan CB, Schneider I, Can B, Midilli K, Bauernfeind A. Carbapenem-hydrolyzing oxacillinase, OXA-48 persists in *Klebsiella pneumoniae* in Istanbul, Turkey. *Chemotherapy* 2008;54:101–6.
- Elliot E, Brink AJ, Van Greune JJ i sur. In vivo development of ertapenem resistance in a patient with pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* with an extended-spectrum β-lactamase. *Clin Infect Dis* 2006;42:95–98.
- Mazzariol A, Bošnjak Z, Ballarini P i sur. NDM-1 producing *Klebsiella pneumoniae*, Croatia. *Emerg Infect Dis* 2012;18:532–34.
- Bedenić B, Mazzariol A, Plečko V i sur. First report of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in Croatia. *J Chemother* 2012;24:237–9.
- Zujic-Ataljić V, Bedenić B, Cocsis E i sur. Diversity of carbapenemases in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* from Croatia; the results of the multicenter study. *Clin Microbiol Infect* 2014; E pub ahead of print. 27 March.
- Novak A, Goić-Barišić I, Tambić-Andrašević A i sur. Monoclonal outbreak of VIM-1 carbapenemase-producing *Enterobacter cloacae* in Intensive Care unit, University Hospital Center Split, Croatia. *Microb Drug Res* 2014; E pub ahead of print.
- Tambić-Andrašević A, Jelić M, Gužvinec M, Butić I, Bukovski S. Rezi-stentne enterobakterije u Hrvatskoj – uloga praćenja rezistencije na antibiotike na nacionalnoj razini. *Infektol Glasn* 2012;32:45–52.
- Butić I, Tambić-Andrašević A. Testiranje izolata od posebnog značaja. U: Tambić-Andrašević A, Tambić T, ur. Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2012. Zagreb: Akademija medicinskih znanosti Hrvatske; 2013, str. 125.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 3.1, 2013. (<http://www.eucast.org>), dostupno od prosinca 2012.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing. Approved tenth edition. CLSI document M02-A10. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
- Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 22th informational supplement. Approved standard M100-S22. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA-double-disk synergy test for differentiating metallo-β-lactamase-producing isolates of *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.* *J Clin Microbiol* 2003;41:4623–9.

22. Pasteran F, Mendez T, Guerriero L, Rapoport M, Corso A. A sensitive screening test for suspected class A carbapenemase production in species of *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol* 2009;41:631–9.
23. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988;10:867–878.
24. Nüesch-Inderbinen MT, Hächler H, Kayser FH. Detection of genes coding for extended-spectrum SHV β -lactamases in clinical isolates by a molecular genetic method, and comparison with the E test. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15(5):398–402.
25. Arlet G, Brami G, Decre D, Flippo A, Gaillot O, Lagrange PH. Molecular characterization by PCR restriction fragment polymorphism of TEM β -lactamases. *FEMS Microbiol Lett* 1995;134(2–3):203–8.
26. Woodford N, Ward ME, Kaufmann ME, Turton J, Fagan EJ, James D. Community and hospital spread of *Escherichia coli* producing CTX-M extended-spectrum β -lactamases in the UK. *J Antimicrob Chemother* 2004;54(4):735–43.
27. Perez-Perez FJ, Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2002;40(6):2153–62.
28. Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis* 2006;6:629–40.
29. Robicsek A, Strahilevitz J, Dahm DF i sur. qnr prevalence in ceftazidime-resistant *Enterobacteriaceae* from United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:2872–4.
30. Jeong SK, Lee K, Chong Y i sur. Characterization of a new integron containing VIM-2, a metallo- β -lactamase gene cassette, in a clinical isolate of *Enterobacter cloacae*. *J Antimicrob Chemother* 2003;51:397–400.
31. Carattoli A, Bertini A, Villa L, Falbo V, Hopkins KL, Threlfall EJ. Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *J Microbiol Methods* 2005;63(3):219–28.
32. Yan JJ, Ko WCK, Chuang C, Wu JJ. Metallo β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in a university hospital in Taiwan: prevalence of IMP-8 *Enterobacter cloacae* and first identification of VIM-1 in *Citrobacter freundii*. *J Antimicrob Chemother* 2002;50:503–11.
33. Galani I, Souli M, Chryssouli Z, Orlandou K, Giamarellou H. Characterization of a new integron containing bla_{VIM-1} and aac(6')-IIc in an *Enterobacter cloacae* clinical isolate from Greece. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:634–8.
34. Miro E, Segura C, Navarro F i sur. Spread of plasmids containing the blaVIM-1 and blaCTX-M genes and the qnr determinants in *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* isolates. *J Antimicrob Chemother* 2010;65:661–5.
35. Zarfel G, Hoenigl M, Würstl B, i sur. Emergence of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in Austria 2001–2010. *Clin Microbiol Infect* 2011;17(11):E5–8.
36. Bejuk D, Novkovski M, Juranko V i sur. Prikaz rijetko viđenog oblika otpornosti na karbapeneme u vrste *Enterobacter cloacae*. *Liječ Vjesn* 2013;135:316–20.
37. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. EUCAST, (http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Consultation/EUCAST_guidelines_detection_of_resistance_mechanisms_1212_22.pdf), dostupno od prosinca 2012.
38. Nordmann P, Poirel L. Strategies for identification of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother* 2013;68:487–9.
39. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C i sur. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae*: Importance of combination therapy. *Clin Infect Dis* 2012;55:943–50.
40. Kuti JL, Dandekar PK, Nightingale CH, Nicolau DP. Use of Monte Carlo simulation to design an optimized pharmacodynamic dosing strategy for meropenem. *J Clin Pharmacol* 2003;43:1116–23.
41. Daikos GL, Markogiannakis A. Carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae*: (when) might we still consider treating with carbapenems? *Clin Microbiol Infect* 2011;17:1135–41.

* * *

Vijesti News



POZIV NA SUDJELOVANJE Petnaesti proljetni simpozij medicinske etike Hrvatskoga liječničkog zbora »Etičnost 'alibi' medicine«

Hrvatski liječnički zbor
2. lipnja 2015. od 14,00 do 20,00 sati

Simpozij će bodovati Hrvatska liječnička komora!

Sažetak s 3–5 ključnih riječi, molimo poslati do **1. ožujka 2015.**

Cjelokupni rad (naslov, autor, adresa autora, sažetak, summary, tekst rada, literatura napisana prema uputama za Liječnički vjesnik) molimo poslati do **15. travnja 2015.** na adrese:

tajnistvo@hlz.hr

g_ivanisevic@hotmail.com