

# KLINICKÁ MIKROBIOLOGIE A INFEKČNÍ LÉKAŘSTVÍ

Interdisciplinární časopis vydávaný pod záštitou  
Společnosti infekčního lékařství, Společnosti pro lékařskou mikrobiologii  
a Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně

## REDAKČNÍ RADA

### Šéfredaktor

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.  
Ústav mikrobiologie FN OL a LF UP v Olomouci

### Zástupci šéfredaktora

Doc. MUDr. Stanislav Plíšek, Ph.D.  
Klinika infekčních nemocí LF UK a FN Hradec Králové  
Doc. MUDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA  
Státní veterinární ústav, Olomouc

### Redakční rada

Prof. MUDr. Jiří Beneš, CSc.  
Infekční klinika 3. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha  
Prof. MUDr. Jiří Beran, CSc.  
Centrum očkování a cestovní medicíny, Hradec Králové  
Doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.  
Ústav klinické mikrobiologie LF UK a FN Hradec Králové  
Doc. MUDr. Pavel Čermák, CSc.  
Odd. klinické mikrobiologie Thomayerova nemocnice, Praha  
MUDr. Pavel Dlouhý  
Infekční oddělení a AIDS centrum,  
Krajská zdravotní, a. s., Ústí nad Labem  
Doc. MUDr. Olga Džupová, Ph.D.  
Infekční klinika 3. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha  
Doc. MUDr. Petr Hamal, Ph.D.  
Ústav mikrobiologie FN OL a LF UP v Olomouci  
Prof. MUDr. Petr Husa, CSc.  
Klinika infekčních chorob, LF MU a FN Brno  
Doc. RNDr. Dittmar Chmelař, Ph.D.  
NRL pro anaerobní bakterie, LF Ostravské Univerzity  
Prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.  
Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF UK v Praze  
Prof. MUDr. Daniela Kotulová, PhD.  
Čestná členka Slovenskej spoločnosti klinickej  
mikrobiologie, SLS  
Doc. MUDr. Lenka Krbková, CSc.  
Klinika dětských infekčních nemocí, LF MU a FN Brno  
MUDr. Pavla Křížová, CSc.  
Státní zdravotní ústav, Praha  
MUDr. Roman Kula, CSc.  
Anesteziologicko-resuscitační klinika, FN Ostrava  
MUDr. Otakar Nyč, Ph.D.  
Ústav lék. mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha  
Doc. MUDr. Hanuš Rozsypal, CSc.  
Infekční klinika 1. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha  
Doc. MUDr. Luděk Rožnovský, CSc.  
Klinika infekčního lékařství, FN Ostrava  
MUDr. Josef Scharfen, CSc.  
Odd. lék. mikrobiol. a imunol. Oblast. nemocnice Trutnov  
Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.  
Klinika pro infekční choroby, LF UPJŠ, Košice  
Doc. MUDr. Marie Staňková, CSc.  
Infekční klinika 1. LF, Nemocnice Na Bulovce, Praha  
Doc. MUDr. Karel Urbánek, Ph.D.  
Ústav farmakologie, FN a LF UP v Olomouci  
Prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.  
Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně  
MUDr. Eva Zampachová  
Centrální laboratoře, laboratoř virologie, Nemocnice  
České Budějovice, a. s.

## OBSAH

### ÚVODNÍK

*J. Bardoň*

35

### PŮVODNÍ PRÁCE

#### Dopad pandemie covid-19 na antimikrobiální rezistenci

*K. Fišerová, L. Doubravská, M. Htoutou Sedláková, M. Kolář*

36

#### Může zavedení definice rezistence typu difficult-to-treat prohloubit spolupráci mezi mikrobiology a klinickými lékaři?

*G. Kroneislová, J. Závora, V. Adámková*

52

### KRÁTKÉ SDĚLENÍ/KAZUISTIKA

#### Družež jako rezervoár zoonotických kmenů *Escherichia coli*

*A. Papoušková*

42

#### Kazuistika fatální sepse způsobené *Actinobacillus suis/A. equuli* u dospělého muže

*P. Ježek, L. Mališová, R. Šafránková*

45

#### Digitalizace v klinické mikrobiologii

*M. Kolář*

48

### PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

#### Farmakologické vlastnosti kolistinu

*J. Rychlíčková, V. Kubičková*

59



## VYDAVATEL

### a adresa redakce:

TRIOS, spol. s r. o.,  
Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4-Chodov  
Tel.: +420 267 912 030, Fax: +420 267 915 563  
redakce@trios.cz, http://kml.trios.cz  
Redakce: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

Inzerce: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

Sazba: SILVA, s. r. o., Táborská 31, Praha 4  
Tisk: GRAFOTECHNA Plus, s. r. o.  
Lýskova 1594/33, 155 00 Praha 13-Stodůlky

Časopis je indexován a excerptován v databázích Medline/Index Medicus,  
Embase/Excerpta Medica Database a Scopus.

Všechny příspěvky kromě zpráv a dopisů redakci procházejí nezávislou recenzí.

Vychází 4x ročně, roční předplatné 540,- Kč.

Povoleno Ministerstvem kultury ČR pod č. MK ČR 7352.

ISSN 1211-264X

Podávání novinových zásilek povolila Česká pošta, s. p., odštěpný závod Praha, čj. nov. 5449/95 ze dne 7. 12. 1995. Vydavatel nese odpovědnost za údaje a názory autorů jednotlivých článků nebo inzerce. Současně si vyhrazuje právo na drobné stylistické úpravy článků. Žádná část tohoto časopisu nesmí být bez předchozího písemného souhlasu vlastníka autorských práv kopírována a rozmnožována za účelem dalšího rozšiřování v jakémkoliv formě či jakýmkoliv způsobem (ať mechanickým, nebo elektronickým – včetně pořizování fotokopii, nahrávek či informačních databází).



# CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

Interdisciplinary journal published under the auspices  
of the Societies for Clinical Microbiology, for Epidemiology and Microbiology and for Infectious Diseases,  
Members of the Czech Medical Association of Jan Evangelista Purkyně

## EDITORIAL BOARD

### Editor in Chief

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.  
Department of Microbiology, Faculty of Medicine  
and Dentistry, Palacký University in Olomouc

### Editors

Doc. MUDr. Stanislav Plíšek, Ph.D.  
Department of Infectious Diseases, Univ. Hospital Hradec  
Králové and Fac. of Medicine Hradec Králové, Charles Univ.

Doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA  
State Veterinary Institute, Olomouc

Prof. MUDr. Jiří Beneš, CSc.  
Dept. Infect. Dis. 3<sup>rd</sup> Med. Faculty, Charles Univ. Prague

Prof. MUDr. Jiří Beran, CSc.  
Vaccination Centre and Travel Medicine, Hradec Králové

Doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.  
Dept. of Clinical Microbiology, Univ. Hospital Hradec  
Králové and Fac. of Medicine Hradec Králové, Charles Univ.

Doc. MUDr. Pavel Čermák, CSc.  
Dept. of Clinical Microbiology, Thomayer Univ. Hospital,  
Prague

MUDr. Pavel Dlouhý  
Department of Infectious Diseases and AIDS Centre,  
Masaryk Hospital in Ústí nad Labem

Doc. MUDr. Olga Džupová, Ph.D.  
Dept. Infect. Dis. 3<sup>rd</sup> Med. Faculty, Charles Univ. Prague

Doc. MUDr. Petr Hamal, Ph.D.  
Department of Microbiology, Faculty of Medicine  
and Dentistry, Palacký University in Olomouc

Prof. MUDr. Petr Husa, CSc.  
Department of Infectious Diseases, Faculty of Medicine,  
Masaryk University and University Hospital in Brno

Doc. RNDr. Dittmar Chmelář, Ph.D.  
Dpt. of Biomedical Sciences, University  
of Ostrava's Faculty of Medicine

Prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.  
Inst. of Immunol. and Microbiol., 1<sup>st</sup> Fac. of Med., Charles  
Univ. in Prague and General Univ. Hosp. in Prague

Prof. MUDr. Daniela Kotulová, PhD.  
Honorary member of Slovak Society of Clinical Microbiology

Doc. MUDr. Lenka Krbková, CSc.  
Clinic of Children's Infectious Diseases,  
Masaryk University and University Hospital in Brno

MUDr. Pavla Křížová, CSc.  
National Institute of Public Health, Prague

MUDr. Roman Kula, CSc.  
Dept. of Anaesthesiology and Resuscit., Univ. Hosp. Ostrava

MUDr. Otakar Nyč, Ph.D.  
Inst. Med. Microbiol. Charles Univ. 2<sup>nd</sup> Med. Fac. Prague

Doc. MUDr. Hanuš Rozsypal, CSc.  
Dept. of Infect. Dis, 1<sup>st</sup> Med. Faculty, Charles Univ. Prague

Doc. MUDr. Luděk Rožnovský, CSc.  
Dept. Infectious Diseases, University Hospital Ostrava

MUDr. Josef Scharfen, CSc.  
Dept. Med. Microbiol. Immunol. Regional Hospital Trutnov

Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.  
Clinic of Infectious Diseases, Medical faculty, Košice

Doc. MUDr. Marie Staňková, CSc.  
Dept. Infect. Dis, 1<sup>st</sup> Med. Faculty, Charles Univ., Prague

Doc. MUDr. Karel Urbánek, Ph.D.  
Dept. of Pharmacology, Univ. Hospital Olomouc and Faculty  
of Medicine and Dentistry, Palacký Univ. Olomouc

Prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.  
Microbiol. Dept., Masaryk Univ. and St. Anna's Hosp. Brno

MUDr. Eva Žampachová  
Central Laboratories, The Laboratory of Virology,  
Hospital České Budějovice

## CONTENTS

### EDITORIAL

*J. Bardoň*

35

### ORIGINAL ARTICLE

#### Impact of the COVID-19 pandemic on antimicrobial resistance

*K. Fišerová, L. Doubravská, M. Htoutou Sedláková, M. Kolář*

36

#### Can a difficult-to-treat resistance approach improve cooperation between microbiologists and clinicians?

*G. Kroneislová, J. Závora, V. Adámková*

52

### SHORT COMMUNICATION/CASE REPORT

#### Poultry as a reservoir of zoonotic strains of *Escherichia coli*

*A. Papoušková*

42

#### Case report of fatal sepsis caused by *Actinobacillus suis/equuli* in an adult male

*P. Ježek, L. Malíšová, R. Šafránková*

45

#### Digitalization in clinical microbiology

*M. Kolář*

48

### REVIEW

#### Pharmacological properties of colistin

*J. Rychlíčková, V. Kubíčková*

59



spol. s r. o.

## PUBLISHER

### and Editorial Office:

Redakce TRIOS, spol. s r. o.,  
Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4-Chodov

Tel.: +420 267 912 030, Fax: +420 267 915 563  
redakce@trios.cz, http://kml.trios.cz

Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

Advertising: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

DTP: SILVA, s. r. o., Táborská 31, Praha 4

Printed by: GRAFOTECHNA Plus, s. r. o.

Lýskova 1594/33, 155 00 Praha 13-Stodůlky

This journal is Indexed in Medline/Index Medicus, Embase/Excerpta Medica  
Database and Scopus.

A peer – reviewed journal

4 issues per volume.

ISSN 1211-264X

Copyright © Trios Ltd. All rights reserved.

The views expressed in this journal are not necessarily those of the Editor or Editorial Board.

## Úvodník

### Vážené kolegyně, vážení kolegové a milí přátelé,

dostává se Vám do rukou nové číslo našeho časopisu KMIL. Když jsem se díval na svůj loňský úvodník k číslu 2/2021, zmiňoval jsem, že časopis vychází navzdory nepříznivé nálezové situaci (myšleno covid-19). Faktem je, že nálezová situace se zlepšila, nicméně loňské problémy byly plynule nahrazeny problémy ekonomickými, které přinášejí řadu komplikací. Číslo 2 se ale podařilo poskládat, byť s určitým zpožděním. Za to bych chtěl poděkovat všem autorům, recenzentům i kolegům v redakci. Druhé číslo bývá tradičně (alespoň z části) věnováno problematice zoonóz a letošní vydání dvojky není výjimkou. Zmínil bych např. práci brněnských kolegů „Drůbež jako rezervoár rizikových zoonotických kmenů *Escherichia coli*“, nebo kazuistiku fatální sepse způsobené *Actinobacillus suis/A. equuli* u dospělého muže z pera autorského kolektivu pod vedením dr. Ježka. Do tématu určitě zapadne i původní práce na téma „Dopad pandemie covid-19 na antimikrobiální rezistenci“ autorů z Ústavu mikrobiologie Lékařské fakulty v Olomouci. Toto číslo však přináší i další zajímavá sdělení, a to k rezistenci bakterií na antibiotika, k vlastnostem kolistinu, či zamyšlení nad digitalizací v mikrobiologii.

Problematika zoonóz je stále aktuální. Za pozornost stojí např. případy antraxu v Chorvatsku nebo Rumunsku. Infekce *Bacillus anthracis* byla prokázána u zvířat (skot), ale Chorvatsko hlásí do počátku srpna i 15 případů lidí s kožní formou antraxu. Zajímavostí je, že v postižené lokalitě Chorvatska bylo několik tisíc skotu preventivně proti antraxu vakcinováno. Tuberkulózy skotu je Česká republika řadu let prostá, ale pozitivní případy se letos objevily např. v Ma-

ďarsku, Španělsku nebo Francii. Z virových infekcí můžeme zmínit např. vzteklinu s prokázaným výskytem u zvířat v Turecku, Moldavsku, ale i sousedním Polsku. Další aktuální virózou je vysoce patogenní ptačí chřipka, se kterou má v současnosti problémy např. Nizozemsko, které muselo přikročit k utracení tisíců kusů drůbeže v ohniscích nákazy.

Závěrem bych chtěl poděkovat všem kolegyním a kolegům, kteří zasílají své příspěvky do KMILu a pochopitelně i všem předplatitelům našeho časopisu. Výše zmíněná nepříznivá ekonomická situace vyžaduje stabilní a širokou skupinu předplatitelů, bez kterých by realizace časopisu nebyla možná. Stejně tak potřebujeme autory kvalitních prací. Prosím, publikujte! Víím, že v dnešní době zejména univerzitní pracovníci preferují časopisy s IF. Přesto se, alespoň já domnívám, že základním cílem odborných časopisů by měla být edukace široké odborné veřejnosti. V neposlední řadě bych přivítal i rozšíření komunity odborníků ochotných zpracovat recenzi článků doručených do redakce. Někdy se shánějí dost obtížně.

Přeji našim čtenářům, ať se jim předkládané číslo líbí, hodně zdraví a pevné nervy.

Zdraví

doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA  
zástupce šéfredaktora

# Dopad pandemie covid-19 na antimikrobiální rezistenci

K. FIŠEROVÁ<sup>1</sup>, L. DOUBRAVSKÁ<sup>2</sup>, M. HTOUTOU SEDLÁKOVÁ<sup>1</sup>, M. KOLÁŘ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav mikrobiologie, Fakultní nemocnice Olomouc;

<sup>2</sup>Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Fakultní nemocnice Olomouc

## SOUHRN

Fišerová K., Doubravská L., Htoutou Sedláková M., Kolář M.: **Dopad pandemie covid-19 na antimikrobiální rezistenci**

**Cíl práce:** Pandemie covid-19 měla zásadní vliv na zdravotnictví, které bylo nuceno zvládnout velké množství pacientů, včetně osob s respirační insuficiencí a nutností oxygenoterapie. Z obavy před souběžnou bakteriální koinfekcí byla u mnoha pacientů aplikována antibiotická terapie. Cílem předložené práce bylo porovnání antimikrobiální rezistence (AMR) v předcovidové a covidové době u pacientů v intenzivní péči.

**Materiál a metody:** Do studie byli zařazeni pacienti hospitalizovaní na Klinice anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Fakultní nemocnice Olomouc (KARIM) v předcovidovém období (2018–2019) a v období covidové pandemie (2020–2021). Klinické vzorky z dolních cest dýchacích byly odebírané standardně dvakrát týdně, přičemž od každého pacienta byl do studie zařazen vždy jeden kmen daného druhu, který byl izolován první.

**Výsledky:** U několika bakteriálních species (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* a *Haemophilus influenzae*) byl zaznamenán pokles frekvence výskytu, na druhé straně byl v případě *Enterococcus faecium*, *Serratia marcescens* a *Klebsiella variicola* dokumentován vzestup. Celkově však lze konstatovat, že v covidové době nedošlo k zásadní změně frekvence bakteriálních patogenů izolovaných z dolních cest dýchacích. Stejně tak se až na několik výjimek významně nezměnila AMR. Významnější zvýšení rezistence bylo prokázáno u *Serratia marcescens*, a to k piperacilin/tazobaktamu, cefotaximu, ciprofloxacinu a gentamicinu. Současně však byl prokázán pokles rezistence *Pseudomonas aeruginosa* a *Burkholderia cepacia* komplex k meropenemu.

**Závěr:** V době pandemie covid-19 nedošlo k významné změně frekvence bakteriálních patogenů a jejich rezistence k antibiotikům. Nicméně u některých species došlo ke zvýšení nebo snížení jejich procentuálního zastoupení a rezistence.

*Klíčová slova:* covid-19, bakterie, rezistence

## SUMMARY

Fišerová K., Doubravská L., Htoutou Sedláková M., Kolář M.: **Impact of the COVID-19 pandemic on antimicrobial resistance**

**Objectives:** The COVID-19 pandemic has had a major impact on the healthcare system, which has been forced to manage large numbers of patients, including those with respiratory insufficiency and in need of oxygen therapy. Due to concerns about bacterial co-infection, antibiotic therapy was administered to many patients. The aim of the present study was to compare antimicrobial resistance in intensive care patients in the pre-pandemic and pandemic periods.

**Material and Methods:** Patients hospitalized at the Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care Medicine of the University Hospital Olomouc in the pre-COVID-19 period (2018–2019) and during the pandemic (2020–2021) were enrolled in the study. Clinical samples from the lower respiratory tract were routinely collected twice a week, with one strain of a given species first isolated from each patient being included in the study.

**Results:** While several bacterial species (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* and *Haemophilus influenzae*) were found to occur less frequently, an increased occurrence was documented for *Enterococcus faecium*, *Serratia marcescens* and *Klebsiella variicola*. Overall, however, it can be concluded that there was no major change in the frequency of bacterial pathogens isolated from the lower respiratory tract during the COVID-19 period. Similarly, with only a few exceptions, antimicrobial resistance did not change significantly. More significant increases in resistance to piperacillin/tazobactam, cefotaxime, ciprofloxacin and gentamicin have been demonstrated for *Serratia marcescens*. However, a decrease in the resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* complex to meropenem was also observed.

**Conclusions:** There was no significant change in the frequency of bacterial pathogens and their resistance to antibiotics during the COVID-19 pandemic. However, there was an increase or decrease in the percentage of some species and in their resistance.

*Keywords:* COVID-19, bacteria, resistance

*Klin mikrobiol inf lék 2022;28(2):36–41*

**Adresa:** MUDr. Lenka Doubravská, Ph. D., Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, FN Olomouc, I. P. Pavlova 185/6, 779 00 Olomouc, e-mail: lenka.doubravska@fnol.cz

Došlo do redakce: 2. 7. 2022

Schváleno k tisku: 5. 9. 2022

## Úvod

Celosvětová pandemie covid-19 vyvolaná virem SARS-CoV-2 významně ovlivnila lidskou společnost v mnoha ohledech běžného života. Nicméně zásadní dopad byl pozorován v případech zdravotnictví, které muselo zvládnout vysoký počet pacientů s covid-19, vyžadujících oxygenoterapii z důvodu těžce probíhající pneumonie a související s respirační insuficiencí. U hospitalizovaných pacientů, především v intenzivní péči, byla často aplikována antibiotická léčba z obavy, že je přítomna i bakteriální koinfekce. Lansbury et al. ve své metaanalýze 31 studií dokumentují, že více jak 90 % pacientů bylo léčeno antibiotiky [1]. Chedid et al. ve svém rozsáhlém review uvádějí aplikaci antibiotik u 74 % hospitalizovaných pacientů [2]. V případě pacientů s těžkým průběhem covid-19 Guan et al. popisují aplikaci antibiotik u 80 % nemocných [3]. Z uvedené skutečnosti zvýšené aplikace antibiotik vyplývá velmi důležitá otázka, jak ovlivnil covid-19 další pandemii, která sice probíhá skrytě, ale o to hroživěji, a to stoupající rezistenci bakteriálních patogenů k antibakteriálním přípravkům. V odborné literatuře se stále více objevují sdělení analyzující vývoj antimikrobiální rezistence (AMR) v souvislosti s covid-19 [4,5]. Studie Gottesmana popisuje zvýšený výskyt karbapenem-rezistentních kmenů *Acinetobacter baumannii* na oddělení určeném pro léčbu pacientů s covid-19, který byl způsoben klonálním rozšířením jednoho kmene mezi pacienty [6]. Podobnou situaci, způsobenou klonálním šířením karbapenem-rezistentního kmene *Acinetobacter baumannii*, dokumentují Shinohara et al. [7]. Je nutné vzít v úvahu, že na přenosu bakteriálních patogenů mezi pacienty nebo z prostředí na pacienty se mohou podílet ruce ošetřujícího personálu a nelze v tomto případě vyloučit negativní vliv pandemie covid-19 [8]. V průběhu této pandemie se objevila celá řada faktorů, které mohly ovlivnit AMR, především v podmínkách intenzivní péče. Tyto faktory lze charakterizovat následujícími body:

- omezená možnost izolace pacientů z důvodu vyčerpání prostorových i lidských zdrojů [9],
- aplikace neinvazivní vysokoprůtokové oxygenoterapie (high-flow nasal oxygen therapy), mechanické ventilace a/nebo mimotělní membránové oxygenoterapie (extracorporeal membrane oxygenation) u pacientů s těžkou/kritickou fází covid-19 vyžadujících agresivní kyslíkovou terapii [10],
- prodloužená doba hospitalizace pacientů se souvisejícím zvýšeným rizikem kolonizace multirezistentními (MDR) bakteriemi, následně způsobujícími komplikující nozokomiální infekce [11],
- zvýšená aplikace antibiotik, včetně širokospektrých [12].

Je nutné zdůraznit, že v průběhu pandemie covid-19 došlo k omezení uplatňování zásad diagnostického a antibiotického stewardshipu [13]. Tyto termíny definuje *tabulka 1*.

Cílem předložené práce bylo posouzení AMR u pacientů v intenzivní péči v době před pandemií covid-19 a v jejím průběhu. Byla porovnána četnost a rezistence bakteriálních patogenů izolovaných z dolních cest dýchacích pacientů hospitalizovaných na jednotce intenzivní péče v období 2018–2021.

## Materiál a metody

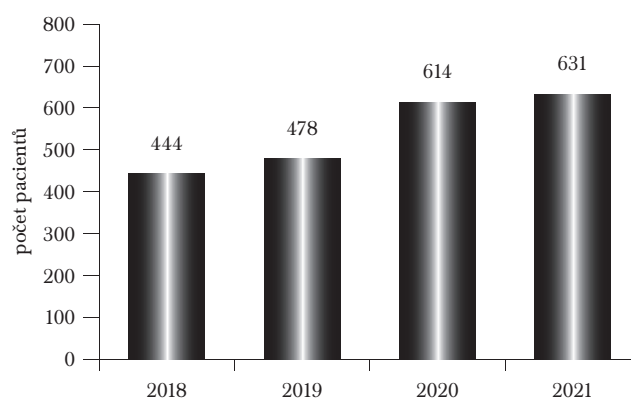
### Soubor pacientů

Do studie byli zařazeni pacienti hospitalizovaní na Klinice anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Fakultní nemocnice Olomouc (KARIM) v letech 2018–2021. První dva hodnocené roky (2018 a 2019) představují předcovidové období, roky 2020 a 2021 pak období probíhající pandemie, kdy na KARIM byli hospitalizováni pacienti s těžkou nebo kritickou fází covid-19 (*tabulka 2*). Studie byla provedena v souladu s Helsinskou deklarací a schválena etickou komisí Fakultní nemocnice Olomouc.

### Izolace a identifikace bakteriálních patogenů

U všech pacientů v obou sledovaných obdobích byly pravidelně (2× týdně) odebrány klinické vzorky z dolních cest

Graf 1  
Počty pacientů hospitalizovaných na KARIM  
v období 2018–2021



Tabulka 1  
Definice diagnostického a antibiotického stewardshipu

Diagnostický stewardship	soubor opatření vedoucích k racionální indikaci, správné realizaci a adekvátní interpretaci mikrobiologických vyšetření
Antibiotický stewardship	soubor opatření vedoucích k racionální antibiotické léčbě založené na adekvátním výběru antibakteriálních léčiv, odpovídající délce jejich aplikace a současně vhodném způsobu podání

dýchacích (sputum, endosekret, bronchoalveolární laváž (BAL)). K identifikaci bakteriálních patogenů byly použity standardní mikrobiologické postupy za pomoci systému MALDI-TOF MS (Biotyper Microflex, Bruker Daltonics). Výběr izolátů do studie byl realizován tak, že od jednoho pacienta byl zařazen vždy jen jeden kmen daného druhu se stejným antibiogramem, který byl izolován jako první. Citlivost k antibiotikům byla stanovena standardní diluční mikrometodou podle kritérií EUCAST [15]. Referenční bakteriální kmeny (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) byly použity k protokolované kontrole kvality. Produkce širokospektrých beta-laktamáz byla detekována fenotypovými testy [16,17] a konfirmována PCR průkazem příslušných genů. U všech kmenů *Staphylococcus aureus* byla testována rezistence k meticilinu pomocí selektivně diagnostické chromogenní půdy (Colorex/TM/MRSA, TRIOS, s. r. o.) a pomocí imunochromatografického testu na průkaz PBP2a (PBP2a SA Culture Colony Test, AlereTM). Případný pozitivní výsledek byl konfirmován průkazem *mecA* genu [18]. V případě vankomycin-rezistentních enterokoků byla rezistence konfirmována průkazem příslušných genů *vanA* a *vanB* [19].

## Výsledky

Ve sledovaném období 2018–2021 bylo na KARIM hospitalizováno celkem 2 167 pacientů (graf 1). V předcovidovém období 2018 a 2019 byl soubor tvořen 922 pacienty, průměrný věk byl 67 let s převahou mužů (64 %). Zhruba polovina pacientů byla hospitalizována pro infekční nemoci, především komunitní i nemocniční pneumonie, septické stavy a chirurgické komplikace. Naproti tomu v covidovém období let 2020 a 2021 byla poskytnuta péče 1 245 pacientům. Naprostou většinu tvořili nemocní s kritickým stupněm

covid-19. Průměrný věk hospitalizovaných v tomto období byl 65 let s převahou mužů (72 %). Rozdíl mezi oběma skupinami pacientů ve věku a genderovém zastoupení nebyl statisticky signifikantní.

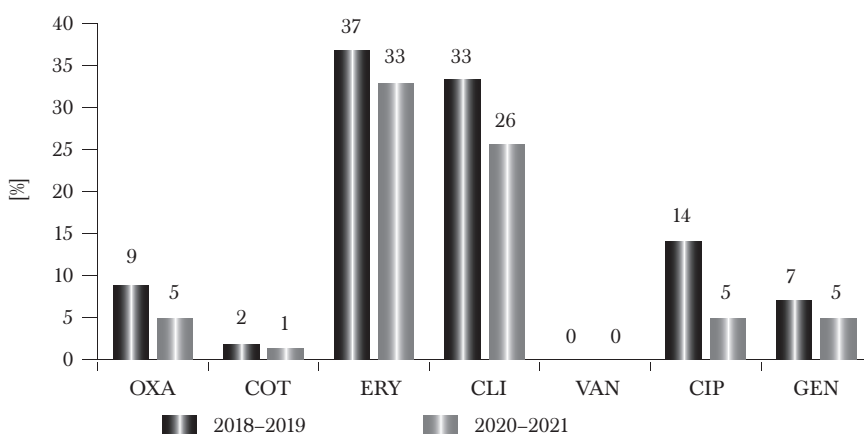
Z dolních cest dýchacích hospitalizovaných pacientů bylo celkem izolováno 2 279 bakteriálních patogenů, 969 v letech 2018–2019 a 1 310 v období 2020–2021. Z porovnání absolutního počtu bakteriálních izolátů a hospitalizovaných pacientů vyplývá, že počet izolátů na pacienta zůstal v obou obdobích stejný (1,051 vs. 1,052).

Tabulka 3 uvádí detailní přehled bakteriálních patogenů v předcovidovém a covidovém období. Z výsledků je zřejmé, že frekvence některých bakteriálních species (především *Enterococcus faecium*, *Serratia marcescens* a *Klebsiella variicola*) se v covidovém období zvýšila, naopak došlo k poklesu procentuálního zastoupení kmenů *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* a *Haemophilus influenzae*. Celkově však lze konstatovat, že kromě výše uvedených species nedošlo k významnější změně frekvence bakteriálních species izolovaných z dolních cest dýchacích.

Rezistenci nejčastěji izolovaných gramnegativních bakteriálních patogenů ke sledovaným antibiotikům uvádějí tabulky 4 a 5. Z nich je zřejmé, že ke zvýšení rezistence o více než 15 procentních bodů došlo v případě *Escherichia coli* a ampicilin/sulbaktamu, *Klebsiella oxytoca* a cefotaximu, *Proteus mirabilis* a gentamicinu. Nejvýraznější nárůst byl prokázán u druhu *Serratia marcescens*, u kterého došlo k současnému nárůstu rezistence k piperacilin/tazobaktamu, cefotaximu, ciprofloxacinu a gentamicinu. V případě gramnegativních nefermentujících bakterií nebyl významnější nárůst rezistence dokumentován. Naopak prevalence kmenů *Pseudomonas aeruginosa* a *Burkholderia cepacia* komplex rezistentních k meropenemu výrazně poklesla.

Rezistenci *Staphylococcus aureus* a *Enterococcus faecium* k antibiotikům uvádějí grafy 2 a 3. Na základě údajů je zřejmé, že k výraznějším změnám v rezistenci nedošlo.

Graf 2  
Rezistence *Staphylococcus aureus* ke sledovaným antibiotikům (v procentech)



Legenda: OXA – oxacilin, COT – kotrimoxazol, ERY – erytromycin, CLI – klindamycin, VAN – vankomycin, CIP – ciprofloxacín, GEN – gentamicin

## Diskuze

Je pravděpodobné, že pandemie covid-19 bude mít negativní vliv na AMR z důvodu limitace uplatňování zásad diagnostického i antibiotického stewardshipu, vyšší spotřeby antibiotik u hospitalizovaných pacientů a v neposlední řadě snížení úrovně hygienicko-epidemiologických opatření, především v prvním roce pandemie. Naše výsledky potvrzují, že frekvence bakteriálních patogenů izolovaných z dolních cest dýchacích pacientů s kritickým stupněm covid-19 se většinou nezměnila, i když u některých species došlo k navýšení nebo snížení frekvence. Lze však předpokládat, že v těchto případech se mohlo uplatnit klonální šíření, které bylo na KARIM prokázáno [20]. Podobné výsledky lze pozorovat i v případě AMR. Na vzestupu

Tabulka 2  
Definice těžkého a kritického průběhu covid-19

Klasifikace tíže onemocnění covid-19 dle WHO [14]	
Těžký průběh	dechová frekvence $\geq 30$ dechů/min. nasyčení kyslíkem $\leq 92\%$ v klidovém stavu Horowitzův index (arteriální parciální tlak kyslíku (PaO <sub>2</sub> ) / frakce inspirovaného kyslíku FiO <sub>2</sub> ) $\leq 300$
Kritický průběh	výskyt závažného respiračního selhání (PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> < 200), respirační tísně nebo syndromu akutní respirační tísně (ARDS) nebo jiné známky významného zhoršení klinického stavu (hypotenze nebo šok, zhoršení vědomí, selhání jiných orgánů)

AMR se může uplatňovat klonální šíření MDR bakterií [6,7]. Bogdanová et al. prokázali na KARIM klonální šíření vankomycin-rezistentních enterokoků mezi pacienty s kritickým průběhem covid-19 [21]. Je nutné konstatovat, že jednotky intenzivní péče se zaměřením na pacienty s těžkou/kritickou fází covid-19 mohly představovat, a reálně představovaly, důležitá místa pro zvyšování AMR z důvodů, jako jsou především navýšení počtu pacientů nad standardní kapacitu, nedostatečný počet zdravotnického personálu, nedostatečné dodržování standardních hygienických režimů a omezené možnosti izolace pacientů s prokázanými MDR bakteriemi. Patel et al. ve své studii dokumentují šíření MDR kmenů *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter baumannii* mezi pacienty s kritickou fází covid-19 v intenzivní péči [9]. Rovněž Serapide et al. popisují zvýšení frekvence MDR kmenů bakteriálních species, patřících do ESKAPE skupiny v porovnání s před-covidovým obdobím (88 vs. 80 %), a současně uvádějí, že hlavním patogenem byly MDR izoláty *Acinetobacter baumannii*, způsobující infekce krevního řečiště s 69% mortalitou [22].

Výsledky předložené studie neprokázaly, s výjimkou *Serratia marcescens*, zvyšování rezistence k více antibiotikům současně a většinově rozdíl v rezistenci nepřesáhly 15 %. V případě *Serratia marcescens* bylo prokázáno klonální šíření [20], a je tedy zřejmé, že AMR je v tomto případě ovlivněna především klonálním horizontálním šířením, a nikoliv selekčním tlakem antibiotik. V covidové době došlo na KARIM k výraznému navýšení spotřeby

Tabulka 3  
Přehled izolovaných bakteriálních patogenů dle jednotlivých species

Bakteriální species	2018–2019		2020–2021	
	Absolutní počet [%]		Absolutní počet [%]	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	181	(19)	244	(19)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	138	(14)	147	(11)
<i>Burkholderia cepacia</i> komplex	101	(10)	132	(10)
<i>Escherichia coli</i>	88	(9)	61	(5)
<i>Enterobacter cloacae</i>	76	(8)	105	(8)
<i>Staphylococcus aureus</i>	55	(6)	81	(6)
<i>Enterococcus faecium</i>	38	(4)	107	(8)
<i>Proteus mirabilis</i>	36	(4)	23	(2)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	35	(4)	35	(3)
<i>Enterococcus faecalis</i>	30	(3)	39	(3)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	25	(3)	24	(2)
<i>Klebsiella variicola</i>	24	(3)	69	(5)
<i>Serratia marcescens</i>	24	(3)	88	(7)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	20	(2)	36	(3)
<i>Haemophilus influenzae</i>	16	(2)	7	(1)
<i>Morganella morganii</i>	12	(1)	15	(1)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	8	(1)	16	(1)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	7	(1)	9	(1)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	7	(1)	4	(0)
<i>Citrobacter freundii</i>	7	(1)	17	(1)
<i>Citrobacter koseri</i>	5	(1)	4	(0)
<i>Neisseria meningitidis</i>	5	(1)	1	(0)
<i>Proteus vulgaris</i>	3	(0)	1	(0)
ostatní	28	(3)	45	(3)

Ostatní: *Acidovorax temperans*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas veronii*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Bordetella hinzii*, *Brevundimonas diminuta*, *Enterococcus gallinarum*, *Hafnia alvei*, *Chryseobacterium indologenes*, *Lelliottia amnigena*, *Moraxella catarrhalis*, *Pantoea agglomerans*, *Pasteurella multocida*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Raoultella ornithinolytica*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus pyogenes*

Tabulka 4  
Rezistence izolovaných enterobakterií ke sledovaným antibiotikům (v procentech)

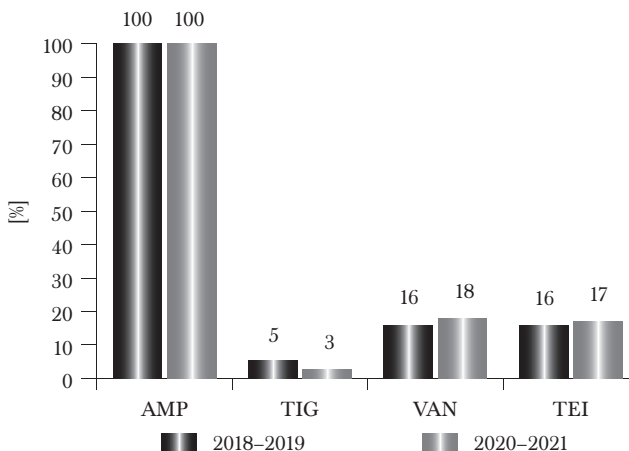
Bakteriální species	AMS		PPT		CRX		CTX		MER		CIP		COL		GEN		AMI		TIG	
	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.
<i>Escherichia coli</i>	36	52	19	28	21	30	17	25	0	0	24	23	0	0	16	11	0	6	2	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	74	70	71	66	71	66	68	65	1	0	71	64	2	6	64	59	1	2	5	8
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	32	44	-	-	32	46	0	0	19	17	10	18	15	11	0	1	0	10
<i>Proteus mirabilis</i>	13	13	5	9	18	13	5	9	0	0	45	35	-	-	29	48	3	17	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	12	29	12	25	16	29	8	25	4	0	8	13	4	4	4	13	0	0	0	4
<i>Klebsiella varicola</i>	84	89	80	84	80	88	80	84	0	0	76	78	0	0	72	80	4	3	8	10
<i>Serratia marcescens</i>	-	-	26	57	-	-	26	56	0	0	22	55	-	-	22	58	0	8	-	-

Legenda: I. – předcovidové období 2018–2019, II. – covidové období 2020–2021

AMS – ampicilin/sulbaktam, PPT – piperacilin/tazobaktam, CRX – cefuroxim, CTX – cefotaxim, MER – meropenem, CIP – ciprofloxacín, COL – kolistin, GEN – gentamicin, AMI – amikacin, TIG – tigecyklin

Graf 3

Rezistence *Enterococcus faecium* ke sledovaným antibiotikům (v procentech)



Legenda: AMP – ampicilin, TIG – tigecyklin, VAN – vankomycin, TEI – teikoplanin

cefotaximu [20], ale rezistence k tomuto antibiotiku se zvýšila pouze v případě *Serratia marcescens* a *Klebsiella oxytoca*. Současně však byl v průběhu covid-19 dokumentován pokles rezistence k meropenemu u *Pseudomonas aeruginosa* a *Burkholderia cepacia* komplex.

Tato práce má své limity, a to, že se jedná o retrospektivní a pouze monocentrickou studii. Za silnou stránku lze považovat kontinuální používání stejné metodologie odběrů a mikrobiologického vyšetřování vzorků od pacientů v obou dvou porovnávaných obdobích.

## Závěr

Na základě získaných údajů lze konstatovat, že v covidové době nedošlo k významnější změně frekvence bakteriálních patogenů izolovaných z dolních cest dýchacích a jejich rezistence k antibiotikům. Nicméně u některých species došlo ke změně jejich procentuálního zastoupení a rezistence. Výsledky naznačují spíše vliv klonálního šíření bakteriálních patogenů, který byl v covidové době na KARIM prokázán. Naše zjištění potvrzují nutnost dodržovat principy diagnostického i antibiotického stewardshipu, stanovené hygienicko-epidemiologické režimy, sledovat vývoj AMR a realizovat vyšetření na molekulárně-biologické úrovni s cílem definovat/odhalit případné klonální šíření. Závěrem lze říci, že pandemie covid-19 vyzdvihla mimo jiné důležitost dodržování striktních hygienicko-epidemiologických režimů, a to nejen z hlediska prevence virové nákazy covid-19, ale i klonálního šíření bakterií mezi pacienty.

Podpořeno projekty MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892) a AZV NU22-B-112.

Studie byla provedena v souladu s Helsinskou deklarací a schválena etickou komisí Fakultní nemocnice Olomouc (kód protokolu 213/21, 15. listopadu 2021).



Tabulka 5  
Rezistence izolovaných gramnegativních nefermentujících bakterií k antibiotikům (v procentech)

Bakteriální species	PPT		CTZ		CPM		MER		CIP		COL		GEN		AMI		TIG		
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23	28	9	12	11	23	42	27	25	2	3	3	15	22	5	5	–	–	
<i>Burkholderia cepacia</i> komplex	–	–	5	2	9	6	28	9	–	–	–	–	–	–	–	–	–	4	13
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	–	–	71	74	100	94	–	–	97	97	68	80	–	–	–	–	–	0	3
<i>Acinetobacter baumannii</i>	25	19	16	17	32	17	16	6	21	24	0	3	26	24	21	9	0	0	7

Legenda: CTZ – ceftazidim, CPM – cefepim

## Literatura

- Lansbury L, Lim B, Baskaran V, Lim WS. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2020;81(2):266–275.
- Chedid M, Waked R, Haddad E, et al. Antibiotics in treatment of COVID-19 complications: a review of frequency, indications, and efficacy. *J Infect Public Health.* 2021;14(5):570–576.
- Guan W, Ni Z, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;382(18):1708–1720.
- Kolář M, Doubravská L, Jakubec P, Htoutou Sedláková M, Fišerová K. Problematika antibiotické léčby u pacientů s covidem-19. *Vnitř Lek.* 2021;67(8):448–454.
- Getahun H, Smith I, Trivedi K, Paulin S, Balkhy HH. Tackling antimicrobial resistance in the COVID-19 pandemic. *Bull World Health Organ.* 2020;98(7):442–442A.
- Gottesman T, Fedorowsky R, Yerushalmi R, Lellouche J, Nutman A. An outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a COVID-19 dedicated hospital. *Infect Prev Pract.* 2021;3(1):100113.
- Shinohara DR, Dos Santos Saalfeld SM, Martinez HV, et al. Outbreak of endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a coronavirus disease 2019 (COVID-19) specific intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2022;43(6):815–817.
- Tiri B, Sensi E, Marsiliani V, et al. Antimicrobial Stewardship Program, COVID-19, and Infection Control: Spread of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Colonization in ICU COVID-19 Patients. What Did Not Work? *J Clin Med.* 2020;9(9):2744.
- Patel A, Emerick M, Cabunoc MK, et al. Rapid Spread and Control of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria in COVID-19 Patient Care Units. *Emerg Infect Dis.* 2021;27(4):1234–1237.
- Badulak J, Antonini MV, Stead CM, et al. Extracorporeal Membrane Oxygenation for COVID-19: Updated 2021 Guidelines from the Extracorporeal Life Support Organization. *ASAIO J.* 2021;67(5):485–495.
- Taniguchi Y, Kuno T, Komiyama J, et al. Comparison of patient characteristics and in-hospital mortality between patients with COVID-19 in 2020 and those with influenza in 2017–2020: a multicenter, retrospective cohort study in Japan. *Lancet Reg Health West Pac.* 2022;20:100365.
- Al-Hadidi SH, Alhussain H, Abdel Hadi H, et al. The Spectrum of Antibiotic Prescribing During COVID-19 Pandemic: A Systematic Literature Review. *Microb Drug Resist.* 2021;27(12):1705–1725.
- Kolar M, Htoutou Sedlakova M, Urbanek K, et al. Implementation of Antibiotic Stewardship in a University Hospital Setting. *Antibiotics (Basel).* 2021;10(1):93.
- Living guidance for clinical management of COVID-19. WHO. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/349321/WHO-2019-nCoV-clinical-2021.2-eng.pdf>.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Available from: [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints).
- Htoutou Sedlakova M, Hanulik V, Chroma M, et al. Phenotypic detection of broad-spectrum beta-lactamases in microbiological practice. *Med Sci Monit.* 2011;17(5):BR147–BR152.
- Tamma PD, Simner PJ. Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates. *J Clin Microbiol.* 2018;56(11):e01140–18.
- Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the mec element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(7):2155–2161.
- Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol.* 1995;33(1):24–27.
- Doubravská L, Htoutou Sedláková M, Fišerová K, et al. Bacterial Resistance to Antibiotics and Clonal Spread in COVID-19-Positive Patients on a Tertiary Hospital Intensive Care Unit, Czech Republic. *Antibiotics.* 2022;11(6):783.
- Bogdanová K, Doubravská L, Vágnerová I, et al. *Clostridioides difficile* and Vancomycin-Resistant Enterococci in COVID-19 Patients with Severe Pneumonia. *Life (Basel).* 2021;11(11):1127.
- Serapide F, Quirino A, Scaglione V, et al. Is the Pendulum of Antimicrobial Drug Resistance Swinging Back after COVID-19? *Microorganisms.* 2022;10(5):957.

# Drůbež jako rezervoár zoonotických kmenů *Escherichia coli*

A. PAPOUŠKOVÁ

Ústav infekčních chorob a mikrobiologie, Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární univerzita Brno

## SOUHRN

Papoušková A.: **Drůbež jako rezervoár zoonotických kmenů *Escherichia coli***

Drůbež a drůbeží produkty jsou považovány za potenciálně významný zdroj rezistentních kmenů *E. coli* a jejich determinant kódovaných mobilními elementy, jako jsou geny pro ESBL/AmpC betalaktamázy. Drůbež je také hostitelem kmenů s extraintestinální patogenitou (ExPEC). Podobnost drůbežích APEC s humánními kmeny vedla k zařazení ExPEC mezi bakterie se zoonotickým potenciálem. Populační diverzita různých patotypů *E. coli*, druhová specifita a cirkulace různých kmenů a genetických determinant mezi populacemi jsou však velmi složité a výše uvedená rizika nelze řešit odděleně jedno od druhého.

**Klíčová slova:** extraintestinální patogenní *E. coli* (ExPEC), *E. coli* patogenní pro ptáky (APEC), zoonóza, ColV plasmidy, rizikové linie

## SUMMARY

Papoušková A.: **Poultry as a reservoir of zoonotic strains of *Escherichia coli***

Poultry and poultry products are considered a potentially significant source of resistant *E. coli* strains and their determinants encoded by mobile genetic elements, such as genes for ESBL/AmpC beta-lactamases. Poultry also hosts extraintestinal pathogenic *E. coli* strains (ExPEC). The similarity of poultry avian pathogenic *E. coli* to human strains has led to the inclusion of ExPEC among bacteria with zoonotic potential. However, population diversity of *E. coli* pathotypes, host specificity and circulation of diverse strains and genetic determinants between populations are rather complex and the aforementioned risks cannot be addressed separately.

**Keywords:** extraintestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC), avian pathogenic *E. coli* (APEC), zoonosis, ColV plasmids, high-risk lineages

*Klin mikrobiol inf lék 2022;28(2):42–44*

**Adresa:** MVDr. Aneta Papoušková, Ústav infekčních chorob a mikrobiologie, Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno-Královo Pole, e-mail: papouskova@vfu.cz

Došlo do redakce: 25. 7. 2022

Schváleno k tisku: 5. 8. 2022

## Úvod

*Escherichia coli* je jednou z nejběžnějších komenzálních bakterií, která kolonizuje střevní trakt širokého spektra hostitelských druhů, včetně ptáků. Mezi zdánlivě neškodnými komenzálními kmeny najdeme takové, které jsou díky svému genetickému vybavení schopny způsobovat infekce, ať už gastrointestinální nebo jiné. Extraintestinální patogenní *E. coli* (ExPEC) jsou skupinou zahrnující kmeny nejčastěji asociované s infekcemi močových cest (UPEC), septikemiemi a meningitidami (NMEC). Tyto nezhřídkla závažné stavy mohou být komplikovány rezistencí původců ke kriticky významným antimikrobiálním látkám, jako jsou cefalosporiny 3. generace nebo kolistin. Patogenita těchto kmenů je

dána širokým a velmi variabilním arzenálem virulencí a fitness faktorů, jako jsou siderofory, adheziny a toxiny, umožňující přežití v systému hostitele a invazi hlubokých tkání. Předpokládá se však, že asymptomatická kolonizace střeva ve většině případů infekci předchází; střeva lze tedy považovat za primární rezervoár kmenů s extraintestinální patogenitou.

Přestože je populace ExPEC obecně velmi variabilní, za více než polovinu infekcí člověka je zodpovědných několik celosvětově rozšířených epidemiologicky významných „rizikových linií“, převážně z fylogenetické skupiny B2, a patřících k sekvenčním typům ST95, ST73, ST69, ST12 aj. [1]. Některé z těchto kmenů kombinují vysokou virulenci s plaz-

midově přenášenou rezistencí. Zvláštní pozornosti se v tomto dostává pandemické linii ST131, jejíž některé sublinie produkují širokospektrální betalaktamázy (ESBL) a jsou rezistentní k fluorochinolonom [2].

K významným hostitelům *E. coli* s extraintestinální patogenitou patří také drůbež a ptáci obecně. Kolibacilóza drůbeže je septikemické onemocnění, které má extrémní ekonomické dopady na komerční produkci a způsobuje obrovské ztráty v prvním týdnu života (infekce žloutkového váčku), mezi brojlery (respirační infekce) i nosnicemi (salpingitida, peritonitida). Kmeny asociované s kolibacilózou, z nichž určitou část lze považovat za distinktní patotyp *E. coli* patogenní pro ptáky (APEC), jsou mimořádně různorodé co do genetického vybavení, fylogenetického původu a virulence. Svou roli velmi pravděpodobně hraje klonální vzplanutí i polyklonální oportunní infekce. Pozoruhodná je však úzká asociace drůbežích kmenů s tzv. plazmidy typu ColV, vybavenými více či méně konstantní virulencí oblastí; je také považována za jakýsi marker adaptace na drůbež [3]. Také mezi APEC rozeznáváme epidemiologicky významné linie, které často patří k fylogenetickým skupinám B2, G a C a k sérotypům O1, O2 a O78 [4].

Virulencí geny spojené s APEC se však do značné míry shodují s lidskými ExPEC; přestože se patogeneze a vstupy infekce liší, kmeny využívají širokou škálu virulencí faktorů v různých kombinacích, které jim umožňují přežít v extraintestinálním prostředí. Zjednodušeně řečeno, zatímco u APEC, ale i velké části NMEC jsou tyto geny zpravidla nalézány na plazmidech ColV, u UPEC jsou častěji součástí tzv. genomických ostrovů, které vznikly fixací původně mobilních genetických elementů v chromozomu, jedná se však o podobné geny s podobnými funkcemi [5]. Je známo, že lidské ExPEC jsou virulentní pro drůbež, a naopak mnohé kmeny APEC vykazují virulenci v savčích infekčních modelech [6]. Experimentálně byla prokázána virulence i u izolátů z drůbežích produktů [7]. Na základě této podobnosti byla snesena řada důkazů, že minimálně určitou část APEC lze považovat za patogeny se zoonotickým potenciálem.

To platí především pro některé linie z fylogenetické skupiny B2: v první řadě ST95, který představuje hlavní „pandemickou“ linii u člověka, ale i např. modelový kmen APEC O1, je vysoce prevalentní v obou populacích a studie prokázaly i vertikální přenos produkční pyramidou drůbeže (z rodičovských chovů na produkční drůbež) [8]. Cummins et al. [9] ukázali na základě rozsáhlé studie, že kmeny ST95 vybavené ColV plazmidem lze izolovat jak z hospodářských zvířat, tak z humánních zdrojů, a právě tyto kmeny představují nejpravděpodobnější zoonotické patogeny.

Naproti tomu jiné ST a linie vykazují užší hostitelskou adaptaci; u drůbeže je to v rámci fylogenetické skupiny B2 například ST140 (blíže příbuzný ST95, obv. O2) a ST428/429 (obv. O2), ale i fylogeneticky zcela odlišné ST117 (skupina G, Ovar.:H4) a ST23/ST88 (skupina C, obv. O78) [4], které se u člověka izolují méně často, naopak infekce drůbeže některými „adaptovanými“ humánními liniemi, např. ST73, byly popsány, ale spíše ojediněle [10]. Co se týče nejprevalentnější pandemické ExPEC, ST131, člověk je považován za její primární zdroj. Nicméně Liu et al. [11] popsali sublinii *fimH22*, vybavenou ColV plazmidy, jež se zřejmě

adaptovala na drůbež. Ta byla nalezena v drůbežích produktech a mohla by představovat riziko pro člověka.

Přes omezování možností použití antibiotik při produkci drůbeže vysoká infekční zátěž v chovech často vyžaduje plošnou medikaci. To přispívá k nárůstu rezistence k významným antimikrobiálním látkám, včetně cefalosporinů 3. generace a fluorochinolonom. Také rezistentní kmeny se mohou přenášet produkčním řetězcem a je známo, že drůbeží maso vykazuje relativně nejvyšší kontaminaci [12]. Jsou proto důvodné obavy, že drůbež může představovat zásadní rezervoár a drůbeží produkty dokonce zdroj nejen rezistentních kmenů, ale i ExPEC se zoonotickým potenciálem. Manipulace s produkty může vést ke kontaminaci prostředí a přechodné rizikové kolonizaci konzumenta.

V přenosu rezistentních kmenů *E. coli* se mohou uplatňovat dva mechanismy, jednak přímý přenos celých bakterií rezistentních klonů, jednak horizontální transfer rezistenčních genů vázaných na plazmidy i jiné mobilní elementy. V případě rezistence se druhá varianta jeví jako významnější, více než o rizikových klonech lze hovořit o rizikových liniích plazmidů, jako je např. IncI1 $\alpha$  asociovaná s geny pro ESBL/AmpC betalaktamázy *bla*<sub>CTX-M-1</sub> a *bla*<sub>CMY-2</sub> [13]. Naproti tomu v případě virulentních ExPEC, z nichž velká část spadá do fylogenetické skupiny B2, se větší význam připisuje klonalitě. Toto fixní vnímání je však třeba poupravit, neboť emergentní rizikové linie se objevují i v tzv. kmenových nebo environmentálních fylogenetických skupinách, např. ST58 (skupina B1) a ST10 (skupina A) a jsou nezřídka izolované též z drůbeže [14,15]. Tyto fylogenetické skupiny se obecně vyznačují flexibilnějším akcesorním genomem a velkou schopností přijímat horizontálním transferem jak determinanty rezistence, tak virulence [16].

Proti pojetí ExPEC a *E. coli* produkující ESBL/AmpC betalaktamázy jako pravých „foodborne“ patogenů lze namítnout, že nebyl žádný jednoznačný důkaz o přenosu na člověka potravinami a jeho epidemiologické souvislosti s onemocněním, nebyl zhodnocen možný význam takového přenosu a není také jasné, co všechno může být zdrojem kontaminace drůbežích produktů rizikovými kmeny, a zda je to vždy právě fekální mikroflóra. Například Johnson et al. [17] zjistili vyšší zastoupení ExPEC na povrchu produktů než ve střevě jatečné drůbeže. Cesty kolonizace mohou být složité a ne nutně jednosměrné a pro lidskou i drůbeží populaci zajisté představuje zásadní rezervoár a zdroj prostředí, včetně volně žijících zvířat a odpadních vod [18]. Nicméně si lze snadno představit, že masivní produkční řetězec drůbeže může představovat další rizikové prostředí, kde při velkém infekčním a selekčním tlaku dochází k rychlé adaptaci různých kmenů směrem k rezistenci a virulenci, a že celé tyto kmeny nebo jen genetické elementy se mohou dostávat do lidské populace. Při rozměrech komerční produkce drůbeže nebudou dopady na veřejné zdraví zanedbatelné. Infekční tlak v drůbežích chovech, antibiotická politika a cirkulace rizikových epidemiologických linií ExPEC jsou problémy, které spolu úzce souvisejí. Prvním krokem k ozdravovacímu programu v chovech drůbeže, vedoucím ke snížení prevalence rizikových linií a snížení spotřeby antibiotik, by mohlo být zavedení integrovaného monitoringu sledujícího výskyt těchto kmenů v řetězci. Lze předpokládat, že taková opatření by měla příznivý dopad i na zdraví lidské populace.

Sdělení bylo podpořeno projektem NAZV MZe QK22020066, Opatření na snižování spotřeby a racionální užití antibiotik ve výkrmu brojlerů v České republice.

### Literatura

- Royer G, Darty MM, Clermont O, et al. Phylogroup stability contrasts with high within sequence type complex dynamics of *Escherichia coli* bloodstream infection isolates over a 12-year period. *Genome Med.* 2021;13(1):77.
- Nicolas-Chanoine MH, Bertrand X, Madec JY. *Escherichia coli* ST131, an intriguing clonal group. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(3):543–574.
- Johnson TJ, Wannemuehler Y, Doetkott C, et al. Identification of minimal predictors of avian pathogenic *Escherichia coli* virulence for use as a rapid diagnostic tool. *J Clin Microbiol.* 2008;46(12):3987–3996.
- Mehat JW, van Vliet AHM, La Ragione RM. The Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) pathotype is comprised of multiple distinct, independent genotypes. *Avian Pathol.* 2021;50(5):402–416.
- Ewers C, Li G, Wilking H, Kiessling S, et al. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: how closely related are they? *Int J Med Microbiol.* 2007;297(3):163–176.
- Tivendale KA, Logue CM, Kariyawasam S, et al. Avian-pathogenic *Escherichia coli* strains are similar to neonatal meningitis *E. coli* strains and are able to cause meningitis in the rat model of human disease. *Infect Immun.* 2010;78(8):3412–3419.
- Mellata M, Johnson JR, Curtiss R<sup>3rd</sup>. *Escherichia coli* isolates from commercial chicken meat and eggs cause sepsis, meningitis and urinary tract infection in rodent models of human infections. *Zoonoses Public Health.* 2018;65(1):103–113.
- Poulsen LL, Thøfner I, Bisgaard M, et al. Longitudinal study of transmission of *Escherichia coli* from broiler breeders to broilers. *Vet Microbiol.* 2017;207:13–18.
- Cummins ML, Reid CJ, Djordjevic SP. F Plasmid Lineages in *Escherichia coli* ST95: Implications for Host Range, Antibiotic Resistance, and Zoonoses. *mSystems.* 2022; 7(1):e0121221.
- Cunha MPV, Saidenberg AB, Moreno AM, et al. Pandemic extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) clonal group O6-B2-ST73 as a cause of avian colibacillosis in Brazil. *PLoS One.* 2017; 12(6):e0178970.
- Liu CM, Stegger M, Aziz M, et al. *Escherichia coli* ST131-H22 as a Foodborne Uropathogen. *mBio.* 2018;9(4):e00470-18.
- Literak I, Reitschmied T, Bujnakova D, et al. Broilers as a source of quinolone-resistant and extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* in the Czech Republic. *Microb Drug Resist.* 2013;19(1):57–63.
- Ewers C, de Jong A, Prenger-Berninghoff E, et al. Genomic Diversity and Virulence Potential of ESBL- and AmpC- $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Strains From Healthy Food Animals Across Europe. *Front Microbiol.* 2021;12:626774.
- Reid CJ, Cummins ML, Börjesson S, et al. A role for ColV plasmids in the evolution of pathogenic *Escherichia coli* ST58. *Nat Commun.* 2022; 13(1):683.
- Flament-Simon SC, Nicolas-Chanoine MH, et al. Clonal Structure, Virulence Factor-encoding Genes and Antibiotic Resistance of *Escherichia coli*, Causing Urinary Tract Infections and Other Extraintestinal Infections in Humans in Spain and France during 2016. *Antibiotics (Basel).* 2020;9(4):161.
- Touchon M, Perrin A, de Sousa JAM, et al. Phylogenetic background and habitat drive the genetic diversification of *Escherichia coli*. *PLoS Genet.* 2020; 16(6):e1008866.
- Johnson TJ, Logue CM, Wannemuehler Y, et al. Examination of the source and extended virulence genotypes of *Escherichia coli* contaminating retail poultry meat. *Foodborne Pathog Dis.* 2009;6(6):657–667.
- Wyrsh ER, Chowdhury PR, Wallis L, et al. Whole-genome sequence analysis of environmental *Escherichia coli* from the faeces of straw-necked ibis (*Threskiornis spinicollis*) nesting on inland wetlands. *Microb Genom.* 2020;6(6):e000385.

# Kazuistika fatální sepse způsobené *Actinobacillus suis*/*A. equuli* u dospělého muže

P. JEŽEK<sup>1</sup>, L. MALIŠOVÁ<sup>2,3</sup>, R. ŠAFRÁNKOVÁ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Oddělení klinické mikrobiologie a parazitologie, Oblastní nemocnice Příbram;

<sup>2</sup>Národní referenční laboratoř pro antibiotika, Státní zdravotní ústav, Praha;

<sup>3</sup>Ústav mikrobiologie, 3. Lékařská fakulta UK, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady a Státní zdravotní ústav, Praha;

<sup>4</sup>Česká národní sbírka typových kultur, Státní zdravotní ústav, Praha

## SOUHRN

Ježek P., Mališová L., Šafránková R.: **Kazuistika fatální sepse způsobené *Actinobacillus suis*/*A. equuli* u dospělého muže**

V článku je popsán případ sepse u člověka pracujícího v zemědělství s fatálním vyústěním způsobený druhem *Actinobacillus suis*/*A. equuli*. Článek je doplněn informacemi o identifikaci a výsledky vyšetření citlivosti k antibiotikům. Jde o ojedinělý případ humánní infekce a pravděpodobně o první případ infekce člověka v České republice způsobený tímto druhem.

**Klíčová slova:** *Actinobacillus suis*/*A. equuli*, fatální sepse, alkoholismus, citlivost k antibiotikům

## SUMMARY

Ježek P., Mališová L., Šafránková R.: **Case report of fatal sepsis caused by *Actinobacillus suis*/*equuli* in an adult male**

This is a case report of sepsis caused by the species *Actinobacillus suis*/*equuli* in a male agriculture worker that ended fatally. The article also contains information on identification and results of antibiotic susceptibility testing. This is a rare case of human infection and probably the first case of a human being infected by this species in the Czech Republic.

**Keywords:** *Actinobacillus suis*/*equuli*, fatal sepsis, alcoholism, antibiotic susceptibility

*Klin mikrobiol inf lék 2022;28(2):45–47*

**Adresa:** MVDr. Petr Ježek, Odd. klinické mikrobiologie a parazitologie, Oblastní nemocnice Příbram, a. s., Gen. R. Tesaříka 80, 261 01 Příbram 1, e-mail: petr.jezek@onp.cz

Došlo do redakce: 12. 7. 2022

Schváleno k tisku: 11. 8. 2022

## Úvod

Rod *Actinobacillus* patří spolu s rodem *Haemophilus* a *Pasteurella* do čeledi *Pasteurellaceae*. Jde o gramnegativní nepohyblivé fakultativně anaerobní drobné kokoidní tyčky. Rod tvoří 10 druhů *Actinobacillus anseriformis*, *A. arthritidis*, *A. capsulatus*, *A. equuli*, *A. hominis*, *A. lignieresii*, *A. pleuropneumoniae*, *A. suis*, *A. ureae* a *A. vicugnae* [1]. Většina druhů patří do veterinární sféry, ať už jako kmenzálové, či jako původci některých infekcí, zejména respiračního traktu hospodářských, domácích či volně žijících zvířat. U lidí jsou zaznamenány především infekce po pokousání zvířaty (*A. lignieresii*, *A. equuli*, *A. suis*), infekce dýchacího aparátu (*A. equuli*, *A. suis*, *A. hominis*, *A. ureae*). Vzácně byly izolovány také z primárně sterilních tekutin, jako je krev nebo likvor (*A. suis*, *A. equuli*), nebo po peritoneální dialýze (*A. ureae*). Ve většině případů jsou spojovány s kontaktem se zvířaty a s prostředím [2,3,4,5]. *A. homi-*

*nis* byl zachycen ve Skotsku z případu osteomyelitidy u člověka [6]. Nicméně případy aktinobacilových infekcí člověka jsou obecně dost ojedinělé. Často se vyskytují po pokousání zvířetem (kůň, ovce aj.) [7] nebo v souvislosti s prostředím, kde jsou zvířata chována či kde se vyskytují (farmy, jatka apod.) [4,5].

## Kazuistika

Na urgentní příjem Oblastní nemocnice v Příbrami byl přivezen Rychlou zdravotnickou pomocí (RZP) pacient po pádu ze žebříku s úderem do hlavy. Pacient byl alkoholik, sledovaný na místní gastroenterologii pro alkoholickou cirhózu jater. Při příjmu laboratorně zjištěn rozvrat vnitřního prostředí, anémie, výrazná trombocytopenie, spontánní koagulopatie, ascites, ikterus, jaterní encefalopatie, hepatosplenomegalie s cirhotickou přestavbou a portální hypertenzí

Tabulka 1  
Biochemické vlastnosti izolovaného kmene

Substrát	Výsledek	Substrát	Výsledek	Substrát	Výsledek	Substrát	Výsledek
CAT	–	ESC	–	MAL	+	FRU	+
OXI	+	AMY	–	GNT	–	SAC	+
HEM	–	NO <sub>3</sub>	+	CAP	–	ODC	–
ARA	–	GLU	+	ADI	–	LIP	+
McC	–	ADH	–	MLT	–	PAL	+
MAN	–	URE	+	CIT	–	GAL	+
SOR	–	GEL	–	PAC	–	GGT	–
MEL	+	MNE	–	RHA	–	IND	–
INO	–	NAG	–				

Legenda: CAT – kataláza; OXI – oxidáza; HEM – hemolýza; ARA – arabinóza; McC – růst na McConkey agaru; MAN – manitol; SOR – sorbitol; MEL – melibióza; INO – inositol; ESC – eskulin; AMY – amygdalin; NO<sub>3</sub> – dusičnany; GLU – glukóza; ADH – arginin; URE – ureáza; GEL – želatináza; MNE – manóza; NAG-N – acetyl-glukosamin; MAL – maltóza; GNT – glukonát; CAP – kaprát; ADI – adipát; MLT – malát; CIT – citrát; PAC – fenyl-acetát; RHA – rhamnóza; FRU – fruktóza; SAC – sacharóza; ODC – ornitin; LIP – lipáza; PAL – alkalická fosfatáza; β-GAL – β galaktosidáza; GGT – gama glutamyl transferáza; IND – indol.

s rekanalizovanými spojkami. V anamnéze uvádí mj. i černou stolici v posledním dni. Tepová frekvence při příjmu byla 100/min., CRP 64,1 mg/L. a teplota 38,1 °C.

Zobrazovacími metodami nebyla zjištěna žádná traumatická poranění skeletu ani vnitřních orgánů. Na těle měl pouze vícečetné čerstvé podlitiny. Na mikrobiologické vyšetření byla odebrána při příjmu moč a sada hemokultur.

Během večera vystoupala febrilie, proto bylo ustoupeno od plánovaného podání krevních derivátů indikovaných na základě hodnot krevního obrazu. Zahájena byla pouze obvyklá ochranná léčba jater.

Druhý den ráno byl pacient nalezen bez známek života na lůžku. Lékař konstatoval *exitus letalis*. Pitva však nebyla vyžádána.

Z mikrobiologického vyšetření byl ze všech doručených lahvíček hemokultur izolován kmen, který byl na základě mikroskopie a biochemických vlastností testovaných prostřednictvím Enterotestu 24 (Erba Lachema, Brno) zařazen do rodu *Pasteurellaceae*. Předběžně byl izolát určen jako *Pasteurella* sp. Následně bylo provedeno vyšetření biochemických vlastností testy API®20 E V5.0, API®20 NE V8.0 a API®NH V4.0 (BioMérieux, Francie) s výsledky *Pasteurella pneumotropica/Mannheimia hemolytica* (66,6% ID, T-index 0.64), *Pasteurella pneumotropica* (98,7 % ID, T-index 0,97) resp. *Actinobacillus pleuropneumoniae* (96,8 % ID, T-index 0.25). Výsledky biochemických vlastností jsou uvedeny v tabulce 1.

Další identifikaci provedla Česká národní sbírka typových kultur při Státním zdravotním ústavu v Praze metodou hmotnostní spektrometrie (MALDI-TOF MS, Microflex Bruker; Brémy, Německo). Výsledky byly následně konfirmovány pomocí sekvenace 16S rRNA Sangerovou metodou (Applied Biosystems 3130xL, Foster City, Kalifornie, USA). Sekvence byly analyzovány v programu Bionumerics 7.6.2 (Applied Maths, Ghent, East Flanders, Belgie) a porovnány s referenčními sekvencemi v databáze NCBI Blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

V obou případech byl potvrzen nález *Actinobacillus suis/A. equuli*. Obě metody bohužel nedovolují přesnou druhovou identifikaci, z nepřítomnosti hemolýzy na krevním agaru však lze usuzovat na druh, resp. poddruh, *A. equuli* subsp. *equuli* [9,10]. Další detailnější identifikace, např. celogenomová sekvenace, provedena nebyla. Kmen byl uložen v České národní sbírce typových kultur pod číslem CNCTC 8143.

Pro zjištění citlivosti kmene k antibiotikům, byl proveden diskový difuzní test (metodika a interpretace dle EUCAST

Tabulka 2

Citlivost *Actinobacillus suis/A. equuli* k antibiotikům (diskový difuzní test, EUCAST)

Antibiotikum	mm	Interpretace
Penicilin	18	C
Amoxicilin/kys. klavulanová	28	C
Cefotaxim	33	C
Ciprofloxacin	25	C
Kotrimoxazol	29	C
Doxycyklin	24	C

Legenda: C, kmen citlivý k antibiotiku

www.eucast.org) [8]. Izolát vykazoval dobrou citlivost k penicilinu, amoxicilinu s kys. klavulanovou, ciprofloxacinu, cefotaximu, kotrimoxazolu a doxycyklinu (tabulka 1).

## Diskuze

Humánní infekce druhu *A. suis*/*A. equuli* se vyskytují velmi vzácně, na rozdíl od medicíny veterinární, kde se tyto druhy často uplatňují především jako původci infekcí respiračních cest u řady hospodářských i divoce žijících zvířat, koní, psů a koček.

U lidí jsou popsány zejména infekce po pokousání koňmi, prasaty či jinými druhy chovaných zvířat nebo byly izolovány taktéž z respiračního traktu [2,3,7]. U dětí je znám případ meningitidy se sepsí po návštěvě farmy [4].

V našem případě jsme popsali případ sepse u dospělého pacienta, jenž souvisí zřejmě s jeho profesí zootechnika, kde je reálný předpoklad úzkého kontaktu s hospodářskými zvířaty, jakožto možným zdrojem původce. Kompromitujícím faktorem byl pravděpodobně také abusus alkoholu ve fázi jaterního selhávání. Bohužel nebyla dost přesně stanovena příčina úmrtí, mj. i proto, že izolace patogena proběhla až po úmrtí a pitva nebyla vyžádána.

Jde o neobvyklý případ sepse s izolací vzácně se vyskytujícího původce a pravděpodobně se jedná o první případ sepse u člověka zaznamenaný v České republice, který byl způsobený tímto druhem.

Diagnostika jednotlivých druhů aktinobacilů není v současnosti spolehlivá. Metody jako biochemická analýza, hmotnostní spektrometrie či sekvenace 16S rRNA nedokážou druhy popsané v tomto článku jednoznačně odlišit. Celogenomová sekvenace není pro rutinní praxi dostupná.

## Závěr

V článku je popsán případ fatální sepse dospělého člověka s raritním původcem *A. suis*/*A. equuli*, včetně diagnostiky a citlivosti k antibiotikům. Jedná se pravděpodobně o prv-

ní popis humánní infekce způsobený tímto druhem v České republice.

## Literatura

1. Blackall PJ, Turni, C. *Actinobacillus*. In Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (eds. M. E. Trujillo, S. Dedys, P. DeVos, B. Hedlund, P. Kämpfer, F. A. Rainey and W. B. Whitman); 2022. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm01197.pub2https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm01197.pub2>.
2. Graevenitz A, Zbinden R, Mutters R. *Actinobacillus*, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Kingella*, *Pasteurella*, and Other Fastidious or Rarely Encountered Gram-Negative Rods. In Manual of Clinical Microbiology, (eds P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller, R. H. Tenover, ASM Press, Washington, DC; 2003; pp 574–587.
3. Zbinden R, Graevenitz AV. *Actinobacillus*, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Kingella*, *Pasteurella*, and Other Fastidious or Rarely Encountered Gram-Negative Rods. In Manual of Clinical Microbiology (eds. J. Versalovic, K. C. Carroll, G. Funke, J. H. Jorgensen, M. L. Landry and D. W. Warnock); 2011. <https://doi.org/10.1128/9781555816728.ch33>.
4. Montagnani C, Pecile P, Moriondo M, et al. First human case of meningitis and sepsis in a child by *Actinobacillus suis* or *Actinobacillus equuli*. *J Clin Microbiol* 2015;53(6):1990–1992.
5. Ashhurst-Smith C, Norton R, Thoreau W, et al. *Actinobacillus equuli* septicemia: an unusual zoonotic infection. *J Clin Microbiol* 1998; 36(9):2789–2790.
6. O Neil G, Ker A, Mohammed A, et al. *Actinobacillus hominis*: First reported case in the English language medical literature. *JMM Case Rep*. 2016;3(3):e005030. DOI 10.1099/jmmr.0.005030.
7. Peel MM, Hornidge KA, Luppino M, et al. *Actinobacillus* spp. and related bacteria in infected wounds of humans bitten by horses and sheep. *J Clin Microbiol* 1991;29(11):2535–2538.
8. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, 2022. <http://www.eucast.org>.
9. Christensen H, Bisgaard M, Olsen JE. Reclassification of equine isolates previously reported as *Actinobacillus equuli*, variants of *A. equuli*, *Actinobacillus suis* or Bisgaard taxon 11 and proposal of *A. equuli* subsp. *equuli* subsp. nov. and *A. equuli* subsp. *haemolyticus* subsp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2002;52(5):1569–1576.
10. Sternberg S. Studies on equine *Actinobacillus* spp. (Doktors avhandling), Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, Veterinaria 67, Uppsala 1999; pp 1–63.

# Digitalizace v klinické mikrobiologii

M. KOLÁŘ

Ústav mikrobiologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc

## SOUHRN

Kolář M.: **Digitalizace v klinické mikrobiologii**

Je předloženo zamyšlení nad digitalizací v klinické mikrobiologii. Jsou zvažovány výhody a limity digitálního zpracování mikrobiologických dat pro jednotlivce i celou lidskou populaci.

*Klíčová slova: mikrobiologie, data, digitalizace*

## SUMMARY

Kolář M.: **Digitalization in clinical microbiology**

Reflections on digitalization in clinical microbiology are presented. The advantages and limitations of digital processing of microbiological data for individuals and the human population are considered.

*Keywords: microbiology, data, digitalization*

*Klin mikrobiol inf lék 2022;28(2):48–51*

**Adresa:** Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D., Ústav mikrobiologie Fakultní nemocnice Olomouc, I. P. Pavlova 185/6, 779 00 Olomouc, e-mail: milan.kolar@upol.cz

Došlo do redakce: 23. 7. 2022

Schváleno k tisku: 31. 7. 2022

Digitální technologie budou bezpochyby utvářet naše životy v nadcházejících letech, a to včetně medicínských aplikací. Digitalizace a umělá inteligence přináší do zdravotnictví velká očekávání, která jsou podporována rostoucí poptávkou po optimalizaci kvality a nižších ekonomických nákladech. Lze předpokládat, že digitalizace povede k optimalizaci procesů, spojených se zdravotní péčí a současně ke zvýšení kvality poskytovaných lékařských služeb. Neméně důležité bude využití digitalizovaných dat jako informačních zdrojů pro sledování a dokumentaci kvality poskytované lékařské péče. Tento proces se bude týkat i klinické mikrobiologie, která generuje enormní množství dat vhodných pro digitální zpracování. Lze předpokládat, že se bude zvyšovat poptávka po kvalitních digitálních mikrobiologických datech využitelných pro diagnostiku infekčního onemocnění, optimalizaci léčby a predikci prognózy u konkrétního pacienta. Využití uvedených údajů a procesů poskytne možnost pro další rozvoj klinické mikrobiologie, založený na tvorbě algoritmů pro personifikovanou diagnostiku a léčbu.

Lze tedy definovat relativně nový termín „digitalizovaná mikrobiologie“, který je možné chápat jako digitalizaci mi-

krobiologických dat na všech úrovních (preanalytické, analytické i postanalytické), digitální zpracování výsledků mikrobiologických vyšetření, strojové učení a tvorbu sofistikovaných systémů, zaměřených na diagnostiku i léčbu infekčních nemocí a v neposlední řadě i na predikci mikrobiologických parametrů veřejného zdraví. Je vhodné zdůraznit, že digitalizovaná mikrobiologie může velmi podstatně ovlivnit veřejné zdraví dohledem nad původci infekčních onemocnění, včetně jejich vlastností, například kontinuálním monitorováním bakteriální rezistence k antibakteriálním přípravkům.

Digitalizace ve zdravotnictví již nyní vykazuje silný dopad na klinickou medicínu. Očekává se, že tento započatý vývoj bude dále nabírat na síle. Strojové učení radikálně mění způsob nakládání s daty souvisejícími se zdravotní péčí, včetně údajů pocházejících z mikrobiologických pracovišť. Současné trendy naznačují, že význam mikrobiologické diagnostiky bude nadále narůstat. Tato skutečnost znamená, že dnešní, a především budoucí, klinický mikrobiolog se musí:

- seznámit s koncepty digitalizované mikrobiologie,
- získat vzdělání v oblasti manipulace s daty,



- předvídat vývoj a aplikaci systémů, jako jsou mikrobiologické expertní programy a analýza obrazů, například mikroskopických preparátů a výsledků mikrobiologických kultivací, včetně metodik ke stanovení bakteriální citlivosti/rezistence k antibiotikům.

Právě nyní je čas, aby laboratoře klinické mikrobiologie vyhodnotily své procesy zpracování dat, včetně pracovních postupů, a dostupné infrastruktury pro ukládání a přenos údajů s cílem vyvinout strategie umožňující naplno využít možnosti digitalizace v příštích letech.

Laboratoře klinické mikrobiologie jsou bezesporu pracoviště v první linii při řešení infekčních nemocí v lidské populaci. Přestože většina mikrobiologických laboratoří stále spoléhá na konvenční metody, vývoj nových technologií posilovaný digitálním zpracováním získaných výsledků způsobí revoluci v mikrobiologické diagnostice. Důležité je, že k tomuto technologickému pokroku dochází v době strojového učení, kdy počítače již nepůsobí jen pasivně při uchovávání dat, ale mohou pomoci při rozhodování o diagnostice a optimální léčbě. Další integrace nových technologií do řetězce automatizace, v kombinaci se softwarem pro analýzu dat založeným na strojovém učení, může vést k rychlejší a cílenější diagnostice i léčbě infekčních nemocí. Pokud technologický pokrok dosáhne lepšího výkonu než konvenční metody, bude mít tato skutečnost dopad na celou organizaci klinické mikrobiologie a systém řízení. Je však nutné již nyní poukázat nejen na technologické možnosti, ale také na omezení a potenciální problémy (spočívající především v interpretaci získaných dat), které by jejich implementace mohla způsobit v klinické mikrobiologii a následně v praktické medicíně. Digitalizovaná mikrobiologie zřejmě představuje budoucnost, je však nutné pečlivě zvažovat všechny kroky, nové algoritmy a technologické postupy s cílem zajistit poskytování co nejlepší zdravotnické péče.

Digitalizace a automatizace zasahují, a stále více zasahovat budou, do všech oblastí klinické mikrobiologie. Již nyní jsou k dispozici automatizované systémy, které na základě čárového kódu na zkumavce s biologickým vzorkem pacienta vyberou příslušné agarové půdy a provedou inokulaci, resp. nanesení vzorků na příslušné půdy. Na základě digitální analýzy obrazů naočkovaných půd po inkubaci bude již brzy možné zpracovávat jednotlivé bakteriální kolonie a s využitím hmotnostní spektrometrie automaticky identifikovat jednotlivé bakterie ve velmi krátkém časovém intervalu. Velký potenciál má digitalizace v sérologii, včetně nepřímé diagnostiky infekcí na základě detekce protilátek, kde jsou v současné době používány vysoce sofistikované automatizované přístroje, produkující velké množství výsledků ve formě strukturovaných dat. Lze předpokládat, že další vývoj bude prohlubovat strojové učení, které umožní tyto výsledky lépe interpretovat ve vztahu ke konkrétnímu pacientovi, a především jeho klinickým potížím.

Velký potenciál digitalizované mikrobiologie lze spatřovat v antibiotické léčbě. Iniciální antibiotická léčba může vycházet z digitálního zpracování dat o konkrétním pacientovi, včetně mikrobiologických výsledků, a současně z digitálního zpracování nejčastějších bakteriálních patogenů u daného onemocnění na konkrétním oddělení, včetně jejich rezistence k antibiotikům. Například v případě nozokomiálních pneumonií lze zvážit iniciální monoterapii antibioti-

kem s účinností na > 90 % gramnegativních bakteriálních patogenů podle výsledků lokální surveillance bakteriální rezistence k antibiotikům (kumulativní antibiogram). Kumulativní antibiogramy jsou tedy vhodným příkladem digitálního zpracování údajů o bakteriální citlivosti/rezistenci k antibiotikům a jejich potřeba je v současné medicíně, především u těžce probíhajících a život ohrožujících infekcí, zřejmá. V blízké budoucnosti můžeme očekávat, že počítačové systémy podpory klinického rozhodování založené na strojovém učení budou poskytovat automatizovanou zpětnou vazbu, týkající se aplikace antibiotik u konkrétních pacientů. V dalším kroku budou analyzovány složitější datové řady. Zánětlivé laboratorní parametry (například hodnoty C-reaktivního proteinu, prokalcitoninu, interleukinu 6, presepsinu a leukocytů) se mohou během infekce rychle měnit a data časových řad výrazně ovlivní prediktivní hodnoty algoritmů k odhadu vývoje onemocnění či efektu léčby, podobně jako u lékaře, který pozoruje pacienta během vývoje nemoci. Algoritmy strojového učení budou sledovat a analyzovat tok kompletních údajů pacienta, například v případě sepse a dalších těžce probíhajících bakteriálních infekcí, a vytvářet podklady pro personalizovanou strategii léčby.

Shromažďování, kontrola kvality, ukládání, zabezpečení a ochrana, správa, propojení, hlášení a sdílení výsledků mikrobiologických vyšetření představují značné výzvy pro zpracování „velkých dat“ v mikrobiologických laboratořích. Rychle se rozvíjející počítačové technologie a zvyšující se dostupnost úložného datového prostoru představují nové možnosti pro mikrobiology a odborníky na infekční nemoci. Je zřejmé, že množství mikrobiologických dat s hlubokým lékařským kontextem se bude během následujících let exponenciálně zvyšovat. V laboratořích klinické mikrobiologie již nyní dochází k výrazné akumulaci rutinních dat, například hmotnostních spekter MALDI-TOF, fotodokumentovaných mikroskopických preparátů a bakterií na kultivačních agaroch (telebakteriologie), sekvenačních dat (mikrobiální genomika), výsledků PCR vyšetření a sérologických testů. Gigabajty mikrobiologických dat jsou produkovány každý den a následně ukládány v laboratorních mikrobiologických systémech. Vzhledem k rostoucímu množství dat již v blízké budoucnosti nebude pro jednotlivce možné udržet a propojit nejdůležitější a relevantní informace. Velké množství mikrobiologických výsledků vede k požadavku na hlášení kritických údajů přímo klinickému lékaři, například prostřednictvím okamžitého předání informací o pozitivních hemokulturách vhodnými softwarovými systémy. Digitální nástroje mohou efektivně tyto procesy usnadnit a automatizovat, především vývojem automatických výstražných systémů, sdělujících kritické výsledky u konkrétních pacientů přímo v databázi daného pacienta.

Strojové učení v digitalizované mikrobiologii je založeno na vzorových datech s cílem předpovídat nebo rozhodovat. Algoritmy strojového učení mohou být použity v každém kroku mikrobiologického diagnostického procesu, což umožňuje zvládnout rostoucí množství a složitost dat. Lidská analytická kapacita dosáhla svých limitů, aby:

- uchopila obrovské množství dostupných komplexních dat,
- propojila data u jednotlivých pacientů, skupin a napříč populací,
- vyvodila smysluplné obecně platné závěry.

Tabulka 1  
Definice diagnostického a antibiotického stewardshipu

Diagnostický stewardship	soubor opatření vedoucích k racionální indikaci, správné realizaci a adekvátní interpretaci mikrobiologických vyšetření
Antibiotický stewardship	soubor opatření vedoucích k racionální antibiotické léčbě, založené na adekvátním výběru antibakteriálních léčiv, odpovídající délce jejich aplikace a současně vhodném způsobu podání

Algoritmy strojového učení mohou tyto limity překonat použitím strukturovaných dat a rozpoznáním příslušných informačních vzorců. Zavedení algoritmů strojového učení v databázi výsledků mikrobiologických rutinních metodik vyžaduje důkladné systémové pochopení jednotlivých kroků a hlubokou znalost manipulace s daty. Digitalizovaná mikrobiologie vyžaduje důslednou znalost a analýzu diagnostického procesu i digitálního prostředí a tento vývoj by měl být mikrobiology velmi pečlivě sledován z následujících důvodů:

- porozumění a přístup k preanalytickému, analytickému a postanalytickému řízení procesů jsou klíčové,
- manipulace s daty je nejjednodušší v bodě, kde jsou data skutečně získána, tedy v laboratořích klinické mikrobiologie,
- mikrobiologové jsou velmi dobře obeznámeni se standardizací a regulačními aspekty mikrobiologických vyšetření.

Obecně lze konstatovat, že je nutná podpora všech aspektů digitálního zpracování dat v klinické mikrobiologii, včetně standardizace datových struktur a algoritmů strojového učení. Základním přístupem k výsledkům mikrobiologických vyšetření je jejich racionální interpretace. Především v případě bakterií a kvasinek není cílem klinické mikrobiologie jejich identifikace, ale adekvátní zhodnocení klinického významu. Je tedy nutné velmi pečlivě posoudit, zdali u konkrétního pacienta izolovaná bakterie či kvasinka je skutečným původcem onemocnění, nebo se jedná jen o klinicky nevýznamnou součást mikrobiomu. Jako zásadní se jeví důsledné dodržování principů diagnostického a antibiotického stewardshipu. Oba termíny jsou vysvětleny v *tabulce 1*.

Klinická mikrobiologie bezesporu představuje lékařskou specializaci vhodnou pro implementaci digitalizace a souvisejících nových technologických metodik. Mnoho klasických postupů, jako jsou manuální odečítání kultivačních pěstí, testů bakteriální citlivosti/rezistence k antibiotikům a mikroskopie, mohou během příštích let vymizet a být nahrazeny automatickými systémy. Již nyní je k dispozici například automatizovaný systém WASP pro očkovaní agarových mikrobiologických pěstí klinickými vzorky. V současné době je již k dispozici digitální zpracování obrazu kultivačního výsledku na agaru a lze předpokládat vývoj analytického systému, který umožní tento výsledek adekvátně zpracovat v souvislosti s klinickou diagnózou konkrétního pacienta. Z uvedeného však vyplývá, že vzdělávání veškerého mikro-

biologického personálu, klinických mikrobiologů i laboratorních asistentů, se musí přizpůsobit novým požadavkům digitalizované mikrobiologie.

Ze strukturovaných mikrobiologických dat mohou těžit i epidemiologické databáze. Velmi významnou databází je například EARS-Net (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network) poskytující klinicky významné údaje o rezistenci invazivních bakteriálních patogenů v řadě evropských zemí. Bylo by jistě žádoucí propojovat budoucí digitalizované postupy v klinické mikrobiologii s mezinárodními databázemi s cílem získat a využívat údaje významné pro zdraví lidské společnosti.

Sběr, analýza a výměna zdravotnických údajů musí splňovat zákonné a regulační požadavky. Proto je velmi žádoucí etické hodnocení digitalizace dat, včetně mikrobiologických. Dále je nutný souhlas pacienta, například prostřednictvím specifického nebo obecného souhlasu. V současné době nejsou v některých zemích povoleny obecné souhlasy s cílem zabránit používání zdravotnických údajů k jiným účelům, než které byly vysvětleny pacientovi. Vývoj těchto etických pravidel se zdá být nutný, protože shromážděná data mohou být zneužitelná, což pravděpodobně vyvolá řadu dalších etických problémů. Na druhé straně sdílené soubory digitálních dat mohou být velmi užitečné pro zlepšení dohledu nad veřejným zdravím a jejich nesdílení v nouzových situacích může být až neetické. Globálně existují různé zákony na ochranu osobních dat. V Evropě je aplikováno obecné nařízení o ochraně osobních údajů (GDPR) 2016/679, které musí být pro evropské občany dodržováno (eur-lex.europa.eu). Anonymizovaná data jsou často z těchto regulací vyloučena, stále však probíhá diskuze o tom, co anonymizace znamená.

Rozhraní vědeckého výzkumu a ochrany údajů o zdravotním stavu konkrétní osoby přináší další výzvy. Pokud jsou mezi zdravotnickými centry a pracovišti sdíleny větší soubory dat, etické komise obvykle požadují podrobný plán správy dat jako součást dohody o přenosu a používání získaných údajů. V takovém kontextu je vhodné vytvořit mezi výzkumnými institucemi dohodu o spolupráci, která upravuje způsob sběru dat, jejich uchování, přístupová práva a ochranu, povinnosti, odpovědnosti a duševní vlastnictví. Ve vědeckém výzkumu je rovněž rostoucí trend sdílení dat. Zatímco tradičně byly jednotlivé výzkumné skupiny zdrojem inovací a technologií, v současnosti se špičkový výzkum často odehrává v mezinárodních týmech. Je zřejmé, že například institucemi by měl být vytvořen rámec umožňující sdílení dat a výzkum s pragmatickými řešeními, která pomohou pacientům, lékařům a finálně celé lidské společnosti.

Podpořeno projekty MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892) a IGA\_LF\_2022\_018.

## Literatura

- Baker M, Yokoe D, Stelling J, et al. Automated outbreak detection of hospital-associated pathogens: Value to infection prevention programs. *Inf Control Hosp Epidemiol* 2020;41:1016–1021.
- Beaudoin M, Kabanza F, Nault V, Valiquette L. Evaluation of a machine learning capability for a clinical decision support system to enhance antimicrobial stewardship programs. *Artif Intell Med* 2016;68: 29–36.
- Brall C, Schroder-Back P, Maeckelberghe E. Ethical aspects of digital health from a justice point of view. *Eur J Public Health* 2019;29:18–22.
- Casey C, Li J, Berry M. Interorganizational collaboration in public health data sharing. *J Health Organ Manag* 2016;30:855–871.
- Croxatto A, Marcelpoil R, Orny C, et al. Towards automated detection, semi-quantification and identification of microbial growth in clinical bacteriology: a proof of concept. *Biomed J* 2017;40:317–328.
- Croxatto A, Prod'hom G, Faverjon F, Rochais Y, Greub G. Laboratory automation in clinical bacteriology: what system to choose? *Clin Microbiol Infect* 2016;22:217–235.
- Egli A, Schrenzel J, Greub G. Digital microbiology. *Clin Microbiol Inf* 2020;26:1324–1331.
- European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Available from: <https://www.ecdc.europa.eu> <https://www.ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/ears-net>
- Galetsis P, Katsaliaki K, Kumar S. Values, challenges and future directions of big data analytics in healthcare: a systematic review. *Soc Sci Med* 2019;241:112533.
- Garattini C, Raffle J, Aisyah DN, Sartain F, Kozlakidis Z. Big data analytics, infectious diseases and associated ethical impacts. *Philos Technol* 2019;32:69–85.
- Gruson D, Helleputte T, Rousseau P, Gruson D. Data science, artificial intelligence, and machine learning: opportunities for laboratory medicine and the value of positive regulation. *Clin Biochem* 2019;69:1–7.
- Kolář M, Rejman D, Bardoň J. Zásady antibiotické léčby. Univerzita Palackého v Olomouci, 2020.
- Komorowski M. Clinical management of sepsis can be improved by artificial intelligence: yes. *Intensive Care Med* 2020;46:375–377.
- Peiffer-Smadja N, Dellière S, Rodriguez C, et al. Machine learning in the clinical microbiology laboratory: has the time come for routine practice? *Clin Microbiol Infect* 2020;26:1300–1309.
- Sanchez-Pinto LN, Luo Y, Churpek MM. Big data and data science in critical care. *Chest* 2018;154:1239–1248.
- Smith KP, Kirby JE. Image analysis and artificial intelligence in infectious disease diagnostics. *Clin Microbiol Infect* 2020;26:1318–1323.
- Topol EJ. High-performance medicine: the convergence of human and artificial intelligence. *Nat Med* 2019;25:44–56.
- Tsao HM, Chang CM, Chuang JH, et al. Toward automatic reporting of infectious diseases. *Stud Health Technol Inform* 2017;245:808–812.
- Verroken A, Despas N, Rodriguez-Villalobos H, Laterre PF. The impact of a rapid molecular identification test on positive blood cultures from critically ill with bacteremia: a pre-post intervention study. *PLoS One* 2019;14:e0223122.
- Wang X, Williams C, Liu ZH, Croghan J. Big data management challenges in health research – a literature review. *Brief Bioinform* 2019;20:156–167.
- Weis CV, Jutzeler CR, Borgwardt K. Machine learning for microbial identification and antimicrobial susceptibility testing on MALDI-TOF mass spectra: a systematic review. *Clin Microbiol Infect* 2020;26:1310–1317.
- Zhou YH, Gallins P. A review and tutorial of machine learning methods for microbiome host trait prediction. *Front Genet* 2019;10:579.

# Může zavedení definice rezistence typu difficult-to-treat prohloubit spolupráci mezi mikrobiologií a klinickými lékaři?

G. KRONEISLOVÁ<sup>1,2</sup>, J. ZÁVORA<sup>1</sup>, V. ADÁMKOVÁ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, Klinická mikrobiologie a ATB centrum, VFN a 1. LF UK v Praze;

<sup>2</sup>Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

## SOUHRN

Kroneislová G., Závora J., Adámková V.: **Může zavedení definice rezistence typu difficult-to-treat prohloubit spolupráci mezi mikrobiologií a klinickými lékaři?**

**Cíl práce:** V této práci seznamujeme odborníky s relativně novou kategorií rezistence typu difficult-to-treat (DTR), jejíž použití má signifikantní vliv na predikci morbidity a mortality pacientů s invazivní infekcí způsobenou bakteriálními DTR kmeny. Její sledování se tak stává užitečným nástrojem v komunikaci mikrobiologa a klinického lékaře, a tím významnou součástí antimikrobiálního stewardshipu (AMS). Dále reportujeme prevalenci kmenů splňujících kritéria této kategorie v nemocnici fakultního typu, Všeobecné fakultní nemocnici v Praze.

**Metody:** Jedná se o retrospektivní kohortovou monocentrickou studii, do níž byly zahrnuty invazivní izoláty vybraných gramnegativních tyčinek od pacientů hospitalizovaných ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze v období let 2009–2013 a 2017–2021.

**Výsledky:** Z celkového počtu 920, resp. 812 unikátních kmenů gramnegativních tyčinek z hemokultur ze sledovaných období bylo 6,6 %, resp. 6,0 % rezistentních ke karbapenemům a v obou obdobích 3,7 % splňovalo definici typu DTR. V období 2009–2013 bylo v kategorii DTR zachyceno 23,1 % kmenů *A. baumannii* a 22,2 % kmenů *P. aeruginosa*, v období 2017–2021 bylo nejvíce v kategorii DTR kmenů *A. baumannii* (45 %) a *P. aeruginosa* (15,3 %). Nezachytili jsme žádný kmen *E. coli* rezistentní ke karbapenemům, tudíž žádný nespadal do kategorie DTR.

**Závěr:** Kmeny splňující kritéria DTR jsou závažnou komplikací a infekce jimi způsobené jsou obtížně léčitelné. Prevalence závažných infekcí způsobených kmeny s DTR fenotypem je ve sledovaném zdravotnickém zařízení relativně nízká. Antibiotika s efektem proti DTR je nutné nadále zachovávat jako záložní, a proto je nezbytné postupovat dle pravidel AMS a citlivost k těmto antibiotikům testovat.

**Klíčová slova:** antimikrobiální stewardship, difficult-to-treat, bakteriální rezistence, hemokultura, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* complex

## SUMMARY

Kroneislová G., Závora J., Adámková V.: **Can a difficult-to-treat resistance approach improve cooperation between microbiologists and clinicians?**

**Background:** We introduce a relatively new difficult-to-treat resistance (DTR) category to specialists. It significantly influences the predictability of morbidity and mortality in patients with invasive infections caused by DTR strains. Therefore, surveillance of DTR is an important tool of antimicrobial stewardship (AMS) and widely contributes to cooperation between microbiologists and clinicians. We also report the prevalence of strains meeting the criteria for the category in a teaching hospital.

**Methods:** This retrospective cohort single center study included invasive isolates of gram-negative rods from patients hospitalized in the General University Hospital in Prague in 2009–2013 and in 2017–2021.

**Results:** From a total of 1 732 (920 and 812, respectively) unique strains of gram-negative rods isolated from blood cultures in both periods, 6.6 % were carbapenem-resistant in 2009–2013 and 6.0 % in 2017–2021; 3.7 % were identified as DTR in both periods. Most of the DTR strains were *A. baumannii* (23.1 % and 45.0 %, respectively) and *P. aeruginosa* (22.2 % and 15.3 %, respectively). We identified no carbapenem-resistant *E. coli* and therefore no DTR *E. coli*.

**Conclusion:** Infections caused by bacterial strains with a DTR phenotype are grave complications and are tricky to manage. The prevalence of severe infections caused by these strains was relatively low in the studied facility. Antibiotics with anti-DTR effects should be considered the last resort, so it is very important to comply with AMS rules and examine the susceptibility of these agents.

**Keywords:** antimicrobial stewardship, difficult-to-treat, resistant bacteria, blood culture, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* complex

*Klin mikrobiol inf lék* 2022;28(2):52–58

**Adresa:** Ing. Gabriela Kroneislová, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, Klinická mikrobiologie a ATB centrum, VFN a 1. LF UK v Praze, U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Došlo do redakce: 2. 5. 2022

Schváleno k tisku: 28. 5. 2022

## Úvod

Dle zprávy Evropského střediska pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC, European Centre for Disease Prevention and Control) z března roku 2022 je antimikrobiální rezistence nadále vážným důvodem k obavám. Každoročně je v Evropském hospodářském prostoru asi 670 000 infekcí způsobeno bakteriemi rezistentními k antibiotikům a přibližně 33 000 těchto případů končí smrtí pacienta [1]. Celosvětově umírá na infekce způsobené rezistentními bakteriemi asi 700 000 lidí ročně, ale odhaduje se, že do roku 2050 stoupne toto číslo až na 10 milionů, a tyto infekce se tak stanou nejčastější příčinou úmrtí [2].

Přestože se dostupnost nových antibiotik postupně zlepšuje, rezistence k některým, ne-li všem z nich, byla již popsána [3]. Závažné infekce způsobené rezistentními mikroorganismy jsou spojené se selháním léčby, prolongovanou hospitalizací a zvýšenými finančními náklady na léčbu. Pro pozastavení nárůstu rezistence je však nutná efektivní surveillance jak u komunitních, tak u nozokomiálních infekcí. Taková surveillance ale vyžaduje dobře nastavenou klasifikaci fenotypů rezistence, do které lze fenotypy jednoduše a rychle zařadit. Navíc by měla klasifikace kmene dle fenotypu korelovat s morbiditou a mortalitou pacienta, a mít tak dopad na klinickou praxi.

V roce 2008 navrhla světová centra pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC – americké i ECDC – evropské) klasifikaci rezistencí dle fenotypu, tedy dle antibiogramu jednotlivých kmenů. Vznikly tak kategorie: MDR (multidrug resistance), do které spadají kmeny necitlivé k aspoň jednomu antibiotiku z minimálně tří skupin; XDR (extensive drug resistance), kde zbývá citlivost k antibiotikům z maximálně dvou skupin; a PDR (pan-drug resistance), tedy necitlivost ke všem antibiotikům ze všech skupin [4].

Tyto pojmy se dlouhou dobu extenzivně využívaly pro jednoduchou klasifikaci fenotypu rezistence. I když mají zjevné výhody pro epidemiologická šetření, recentně se jejich

význam zpochybňuje. Tyto kategorie totiž neberou v potaz například vyšší účinnost nebo toxicitu některých skupin antibiotik, což je v klinické praxi zásadní. Pro zařazení mikrobiálního kmene do této kategorie je také nutné testování citlivosti k velmi širokému spektru antibiotik. Zásadním problémem je to, že byly velmi sporné výsledky studií, které se snažily dokázat klinický dopad zařazení kmenů do fenotypových skupin. Ukázalo se, že na základě jejich použití nelze s vysokou pravděpodobností predikovat mortalitu [5].

V roce 2018 tak Kadri et al. navrhli novou kategorii antibiotické rezistence pro gramnegativní tyčinky a nazvali ji difficult-to-treat (DTR). Je definována jako rezistence k antibiotikům s vysokou účinností a relativně nízkou toxicitou. V tomto případě se jedná o betalaktamy (peniciliny, včetně kombinací s betalaktamovými inhibitory betalaktamáz, cefalosporiny, karbapenemy) a fluorochinolony. Díky těmto příznivým charakteristikám jsou to skupiny antibiotik, které se využívají vůbec nejvíc, a často se jedná o antibiotika první volby [6].

Zásadním problémem při managementu infekcí způsobených DTR kmeny je rezistence ke karbapenemovým antibiotikům, která se využívají hlavně v případě závažných infekcí, či infekcí způsobených multirezistentními bakteriemi. Nejčastějším mechanismem rezistence gramnegativních tyčinek ke karbapenemům je produkce karbapenemáz – enzymů, které patří mezi betalaktamázy. Klasifikace betalaktamáz viz *tabulka 1*. Výskyt těchto kmenů je spojen jak s rizikem selhání terapie, tak i rizikem epidemiologickým [7,8,9].

Rezistence bakterií k antibiotikům první volby však potom vede k tomu, že je nutné využít antibiotika s nižší účinností, anebo větší mírou toxicity, např. aminoglykosidy, tigeckylin nebo kolistin. Jejich využití pak bývá zpravidla spojeno s častějším selháním léčby a nežádoucími účinky [10,11]. Například u kolistinu, který byl donedávna považován za antibiotikum poslední volby, zdůrazňuje European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) i Clinical

Tabulka 1  
Klasifikace betalaktamáz

Typ betalaktamázy	Ambler	Bushová-Jacoby-Medeiros	Charakteristika	Příklady enzymů
betalaktamázy s úzkým spektrem	A	2a + 2b	hydrolýza penicilinového ATB	TEM, SHV-1
širokospektré betalaktamázy (ESBL)	A	2be	hydrolýza betalaktamových ATB s úzkým i širokým spektrem	SHV-2, CTX-M
serinové karbapenamázy	A	2f	hydrolýza karbapenemů	KPC, IMI, GES
metalobetalaktamázy	B	3	hydrolýza karbapenemů	VIM, IMP, NDM
cefalosporinázy	C	1	hydrolýza některých cefalosporinů	AmpC, CMY-2, FOX
enzymy typu OXA	D	2d	hydrolýza oxacilinu, cefalosporinů a karbapenemů	OXA-48

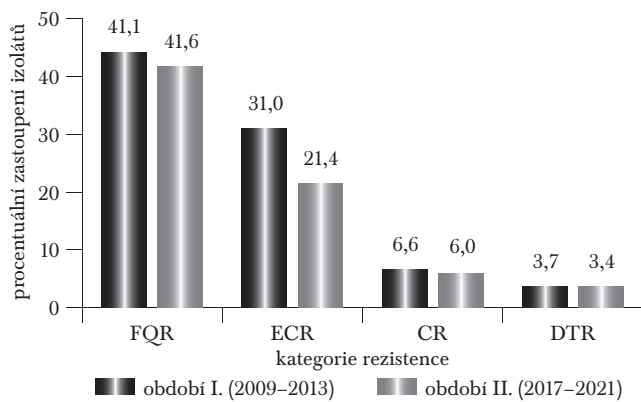
Upraveno dle: Drawz a Bonomo, 2010 [7]; Toussaint, et al., 2014 [8]; Bush, et al., 2010 [9].

ATB – antibiotikum; ESBL – širokospektrá betalaktamáza (extended-spectrum beta-lactamase)

and Laboratory Standards Institute (CLSI) určité limitace. Dle dokumentu, který EUCAST vydal v roce 2021, jsou breakpointy pro kolistin uvedeny pouze pro rozlišení kmenů se získanou rezistencí, ale neměly by být využívány pro klinickou interpretaci. CLSI dokonce považuje všechny kmeny gramnegativních bakterií za necitlivé ke kolistinu, protože PK/PD data ukazují omezenou klinickou účinnost [12,13].

Graf 1

Vybrané rezistence gramnegativních tyčinek (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex) zachycených v hemokulturách v období 2009–2013 a 2017–2021, kdy bylo zachyceno celkem 920, resp. 812 těchto kmenů



Vysvětlivky: FQR – rezistence k fluorochinolonům, ECR – rezistence k cefalosporinům vyšší generace CR – rezistence ke karbapenemům, DTR (difficult-to-treat) – kmeny necitlivé ke všem látkám v kategoriích karbapenemů, betalaktamů a fluorochinolonů

Provedli jsme retrospektivní studii s využitím dat z laboratorního informačního systému, kde jsme se zaměřili na antibiogramy invazivních kmenů, nejčastěji zachycovaných gramnegativních tyčinek za období 2009–2013 a 2017–2021. Následně jsme zjistili prevalenci kmenů s rezistencí typu DTR v porovnání s rezistencemi k jednotlivým skupinám antibiotik zahrnutým v definici. Cílem této práce je uvést novou kategorii rezistence do povědomí odborníků a zdůraznit její roli ve spolupráci mikrobiologů a klinických lékařů, což je nepostradatelná součást AMS a správného managementu infekcí. Dále reportujeme prevalenci kmenů s tímto typem rezistence v hemokulturách pacientů v nemocnici fakultního typu s 1 500 lůžky.

## Metodika

Analyzovali jsme data o rezistenci izolátů od pacientů s infekcí krevního řečiště, kteří byli hospitalizováni ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze v období let 2009–2013 a 2017 až 2021. Do studie byly zahrnuty vzorky hemokultur, ze kterých byl izolován jeden nebo více z následujících mikroorganismů: *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* complex, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* nebo *Acinetobacter baumannii*.

Data byla získána z laboratorního informačního systému a zpracována tak, aby byly do studie zahrnuty kmeny s unikátní citlivostí od jednoho pacienta. Celkem to bylo 920, resp. 812 izolátů.

## Definice

Difficult-to-treat resistance (DTR) je možné do češtiny přeložit jako obtížně léčitelné rezistence. Tento termín poprvé použil Kadri ve své publikaci z roku 2018 [6] (tabulka 2). Vychází z definice, která byla publikována institutem Roberta Kocha v roce 2012, kdy byla navržena nová kategorie rezistence ke 4 významným antibiotickým skupinám –

Tabulka 2

Přehled definic jednotlivých sledovaných rezistencí

Definice	Antimikrobiální látky	Kritéria
rezistence ke karbapenemům (CR)	imipenem, meropenem, ertapenem <sup>1</sup>	rezistentní k $\geq 1$ karbapenemu ( <i>Enterobacterales</i> ); intermediální nebo rezistentní k $\geq 1$ karbapenemu ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> )
rezistence k cefalosporinům	ceftazidim <sup>2</sup> , cefotaxim <sup>1</sup>	rezistence k $\geq 1$ cefalosporinu vyšší generace vyšších generací (ECR)
rezistence k fluorochinolonům (FQR)	ciprofloxacín	rezistence na $\geq 1$ fluorochinolon
Difficult-to-treat rezistence (DTR)	imipenem, meropenem, ertapenem <sup>1</sup> , ceftazidim <sup>2</sup> , cefotaxim <sup>1</sup> , piperacilin/tazobaktam, ciprofloxacín	necitlivé ke zde zmíněným antibiotikům

<sup>1</sup> platí pouze pro *Enterobacterales*; <sup>2</sup> neplatí pro *A. baumannii*

Upraveno dle: Kadri, et al., 2018 [6]

Tabulka 3  
Porovnání výskytu jednotlivých kategorií rezistence ve sledovaných obdobích

Bakterie	Období	Počet (procentuální zastoupení) rezistentních kmenů				
		Počet kmenů	FQR	ECR	CR	DTR
<i>Acinetobacter baumannii</i>	I. (2009–2013)	13	3 (23,1 %)	–	3 (23,1 %)	3 (23,1 %)
	II. (2017–2021)	20	10 (50 %)	–	9 (45 %)	9 (45 %)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	I. (2009–2013)	135	61 (45,2 %)	38 (28,1 %)	57 (42,2 %)	30 (22,2 %)
	II. (2017–2021)	118	44 (37,3 %)	25 (21,2 %)	37 (31,4 %)	18 (15,3 %)
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	I. (2009–2013)	96	22 (22,9 %)	34 (35,4 %)	1 (1,0 %)	1 (1,0 %)
	II. (2017–2021)	76	16 (21,0 %)	22 (28,9 %)	1 (1,3 %)	1 (1,3 %)
<i>Escherichia coli</i>	I. (2009–2013)	361	148 (41,0 %)	59 (16,3 %)	0	0
	II. (2017–2021)	382	158 (41,4 %)	44 (11,5 %)	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	I. (2009–2013)	315	172 (54,6 %)	154 (48,9 %)	0	0
	II. (2017–2021)	216	110 (50,9 %)	83 (38,4 %)	2 (0,9 %)	2 (0,9 %)
Celkem	I. (2009–2013)	920	406 (44,1 %)	285 (31,0 %)	61 (6,6 %)	34 (3,7 %)
	II. (2017–2021)	812	338 (41,6 %)	174 (21,4 %)	49 (6,0 %)	30 (3,7 %)

Vysvětlivky: FQR – rezistence k fluorochinolonům, ECR – rezistence k cefalosporinům vyšší generace CR – rezistence ke karbapenemům, DTR (difficult-to-treat) – kmeny necitlivé ke všem látkám v kategoriích karbapenemů, betalaktamů a fluorochinolonů

penicilinům, cefalosporinům, karbapenemům a fluorochinolonům [14]. Kategorie DTR je zavedena z důvodu nízké klinické výtěžnosti definice rezistence typu MDR (multi-drug resistance), XDR (extensive drug resistance) a PDR (pan-drug resistance).

V tabulce 2 jsou také shrnuty definice jednotlivých fenotypů rezistence (vycházející z dokumentu vydaného CDC v roce 2015): rezistence ke karbapenemům (CR), rezistence k cefalosporinům vyšších generací (ECR) nebo fluorochinolonům (FQR) [4].

## Výsledky

Ve sledovaných obdobích (2009–2013 a 2017–2021) bylo ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze zachyceno 920, resp. 812 unikátních izolátů gramnegativních bakterií (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* complex, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter baumannii*) způsobujících infekce krevního řečiště (tabulka 3).

Z celkových počtů zachycených rezistentních izolátů bylo v obou sledovaných obdobích 3,7 % vzorků DTR. Celková rezistence ke karbapenemům mírně klesla (ze 6,6 % na 6,0 %). Počet vzorků rezistentních k cefalosporinům vyšší generace klesl z 31,0 % na 21,4 % a rezistence k fluorochinolonům také mírně klesla (ze 44,1 % na 41,6 %) (graf 1).

Lze shrnout, že u jednotlivých mikroorganismů a sledovaných období se procento rezistence významně liší. *P. aeruginosa* vykazovala v prvním sledovaném období rezistenci ke karbapenemům 42,2 % a DTR 22,2 % v druhém sledovaném období bylo ke karbapenemům rezistentních 31,4 % a z toho 15,3 % DTR (graf 3). U tohoto mikroorganismu se snížila i rezistence k fluorochinolonům (45,2 % vs.

37,3 %) a cefalosporinům vyšší generace (28,1 % vs 21,2 %).

Největší rozdíl v počtu detekovaných kmenů i jejich rezistence v záchytech ze vzorků hemokultur, tedy u infekcí krevního řečiště, je patrná u *A. baumannii*, kde ve sledovaném období 2009–2013 bylo zachyceno 13 těchto izolátů a v období 2017–2021 jsme takových kmenů identifikovali 20. V prvním období dosahovala rezistence ke všem sledovaným kategoriím 23,1 %. V druhém období dosahuje *A. baumannii* 50 % rezistence k fluorochinolonům a 45 % rezistence ke karbapenemům a stejně vysoká je hodnota DTR (graf 4).

Oproti tomu DTR a stejně tak rezistence ke karbapenemům u kmenů *E. coli* nebyla ani v jednom sledovaném období detekována žádná. U *K. pneumoniae* stoupla DTR a rezistence ke karbapenemům na 0,9 %. A u kmenů *E. cloacae* complex rezistence stoupla na 1,3 %. Rezistence *Enterobacteriales* k fluorochinolonům se drží na podobné výši a rezistence k cefalosporinům vyšších generací klesla u *E. coli* z 16,3 % na 11,5 %, u *K. pneumoniae* ze 48,9 % na 38,4 % a u *E. cloacae* complex z 35,4 % na 28,9 %. Viz grafy 2.1, 2.2, 2.3.

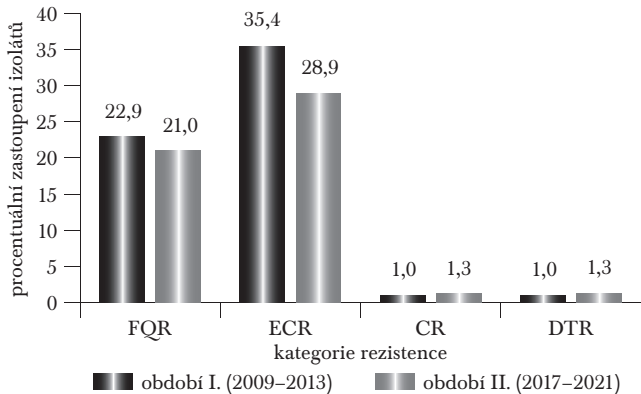
## Diskuze

Rezistence typu DTR s sebou nese nutnost preskripce antibiotik, která nespádají do kategorie antibiotik první volby, to znamená antibiotik s vyšší toxicitou a nižší účinností. Identifikace takovýchto kmenů a jejich zařazení do správné kategorie rezistence je zcela zásadní pro indikování správné antibiotické terapie v klinické praxi [6].

Význam dříve používaných kategorií rezistence (MDR, XDR, PDR) pro management infekce je recentně zpochyb-

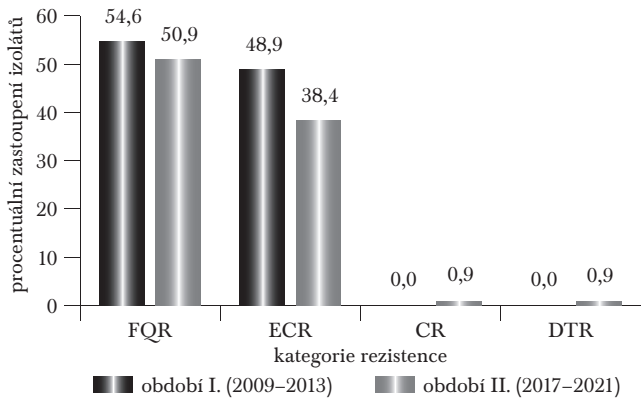
Graf 2.1

Vybrané rezistence kmenů *E. cloacae* complex zachycených v hemokulturách v období 2009–2013 a 2017–2021, kdy bylo zachycených celkem 96, resp. 76 kmenů



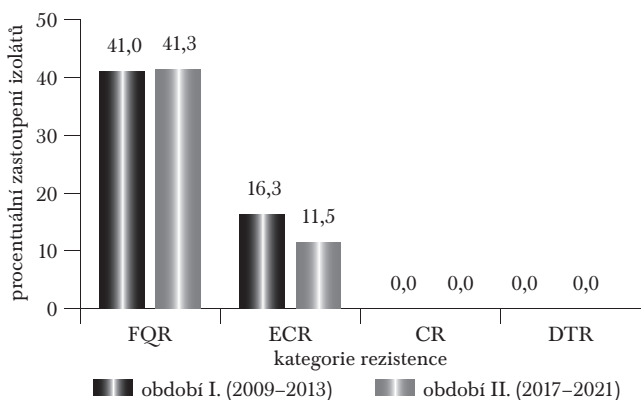
Graf 2.2

Vybrané rezistence kmenů *K. pneumoniae* zachycených v hemokulturách v období 2009–2013 a 2017–2021, kdy bylo zachycených celkem 315, resp. 216 kmenů



Graf 2.3

Vybrané rezistence kmenů *E. coli* zachycených v hemokulturách v období 2009–2013 a 2017–2021, kdy bylo zachycených celkem 361, resp. 382 kmenů



Vysvětlivky: FQR – rezistence k fluorochinolonům, ECR – rezistence k cefalosporinům vyšší generace CR – rezistence ke karbapenemům, DTR (difficult-to-treat) – kmeny necitlivé ke všem látkám v kategoriích karbapenemů, betalaktamů a fluorochinolonů

ňován [4,5]. Při zařazování kmenů do těchto kategorií nejsou zohledněny informace o toxicitě a účinnosti antibiotik, a tedy neurčují správné prediktivní faktory mortality a morbiditu.

V této retrospektivní studii byla analyzována data fakultní nemocnice za období let 2009–2013 a 2017–2021. Z výsledků je patrné, že celková prevalence rezistence typu DTR u vybraných invazivních izolátů gramnegativních bakterií (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex) je relativně nízká, dosahuje hodnoty 3,7 %. Nejčastěji do této kategorie spadaly izoláty druhu *A. baumannii* a *P. aeruginosa*. Procentuální zastoupení izolátů zařazených do kategorie DTR u *A. baumannii* stoupl téměř dvojnásobně, zatímco u *P. aeruginosa* kleslo o necelou polovinu. Izoláty gramnegativních bakterií z krevního řečiště jsou vhodné ke sledování bakteriální rezistence z důvodů malé pravděpodobnosti kontaminace vzorku těmito bakteriemi.

Ve studii z roku 2018 analyzuje Kadri et al. data za období 2009–2013 a sleduje prevalenci rezistence typu DTR ve 173 amerických nemocnicích. DTR kmenů bylo v tomto období zachyceno 1 %. Oproti tomu ve stejném období bylo v naší fakultní nemocnici identifikováno 3,7 % těchto kmenů. Prevalence za období 2017–2021 se v naší nemocnici zásadně nezměnila (3,7 %), ale došlo k signifikantnímu posunu v zastoupení druhů rezistentních kmenů. Stejně jako ve studii Kadriho jsou v popředí kmeny *A. baumannii* a *P. aeruginosa* i v našem souboru.

Většina studií, které se zaměřují na rezistenci typu DTR, zmiňuje, že u *A. baumannii* rezistence ke karbapenemům převážně koreluje s DTR rezistencí na rozdíl od *P. aeruginosa*, případně *Enterobacterales* [15,16]. U *A. baumannii* bývá rezistence ke karbapenemům spojena s rezistencí k ostatním testovaným antibiotikům. Na rozdíl od *P. aeruginosa*, u které se jedná o kmeny se zachovanou citlivostí k jiným betalaktamům, případně k fluorochinolonům. Se stejným fenoménem jsme se setkali i my v naší studii. Z tohoto je patrné, že u infekcí způsobených *A. baumannii* je rezistence ke karbapenemům prediktorem DTR fenotypu.

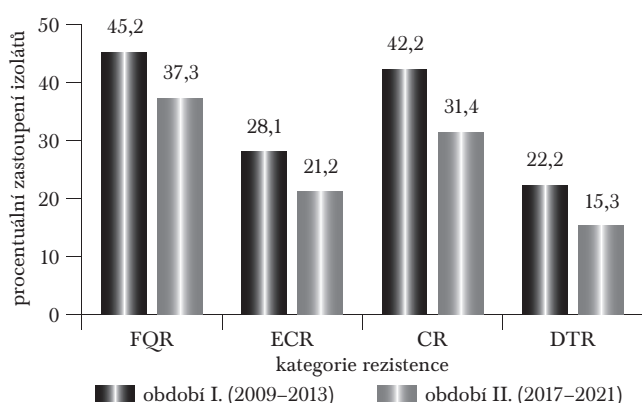
V období po zavedení definice kategorie DTR byla uvedena na trh nová antibiotika ze skupiny betalaktamů s potenciální účinností na DTR kmeny. Předností těchto antibiotik je relativně nízká toxicita a vysoká účinnost. Tato kombinace vlastností antibiotik je zásadní, a mohou tak být nadřazena antibiotikům s efektem na DTR již existujícím, jejichž účinnost je nižší a toxicita vyšší. Nové přípravky buď sdružují již zavedená antibiotika s novými inhibitory betalaktamázy nebo jsou to úplně nové molekuly.

Mezi tato antibiotika patří například ceftolozan/tazobaktam (C/T), ceftazidim/avibaktam (C/A), imipenem/cilastatin/relebaktam (IMI/REL), meropenem/vaborbaktam (MER/VAB) a cefiderokol (FDR). Ceftolozan/tazobaktam je kombinace nového antipseudomonádového cefalosporinu s již existujícím betalaktamovým inhibitorem betalaktamázy. Díky tomu, že překonává nejčastější mechanismy rezistence *P. aeruginosa* (ztráta membránových porinů, produkce betalaktamázy AmpC, eflux), má vůči ní vysokou účinnost, včetně rezistentních kmenů, což by mohlo zahrnovat i DTR rezistence. C/T ale neinhibuje karbapenemázy [17].



Graf 3

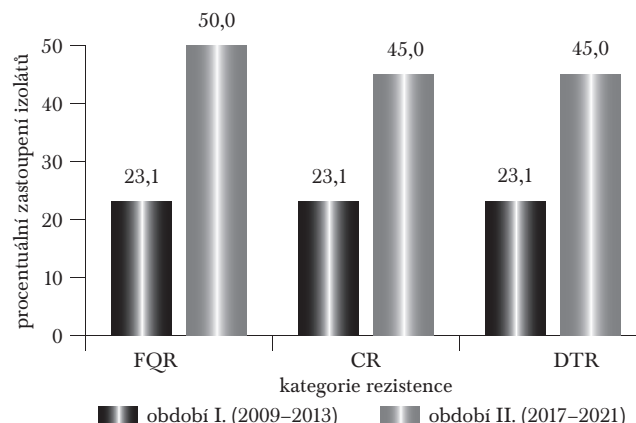
Vybrané rezistence kmenů *P. aeruginosa* zachycených v hemokulturách v období 2009–2013 a 2017–2021, kdy bylo zachycených celkem 135, resp. 118 těchto kmenů



Vysvětlivky: FQR – rezistence k fluorochinolonům, ECR – rezistence k cefalosporinům vyšší generace, CR – rezistence ke karbapenemům, DTR (difficult-to-treat) – kmeny necitlivé ke všem látkám v kategoriích karbapenemů, betalaktamů a fluorochinolonů

Graf 4

Vybrané rezistence kmenů *A. baumannii* zachycených v hemokulturách v období 2009–2013 a 2017–2021, kdy bylo zachyceno celkem 13, resp. 20 těchto kmenů



Vysvětlivky: FQR – rezistence k fluorochinolonům, CR – rezistence ke karbapenemům, DTR (difficult-to-treat) – kmeny necitlivé ke všem látkám v kategoriích karbapenemů, betalaktamů a fluorochinolonů

Ceftazidim/avibaktam je kombinací již existujícího cefalosporinu s novým nebetalaktamovým inhibitorem. Avibaktam obnovuje efekt ceftazidimu u kmenů ze skupiny *Enterobacterales* rezistentních ke karbapenemům, produkujících betalaktamázy Amblerových skupin A, C, některých z třídy D, a multirezistentních kmenů *P. aeruginosa*.

Výše uvedená antibiotika nejsou doporučena pro terapii infekcí způsobené *A. baumannii*. Například čínská studie Wang et al. (2019) však uvádí pro C/A rezistenci více než 50 % [15]. EUCAST neuvádí breakpointy pro *in vitro* testování citlivosti k těmto antibiotikům, a proto z pohledu uživatelů jejich doporučení je výběr tohoto antibiotika pro *in vitro* testování citlivosti u *A. baumannii* irelevantní [18].

Imipenem/cilastatin/relebaktam je kombinace karbapenemu s novým nebetalaktamovým inhibitorem betalaktamázy. Inhibuje betalaktamázy tříd A a C (dle Amblera). Pro DTR kmeny *P. aeruginosa* ale není indikován, protože neinhibuje betalaktamázy třídy B, z nichž např. IMP a VIM jsou jedny z nejčastěji se vyskytujících [19]. Relebaktam nezvyšuje aktivitu imipenemu vůči rezistentním kmenům *A. baumannii*, a není tak pro terapii infekcí způsobených těmito kmeny použitelný.

Meropenem/vaborbaktam je kombinace karbapenemu s novým nebetalaktamovým inhibitorem betalaktamázy. Vaborbaktam obnovuje aktivitu meropenemu vůči *Enterobacterales* produkujícím karbapenemázy třídy A, nemá ovšem aktivitu vůči skupinám B a D. Karbapenemázy z těchto skupin způsobují rezistenci u *A. baumannii* a *P. aeruginosa* vůbec nejběžněji, a proto není pro terapii doporučován [20].

Zcela nová molekula, která vykazuje účinek vůči DTR, je cefiderokol. Je to sideroforní cefalosporin, který se do bakteriální buňky dostává pomocí transportního systému pro železo, bez problému tak překonává nejčastější mechanismy rezistence ke karbapenemům (produkce karbapenemázy, mutace porinových kanálů, efluxní pumpy). Toto umožňuje je-

ho účinek i vůči karbapenemázám třídy B a DTR kmenům *P. aeruginosa* a *A. baumannii* [21].

Zkoumání citlivosti DTR kmenů k těmto antibiotikům by mělo být předmětem dalších studií.

Správná indikace terapie infekcí způsobených rezistentními kmeny je jeden z cílů antimikrobiálního stewardshipu (AMS) a DTR kmeny jsou pro něj velkou výzvou. Pro úspěšnou léčbu je nutná rychlá a přesná identifikace rezistence a zařazení fenotypu do správné kategorie. Záchyt DTR izolátu umožňuje adekvátní predikci morbidit a mortality, ale vyžaduje hlubokou spolupráci mezi mikrobiologem a klinickým lékařem, aby efekt léčby byl co největší a nedocházelo k nadměrnému užívání antibiotik.

Hlavní nevýhodou této studie je to, že je monocentrická. Kvalita dat je závislá na rozložení skupin hospitalizovaných pacientů a nejsou zde adekvátně reprezentována data z jiných částí České republiky, tedy z oblastí s jinou epidemiologickou situací. Multicentrické studie se ale spoléhají na data, která jsou autorům poskytnuta a nemají většinou možnost je zkontrolovat. Některé multicentrické studie čerpající z mezinárodních systémů surveillance (např. EARS-Net) jsou dokonce postaveny na datech získaných v jednotlivých zemích pouze z jedné instituce [13]. V našem případě bylo možné jednotlivé vzorky projít, dohledat podrobná data o antibiotické citlivosti a odstranit bias.

Tato studie neobsahuje data o citlivosti DTR kmenů k novým antibiotikům proti nim potenciálně účinným, která budou součástí následující publikace.

## Závěr

Jako první se vyjadřujeme k DTR rezistenci na území České republiky a sledujeme prevalenci takovýchto kmenů v nemocnici fakultního typu.

Infekce způsobené kmeny zařazenými do kategorie DTR jsou spojené s vyšší mortalitou oproti rezistencím kategorií MDR, XDR, PDR.

Je zapotřebí věnovat této problematice dostatečnou pozornost a sledovat citlivost kmenů k novým antibiotikům, jako jsou kombinace s novými inhibitory betalátamáz a cefiderokol.

Publikace byla vytvořena za podpory projektů MZ ČR – RVO-VFN-64165, Program Progres Q25, Program Progres Q28.

## Literatura

- WHO Regional Office for Europe/European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022–2020 data. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2022.
- Review on Antimicrobial Resistance. Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations. 2014. Dostupné z: [https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations\\_1.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf)
- Ho S, Nguyen L, Trinh T, MacDougall C. Recognizing and Overcoming Resistance to New Beta-Lactam/Beta-Lactamase Inhibitor Combinations. *Curr Infect Dis Rep.* 2019;21(10):39. doi: 10.1007/s11908-019-0690-9. PMID: 31501948.
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(3):268–81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x. Epub 2011 Jul 27. PMID: 21793988.
- Vardakas KZ, Rafailidis PI, Konstantelias AA, Falagas ME. Predictors of mortality in patients with infections due to multi-drug resistant Gram negative bacteria: the study, the patient, the bug or the drug? *J Infect.* 2013;66(5):401–14. doi: 10.1016/j.jinf.2012.10.028. Epub 2012 Nov 6. PMID: 23142195.
- Kadri SS, Adjemian J, Lai YL, Spaulding AB, Ricotta E, Prevots DR, Palmore TN, Rhee C, Klompas M, Dekker JP, Powers JH<sup>3rd</sup>, Suffredini AF, Hooper DC, Fridkin S, Danner RL; National Institutes of Health Antimicrobial Resistance Outcomes Research Initiative (NIH–ARORI). Difficult-to-Treat Resistance in Gram-negative Bacteremia at 173 US Hospitals: Retrospective Cohort Analysis of Prevalence, Predictors, and Outcome of Resistance to All First-line Agents. *Clin Infect Dis.* 2018;67(12):1803–1814. doi: 10.1093/cid/ciy378. PMID: 30052813; PMCID: PMC6260171.
- Drawz SM, Bonomo RA. Three decades of beta-lactamase inhibitors. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(1):160–201. doi: 10.1128/CMR.00037-09. PMID: 20065329; PMCID: PMC2806661.
- Toussaint KA, Gallagher JC.  $\beta$ -lactam/ -lactamase inhibitor combinations: from then to now. *Ann Pharmacother.* 2015;49(1):86–98. doi: 10.1177/1060028014556652. Epub 2014 Oct 31. PMID: 25361682.
- Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(3):969–976. doi: 10.1128/AAC.01009-09. Epub 2009 Dec 7. PMID: 19995920; PMCID: PMC2825993.
- Vicari G, Bauer SR, Neuner EA, Lam SW. Association between colistin dose and microbiologic outcomes in patients with multidrug-resistant gram-negative bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2013;56(3):398–404. doi: 10.1093/cid/cis909. Epub 2012 Oct 22. PMID: 23090926.
- Prasad P, Sun J, Danner RL, Natanson C. Excess deaths associated with tigecycline after approval based on noninferiority trials. *Clin Infect Dis.* 2012;54(12):1699–709. doi: 10.1093/cid/cis270. Epub 2012 Mar 30. PMID: 22467668; PMCID: PMC3404716.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Colistin breakpoints – guidance document 2021. Valid from 10-2021. Dostupné z: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Guidance\\_documents/Colistin\\_guidance\\_2021.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Guidance_documents/Colistin_guidance_2021.pdf)
- CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 30<sup>th</sup> ed. 2020. <https://clsi.org/>
- Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen. Empfehlung der Kommission für Kranken-haushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) [Hygiene measures for infection or colonization with multidrug-resistant gram-negative bacilli. Commission recommendation for hospital hygiene and infection prevention (KRINKO) at the Robert Koch Institute (RKI)]. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2012;55(10):1311–1354. German. doi: 10.1007/s00103-012-1549-5. Erratum in: Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2013;56(9):1342. PMID: 23011096.
- Wang Y, Wang J, Wang R, Cai Y. Resistance to ceftazidime-avibactam and underlying mechanisms. *J Glob Antimicrob Resist.* 2020;22:18–27. doi: 10.1016/j.jgar.2019.12.009. Epub 2019 Dec 19. PMID: 31863899.
- Huh K, Chung DR, Ha YE, Ko JH, Kim SH, Kim MJ, Huh HJ, Lee NY, Cho SY, Kang CI, Peck KR, Song JH. Korean Antimicrobial Resistance Surveillance Network (KARS-Net) Investigators. Impact of Difficult-to-Treat Resistance in Gram-negative Bacteremia on Mortality: Retrospective Analysis of Nationwide Surveillance Data. *Clin Infect Dis.* 2020;71(9):e487–e496. doi: 10.1093/cid/ciaa084. PMID: 31994704.
- Marao AE, Mazzitelli M, Trecarichi EM, Buonomo AR, Torti C, Gentile I. Ceftolozane/tazobactam for difficult-to-treat Pseudomonas aeruginosa infections: A systematic review of its efficacy and safety for off-label indications. *Int J Antimicrob Agents.* 2020;55(3):105891. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105891. Epub 2020 Jan 8. PMID: 31923569.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 12.0, valid from 2022-01-01. 2022. Dostupné z: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/v\\_12.0\\_Breakpoint\\_Tables.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_12.0_Breakpoint_Tables.pdf)
- Karlowsky JA, Lob SH, Raddatz J, DePestel DD, Young K, Motyl MR, Sahn DF. In Vitro Activity of Imipenem/Relebactam and Ceftolozane/Tazobactam Against Clinical Isolates of Gram-negative Bacilli With Difficult-to-Treat Resistance and Multidrug-resistant Phenotypes—Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends, United States 2015–2017. *Clin Infect Dis.* 2021;72(12):2112–2120. doi: 10.1093/cid/ciaa381. PMID: 32246147.
- Carvalhoes CG, Shortridge D, Sader HS, Castanheira M. Activity of Meropenem-Vaborbactam against Bacterial Isolates Causing Pneumonia in Patients in U. S. Hospitals during 2014 to 2018. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(3):e02177–19. doi: 10.1128/AAC.02177-19. PMID: 31907187; PMCID: PMC7038313.
- McCreary EK, Heil EL, Tamma PD. New Perspectives on Antimicrobial Agents: Cefiderocol. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(8):e0217120. doi: 10.1128/AAC.02171-20. Epub 2021 Jul 16. PMID: 34031052; PMCID: PMC8373209.

# Farmakologické vlastnosti kolistinu

J. RYCHLÍČKOVÁ<sup>1,2</sup>, V. KUBÍČKOVÁ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Farmakologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno;

<sup>2</sup>International Clinical Research Center, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně;

<sup>3</sup>Ústav farmakologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc

## SOUHRN

Rychlíčková J., Kubíčková V.: **Farmakologické vlastnosti kolistinu**

Kolistin je úzkospektré antibiotikum ze skupiny lipopeptidových antibiotik, indikované pro terapii nozokomiálních infekcí, způsobených multirezistentními gram-negativními patogeny, především u kriticky nemocných pacientů a pacientů s cystickou fibrózou. Kolistin řadíme mezi expozičně závislá antibiotika s variabilní farmakokinetikou, související jednak s heterogenitou cílové populace, jednak s nutností bioaktive. Kolistin je podáván ve formě inaktivního proléčiva kolistinmetátu sodného. Nejčastějšími nežádoucími účinky jsou nefrotoxicita a neurotoxicita.

**Klíčová slova:** kolistin, farmakodynamika, farmakokinetika, nefrotoxicita, nežádoucí účinky, TDM

## SUMMARY

Rychlíčková J., Kubíčková V.: **Pharmacological properties of colistin**

Colistin is a narrow-spectrum lipopeptide antimicrobial agent used to treat nosocomial infections caused by multidrug-resistant bacteria, especially in critically ill patients and those with cystic fibrosis. Colistin represents a concentration-time-dependent antibiotic with highly variable pharmacokinetics related to the heterogeneity of the target population and the necessity of bioactivation. Colistin is administered as the inactive prodrug colistimethate sodium. Nephrotoxicity and neurotoxicity are the most frequent adverse effects.

**Keywords:** colistin, pharmacodynamics, pharmacokinetics, nephrotoxicity, adverse effects, TDM

*Klin mikrobiol inf lék 2022;28(2):59–64*

**Adresa:** Mgr. Vendula Kubíčková, Ústav farmakologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Křížkovského 511/8, Olomouc, e-mail: kubickova.vendula@gmail.com

Došlo do redakce: 21. 2. 2022

Schváleno k tisku: 25. 5. 2022

## Úvod

Kolistin (polymyxin E) je společně s polymyxinem B řazen mezi polypeptidová (někdy také lipopeptidová) antibiotika, která byla vyvíjena ve 40. letech 20. století jako izoláty z fermentačních produktů *Paenibacillus polymyxa*, půdní sporulující bakterie [1–3]. Kolistin schválila americká FDA v roce 1959 k použití v terapii gram-negativních infekcí; používal se i v terapii infekčních průjmů, infekcí močového traktu, k dekontaminaci střeva a k topické terapii infekcí oka a ucha [1,4]. Kolistinmetát sodný (CMS), proléčivo kolistinu, byl poprvé schválen FDA v roce 1970. Pro svou toxicitu při systémovém podání ale kolistin i další polymyxiny upadly později v nemilost a od 80. let byly s výjimkou pacientů s cystickou fibrózou prakticky úplně nahrazeny novějšími antibiotiky [4]. Aktuálně se kolistin s ohledem na vývoj rezistencí vůči karbapenémům, fluorochinolonům a aminoglykosidům opět dostává stále více do praktického použití.

Ruku v ruce jde i změna doporučeného dávkování, zvýšená vigilance k očekávaným nežádoucím účinkům a rozvoj postupů jejich prevence a terapie [5]. Kolistin je obvykle poslední volbou v terapii multirezistentních gram-negativních infekcí (především *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*) především tam, kde nejsou dostupná nová antibiotika (ceftazidim/avibaktam, meropenem/vaborbaktam, plazomicin), nebo nejsou hlavně z ekonomických důvodů preferovaná [1,5–7]. Kolistin je aktuálně v České republice dostupný jako kolistinmetát sodný a je indikovaný pro intravenózní či inhalační podání.

## Chemické vlastnosti kolistinu

Základ molekuly kolistinu tvoří deka-peptid, ze kterého sedm aminokyselinových zbytků vytváří cyklickou formaci a na tripeptidový konec je připojena mastná kyselina. Pět zbytků

ků kyseliny diaminomáselné představuje volné aminy, které dávají za fyziologického pH molekule kladný náboj. Peptidová složka molekuly vytváří hydrofilní část, zatímco připojená mastná kyselina je částí hydrofobní, molekula je tedy amfipatická [8–10].

Vzhledem ke skutečnosti, že je kolistin produkován fermentací, není překvapivé, že se jedná o směs více než třiceti složek, které nejsou v konstantním poměru. Proto není přesně stanovena jeho molekulová hmotnost a jeho množství se udává jak v obvyklých jednotkách SI (mol, gram), tak i v jednotkách mezinárodních (IU). Hlavními složkami tvořícími přibližně 85 % této směsi jsou kolistin A a kolistin B, jejichž molekulové hmotnosti jsou 1169,5 a 1155,4 [9–12].

CMS je chemický derivát, ve kterém jsou k pěti zbytkům kyseliny diaminomáselné ve struktuře kolistinu prostřednictvím kovalentních vazeb připojeny methansulfonátové části. Některé primární aminy však nemusejí být derivatizované, zatímco jiné mohou mít připojeny dvě methansulfonátové skupiny [13]. CMS je komplexní směsí methansulfonovaných derivátů kolistinu, hlavně CMS A a CMS B, a *in vivo* se hydrolyzuje na sérii částečně methansulfonovaných derivátů a kolistin [9].

### Mechanismus účinku, spektrum

Kolistin interaguje s lipopolysacharidem vnější membrány gram-negativních bakterií, která chrání bakteriální buňku a limituje průnik hydrofobních antibiotik a antibiotik s velkou molekulovou hmotností intracelulárně [1,14]. Kolistin se díky svému pozitivnímu náboji elektrostaticky váže na negativně nabitě fosfáty komponenty lipopolysacharidu, kompetitivně dislokují dvojmocné kalciové a hořečnaté ionty z vazby na fosfáty, a tím destabilizuje trojrozměrnou strukturu lipopolysacharidu a potažmo vnější membrány [1,14, 15]. Následně dochází k interakci membrány a hydrofobního řetězce mastné kyseliny, jako jedné z integrálních částí molekuly kolistinu, formují se struktury podobné pórům, čímž roste prostupnost vnější membrány oběma směry a molekula kolistinu (případně jiných antibiotik) dosahuje až úroveň vnitřní membrány [3,5,15]. Zde se opět projeví detergenční účinek kolistinu; změna integrity vnitřní membrány vede ke ztrátě její funkce, úniku intracelulárního obsahu a buněčné lýze. Alternativní membránový mechanismus účinku polymyxinů pracuje s teorií propojení a výměny fosfolipidů mezi vnější a vnitřní membránou s následně indukovanou osmotickou nerovnováhou a lýzou buňky [14]. Nicméně tradiční na membránu vázaný efekt kolistinu není jediným mechanismem jeho baktericidního účinku. Sekundárními efekty jsou tzv. anti-endotoxinový efekt, kdy kolistin vyvazuje a neutralizuje endotoxiny [3], nekompetitivní inhibice enzymů bakteriálního dýchacího řetězce lokalizovaných na vnitřní membráně [5,16], produkce hydroxylových radikálů cestou Fentonovy reakce a oxidativní poškození DNA, lipidů a proteinů [17]. Obecně je pro kolistin typický extrémně rychlý baktericidní efekt.

Selektivita kolistinu k lipidu A jako komponentě lipopolysacharidu má vztah k úzkému antimikrobiálnímu spektru tohoto antibiotika. Stejně tak mechanismy přirozené či získané rezistence vůči kolistinu zahrnují modifikaci lipopoly-

sacharidu, resp. lipidu A, modifikaci jeho náboje, nebo jeho produkce [15,18]. *In vitro* vykazuje kolistin účinnost vůči multirezistentním gram-negativním bakteriím, včetně *A. baumannii*, *P. aeruginosa* a většiny zástupců *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp. a *Klebsiella*). Tedy převážně významným nozokomiálním kmenům. Za hranici citlivosti je pak dle European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) považována MIC 4 mg/l pro *P. aeruginosa* a MIC 2 mg/l pro *A. baumannii* [19]. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) revidovala systém označení citlivosti u polymyxinů a pro izoláty s MIC 2 mg/l používá označení intermediálně citlivý [7]. EUCAST a CLSI se ale liší v definicích jednotlivých kategorií citlivosti.

Za připomenutí ve vztahu k určování MIC jistě stojí skutečnost, že kolistin interferuje s plasty, konkrétně především s polystyrenem, nicméně ani sklo, ani polypropylen nevykazovaly nulové hodnoty adsorpce v koncentracích používaných v mikrobiologickém testování [20]. Polysorbát-80 adsorpci na polystyren snižuje, EUCAST ale použití surfaktantů nedoporučuje [21]. Druhým faktem je, že k testování se používá antimikrobiálně účinný kolistin sulfát, zatímco v klinické praxi je podáván CMS a rozsah jeho bioaktivity je interindividuálně rozdílný. Bohužel ani kolistin sulfát není jednoznačně chemicky definovaný, jinými slovy jde o směs chemicky příbuzných látek s různým poměrem zastoupení a také různou aktivitou [7].

Přirozeně rezistentní patogeny jsou *Proteus* spp., *Burkholderia pseudomallei*, *Serratia* spp., *Morganella morganii*, *Providentia* spp. Dále jsou typicky rezistentní gram-pozitivní bakterie, anaeroby, eukaryota [1,3,18,22,23]. Kromě antibakteriálního efektu byla publikována i antimykotická aktivita kolistinu, nicméně potřebné hodnoty MIC v monoterapii jsou prakticky nedosažitelné při standardním terapeutickém intravenózním dávkování, vyšší systémové dávky navíc limituje toxicita [3,24,25].

### Farmakokinetika

CMS je inaktivní prodrug kolistinu; pro svou účinnost vyžaduje *in vivo* bioaktivaci, což spolu s velmi odlišnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi obou látek představuje příčinu velmi komplexní farmakokinetiky (podrobněji *obr. 1*). Po perorálním podání není kolistin ani CMS absorbován; pro dosažení systémových terapeutických koncentrací musí být CMS podáván intravenózně. Maximální plazmatické koncentrace dosahuje CMS pochopitelně velmi rychle, zatímco kolistin musí být nejprve formován postupným odštěpením všech pěti methansulfonátových skupin a čas dosažení maximální plazmatické koncentrace ( $T_{MAX}$ ) bude opožděný. Vliv má také rozsah bioaktivity, resp. rychlost eliminace CMS. CMS je vylučován renálně tubulární sekrecí a mezi renální funkcí a mírou bioaktivity CMS existuje inverzní vztah. Jinými slovy, u pacientů s renální insuficiencí je expozice *in vivo* formovanému kolistinu vyšší, zatímco u pacientů s normální renální funkcí je rizikem příliš rychlá exkrece proléčiva ještě před konverzí [26]. Z publikovaných dat u kriticky nemocných pacientů vyplývají hodnoty  $T_{MAX}$  kolistinu v rozmezí 1–8 hodin [27–32] a rozsah konverze CMS, tentokrát u zdravých dobrovolníků, je odhadován mezi 30 a 60 %

[33,34]. K interindividuální variabilitě přispívá také rozdílnost jednotlivých léčivých přípravků (nejen z hlediska výrobce, ale i šarže) [35–37]. Maximální plazmatické koncentrace ( $c_{MAX}$ ) kolistinu pozorované u kriticky nemocných byly v širokém rozmezí s ohledem na vyvíjející se dávkovací režimy v čase a zavádění nasycovací dávky, resp. clearance kreatininu (CrCl), nebo použití metod nahrazujících funkci ledvin (RRT, renal replacement therapy). Obecně se  $c_{MAX}$  kolistinu pohybovaly mezi 0,6–13 mg/l [27–32,38].

Kolistin se zhruba z 50 % váže na plazmatické bílkoviny, hlavně  $\alpha$ -1-kyselý glykoprotein, a roli opět sehrávají fyzikálně-chemické vlastnosti kolistinu (molekulová hmotnost, náboj a lipofilní řetězec) [36,39]; u kriticky nemocných byla pozorována vazba na proteiny vyšší (59–74 %) [30]. Distribuční objem je nízký a odpovídá přibližně objemu extracelulární tekutiny, u zdravých dobrovolníků 14 l, resp. 12,4 l pro CMS, resp. kolistin [33]. Eliminační cesty kolistinu nejsou zcela popsány. S ohledem na peptidovou povahu kolistinu připadá v úvahu proteolytická degradace. Renální clearance kolistinu je u zdravých dobrovolníků velmi nízká (1,9 ml/min.) díky významné tubulární reabsorpci [33]. To je důvodem pro podání vyšších dávek CMS u pacientů na kontinuální RRT než u pacientů s normální funkcí ledvin; dalším důvodem je adsorpce kolistinu na polysulfonovou membránu hemofiltru [40,41]. Biologický poločas je opět variabilní, u zdravých dobrovolníků přibližně 3–5 hodin [33,34], v populaci kriticky nemocných bez RRT se pohybuje v rozmezí 3,1–18,5 hodin [27–31].

V případě inhalačního podání CMS kriticky nemocným se lokální koncentrace kolistinu pohybují ve velmi širokém rozmezí; obecně lze ale říci, že vyšší procento CMS je konvertováno na kolistin a dosažené lokální koncentrace jsou vyšší než plazmatické při intravenózní léčbě [42,43]. I přes omezenou propustnost CMS a kolistinu bariérami dochází k systémové absorpci obou léčiv, ev. konverzi absorbovaného CMS v systémovém řečišti, a systémová expozice kolistinu dosahuje měřitelného rozmezí, případně i pozorovatelné toxicity [42–44].

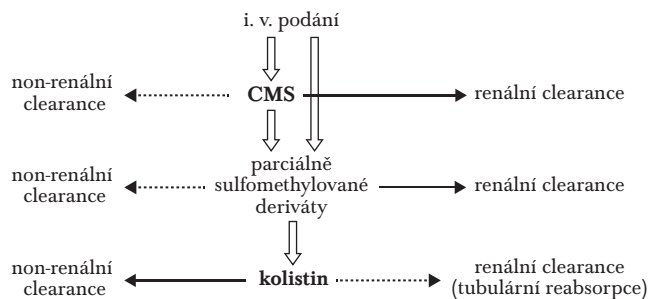
### PK/PD cíle, doporučené dávkování, inhalační podání

Z hlediska farmakokineticko-farmakodynamických (PK/PD) cílů spadá kolistin mezi expozičně závislá antibiotika; s účinností v *in vitro* a animálních modelech nejlépe koreluje plocha pod křivkou plazmatické koncentrace kolistinu, resp. jeho volné frakce, v poměru k MIC ( $fAUC/MIC$ ) [36]. V terapeutickém použití je cílová AUC v průběhu 24hodinového intervalu a v ustáleném stavu ( $AUC_{SS,24h}$ ) přibližně 50 mg × h/l, to odpovídá průměrné plazmatické koncentraci v ustáleném stavu ( $c_{SS,AVG}$ ) 2 mg/l [36]. Obojí se týká monoterapie a celkové plazmatické koncentrace kolistinu, nikoli jeho volné frakce. Vazba na bílkoviny, ale i nepřesnosti při určování MIC a rozdílnost *in vitro* a *in vivo* účinnosti jsou v těchto hodnotách reflektovány.

Doporučené dávkování u kriticky nemocných zahrnuje nasycovací dávku 9 milionů jednotek (MIU) CMS podanou během 30–60 minut a následovanou první udržovací dávkou v 12hodinovém odstupu. Denní udržovací dávka by se u pacientů s normální renální funkcí (CrCl > 70 ml/min.) měla pohybovat mezi 9 a 10,9 MIU, rozdělená do dvou jednotli-

Obrázek 1

Přehled bioaktivace a hlavních cest exkrece CMS a colistinu. Zpracováno dle Cai et al. [3]. Charakter šipek reflektuje rozsah clearance danou cestou při normálních renálních funkcích. CMS – Kolistinmetát sodný



vých dávek; dávka má být upravena při poklesu kreatininové clearance [36,41,45]. Nasycovací dávka reflektuje především prodloužený  $T_{MAX}$  u kriticky nemocných a variabilní rozsah konverze CMS na kolistin; jejím cílem je rychlejší dosažení terapeuticky účinných koncentrací. Vztah nasycovací dávky a rizika rozvoje akutního renálního selhání jako projevu nefrotoxického efektu není jednoznačný, stejně jako výše nasycovací dávky u specifických populací (obézní, pacienti s renální insuficiencí či augmentovou renální clearance, při použití RRT) [46].

K inhalačnímu podání kolistinu jako adjuvantní terapii k intravenózní léčbě u pacientů s ventilátorovou pneumonií způsobenou multirezistentními patogeny se doporučené postupy staví nejednotně [36,47,48], ale ani v případě doporučujícího přístupu není dávkování specifikováno. Standardní dávka je 1–2 MIU po 8–12 hodinách, nicméně bylo publikováno i podání 5 MIU po 8 hodinách [44,45].

V praxi mohou být matoucí rozdílné jednotky, v nichž je množství CMS a kolistinu uváděno; v Evropě je platná jednotka MIU. Dávka 1 MIU CMS odpovídá 80 mg CMS a přibližně 34 mg kolistinu (neboli aktivity báze kolistinu, CBA).

Kolistin je aktuálně v ČR obchodován pouze jako CMS ve formě prášku pro přípravu injekčního/infuzního roztoku, či pro inhalaci. Prášek má být pro intravenózní podání rekonstituován fyziologickým roztokem. Výrobce konkrétní inkompatibility nespecifikuje; v literatuře byla publikována fyzikální inkompatibilita s isavukonazolem a eravacyklinem [49,50].

### Nežádoucí účinky

Nefrotoxicita a neurotoxicita jsou očekávanými nežádoucími účinky kolistinu. V jednotlivých studiích zahrnujících kriticky nemocné se incidence akutního renálního selhání pohybovala mezi 21–76 %, resp. 20–50 % [36,46]. Z výsledků recentní metaanalýzy zahrnující pouze randomizované studie, ve kterých byl kolistin podáván ve výše popsaném režimu (ve většině včetně nasycovací dávky), vyplývá incidence

kolistinem indukované nefrotoxicity u kriticky nemocných 36 %, relativní riziko je oproti komparátoru v podobě  $\beta$ -laktamů vyšší o 140 % [51]. Mechanismus nefrotoxického působení souvisí s tubulární reabsorpcí kolistinu, jeho akumulací v tubulárních buňkách a následnou apoptózou/akutní tubulární nekrozou; neméně významná je i indukovaná změna membránové permeability [3,46]. Protože roli sehrává i oxidační stres, byly testovány různé preventivní strategie, spočívající v podání antioxidantů (N-acetylcystein, vitamin C); benefit ale nebyl prokázán a doporučené postupy se k preventivnímu podání antioxidantů staví odmítavě [3,36]. Kolistinem indukovaná nefrotoxicita se objevuje časně po zahájení léčby a má obvykle reverzibilní charakter po jejím ukončení. Typickým projevem je pokles clearance kreatininu a vzestup plazmatické koncentrace urey, někdy doprovázený oligurií, hematurií, proteinurií [52]. Rizikovými faktory pro rozvoj toxicity je vyšší věk, preexistující poškození funkce ledvin, hypoalbuminémie, celková tíže stavu a současná léčba dalšími nefrotoxickými léčivy (vankomycin, aminoglykosidy, furosemid, kalcineurinové inhibitory, vazopresory) a samozřejmě charakter léčby kolistinem (celková délka, denní dávka) [36]. Sorlí a kol. uvádějí údolní koncentraci ( $C_{MIN}$ ) kolistinu jako silný prediktor nefrotoxicity. Jako rizikové uvádějí údolní koncentrace 3,33 mg/l sedmý den terapie, resp. 2,42 mg/l na konci léčby [53]. Shields a kol. zase zmiňují vztah rozvoje akutního renálního selhání a dávek kolistinu vyšších než 5 mg/kg sedmý den léčby [46].

Četnost výskytu neurotoxicity je významně nižší než v případě nefrotoxicity. Spočívá v inhibici uvolňování acetylcholinu a blokadě jeho receptorů. Opět je zde dávková závislost a tento nežádoucí účinek odeznívá při vysazení léčiva [52].

Ve vztahu k inhalačnímu podání stojí za zmínku indukovaná bronchokonstrikce, jež může souviset s tonicitou nosného roztoku, ale i se samotným kolistinem, který svými detergentními vlastnostmi přispívá k destabilizaci mastocytů [43].

### Analytické metody pro TDM

Pro kvantifikaci kolistinu bylo popsáno mnoho metod, avšak ne všechny jsou vhodné pro rutinní TDM. Analytická metoda musí být přesná, správná, reprodukovatelná a musí splňovat validační parametry pro laboratorní analytické metody ve zdravotnictví.

Mikrobiologické metody jsou jednoduché a levné, avšak zdoluhavé a málo přesné. Nejsou také vhodné pro stanovení kolistinu z biologického vzorku obsahujícího také CMS. Ten bude během dlouhé inkubace hydrolyzován na kolistin, čímž budou získány falešně příliš vysoké koncentrace [8]. Na problémy spjaté s citlivostí a selektivitou narazíme také u metod imunologických, metod využívajících tenkovrstvou chromatografii či kapilární elektroforézu [54].

Jako vhodnější se poté jeví využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s různými způsoby detekce. Jelikož kolistin vykazuje špatnou absorpci ultrafialového záření a nevykazuje žádnou nativní fluorescenci, je nezbytné, aby byl použit postup derivatizace s UV absorbujícími nebo fluorescenčními činidly. Ačkoliv je použití fluorescenční detekce po derivatizaci citlivou metodou, níže uvedené nevýhody z ní činí spíše metodu alternativní. Problémem je omezená opakovatelnost při stanovování nižších

hladin kolistinu, časová náročnost a složitost předúpravy vzorku. Doba analýzy pak může být i desítky minut [54,55].

Spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (LC/MS) poskytuje vysokou selektivitu, citlivost, nevyžaduje předchozí derivatizaci a analýzy probíhají v řádu jednotek minut. Dagla a kol. (2019) a Zabidi a kol. (2020) ve svých přehledových článcích popisují nejčastěji zvolené analytické podmínky pro měření kolistinu [54,56]. Většina metod byla provedena na analytických kolonách C18, jako mobilní fáze byla použita voda s acetonitrilem nebo methanolem s přidavkem kyseliny mravenčí. Okyselení mobilní fáze je vhodné pro tvorbu dvojitě či trojitě nabitých iontů. Jako interní standardy byly využity polymyxin B nebo B1. Nejběžněji uváděným MS detektorem pro stanovení kolistinu je trojitý kvadrupól. Elektrosprejová ionizace (ESI) poté generuje více nabitých iontů, které jsou produkovány protonací nebo deprotonací volných aminových skupin kolistinu. Výběr iontu, který bude vybrán jako prekurzor, závisí na stabilitě, intenzitě a poměru signálu k šumu odpovídajících iontů. Kvůli lepší odezvě spektrometru je kolistin častěji měřen v ESI pozitivním módu s  $m/z$   $[M + H]^+$ ,  $[M + 2H]^{2+}$  a  $[M + 3H]^{3+}$ , při  $m/z$  1170, 586, 391 pro kolistin A a 1156, 579, 386 pro kolistin B. Nejčastěji zmiňovaný produktový iont odpovídá hodnotám v rozmezí  $m/z$  100,9–101,4 [54,56].

Pro zpracování biologických vzorků (nejčastěji plazmy či séra) byly navrženy různé postupy: precipitace plazmatických proteinů organickými rozpouštědly s nebo bez přidavku kyseliny, precipitace proteinu s následnou extrakcí na pevnou fázi (SPE) nebo SPE s následným zakoncentrováním vzorku odpařením do sucha a rekonstitucí. Ačkoliv je precipitace proteinů levnou a rychlou metodou úpravy vzorku, představuje také riziko nedostatečného přečištění vzorku a zvýšení rizika výskytu matricových efektů. Úprava vzorku pomocí SPE poskytuje čistý extrakt a je volbou pro minimalizaci matricových efektů. Nevýhodou však může být pracnější a dražší postup přípravy vzorku [8,9,55].

### Závěr

Kolistin se navzdory svému stáří a potenciální toxicitě opět dostává do terapeutického použití, především v léčbě infekcí způsobených multirezistentními patogeny u kriticky nemocných pacientů. Farmakologický profil této molekuly je spojen s řadou nejasností a vyžaduje další zpřesnění. Jedním z důvodů je značné upozadění používání kolistinu v klinické praxi koncem minulého století. Řada poznatků o kolistinu pochází z 60. a 70. let, kdy byl poměrně rozsáhle používán, zatímco od 80. let byl nahrazen novějšími antibiotiky [4]. Právě od této doby se začal prosazovat koncept evidence-based medicine, rozmach zažívají analytické metody LC-MS a mnohem častěji jsou designovány randomizované studie.

Bezesporu lze říci, že kolistin má unikátní farmakologický profil, k čemuž nepochybně přispívá fakt, že je podáván ve formě inaktivního proléčiva a rozsah bioaktivace je značně inter- a intraindividuálně heterogenní. Současně jde o léčivo s úzkým terapeutickým oknem. Terapeutické monitorování tak může představovat efektivní strategii jištění bezpečnosti a účinnosti této léčby a mělo by se stát rutinou podobně jako u dalších antibiotik s úzkým terapeutickým oknem.

## Literatura

- Bialvaei AZ, Samadi Kafil H. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin.* 2015;31(4):707–721.
- Roberts KD, Azad MA, Wang J, et al. Antimicrobial Activity and Toxicity of the Major Lipopeptide Components of Polymyxin B and Colistin: Last-line Antibiotics against Multidrug-Resistant Gram-negative Bacteria. *ACS Infect Dis.* 2015;1(11):568–575.
- Cai Y, Lee W, Kwa AL. Polymyxin B versus colistin: an update. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2015;13(12):1481–1497.
- Falagas ME, Michalopoulos A. Polymyxins: old antibiotics are back. *Lancet.* 2006;367(9511):633–634.
- Trimble MJ, Mlynářčik P, Kolář M, Hancock RE. Polymyxin: Alternative Mechanisms of Action and Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016;6(10):a025288.
- Clancy CJ, Potoski BA, Buehrle D, Nguyen MH. Estimating the Treatment of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections in the United States Using Antibiotic Prescription Data. *Open Forum Infect Dis.* 2019;6(8):ofz344.
- Satlin MJ, Lewis JS, Weinstein MP, et al. Clinical and Laboratory Standards Institute and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Position Statements on Polymyxin B and Colistin Clinical Breakpoints. *Clin Infect Dis.* 2020;71(9):e523–e529.
- Jansson B, Karvanen M, Cars O, Plachouras D, Friberg LE. Quantitative analysis of colistin A and colistin B in plasma and culture medium using a simple precipitation step followed by LC/MS/MS. *J Pharmaceut Biomed.* 2009;49(3):760–767.
- Gobin P, Lemaître F, Marchand S, Couet W, Olivier JC. Assay of colistin and colistin methanesulfonate in plasma and urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(5):1941–1948.
- Beneš J. Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití. Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 978-80-271-0636-3.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for Colistin A, CID 202195, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Colistin-A> (accessed Feb. 14, 2022).
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for Colistin B, CID 25138298, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Colistin-b> (accessed Feb. 14, 2022).
- Grayson ML, Cosgrove S, Crowe SM, et al. Kucers' the use of antibiotics: A clinical review of antibacterial, antifungal, antiparasitic, and antiviral drugs, seventh edition. Boca Raton: CRC Press, 2018. ISBN 9781498747950.
- Velkov T, Thompson PE, Nation RL, Li J. Structure-activity relationships of polymyxin antibiotics. *J Med Chem.* 2010;53(5):1898–1916.
- Andrade FF, Silva D, Rodrigues A, Pina-Vaz C. Colistin Update on Its Mechanism of Action and Resistance, Present and Future Challenges. *Microorganisms.* 2020;8(11):1716.
- Deris ZZ, Akter J, Sivanesan S, et al. A secondary mode of action of polymyxins against Gram-negative bacteria involves the inhibition of NADH-quinone oxidoreductase activity. *J Antibiot (Tokyo).* 2014; 67(2):147–151.
- Sampson TR, Liu X, Schroeder MR, Kraft CS, Burd EM, Weiss DS. Rapid killing of *Acinetobacter baumannii* by polymyxins is mediated by a hydroxyl radical death pathway. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(11):5642–5649.
- Landman D, Georgescu C, Martin DA, Quale J. Polymyxins revisited. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21(3):449–465.
- European committee on antimicrobial susceptibility testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0. 2022. Dostupné z: [www.eucast.org](http://www.eucast.org).
- Karvanen M, Malmberg C, Lagerbäck P, Friberg LE, Cars O. Colistin Is Extensively Lost during Standard *In Vitro* Experimental Conditions. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(11):e00857–17.
- Matuschek E, Ahman J, Webster C, Kahlmeter G. Antimicrobial susceptibility testing of colistin – evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter* spp. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24:865–870.
- Lim LM, Ly N, Anderson D, et al. Resurgence of colistin: a review of resistance, toxicity, pharmacodynamics, and dosing. *Pharmacotherapy.* 2010;30(12):1279–1291.
- Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. *Clin Microbiol Rev.* 2017;30(2):557–596.
- Zeidler U, Bounoux ME, Lupan A, et al. Synergy of the antibiotic colistin with echinocandin antifungals in *Candida* species. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(6):1285–1296.
- Yousfi H, Ranque S, Rolain JM, Bittar F. *In vitro* polymyxin activity against clinical multidrug-resistant fungi. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2019;8:66.
- Kristoffersson AN, Rognas V, Brill MJE, et al. Population pharmacokinetics of colistin and the relation to survival in critically ill patients infected with colistin susceptible and carbapenem-resistant bacteria. *Clinical Microbiology and Infection.* 2020;26:1644–1650.
- Markou N, Markantonis SL, Dimitrakis E, et al. Colistin serum concentrations after intravenous administration in critically ill patients with serious multidrug-resistant, gram-negative bacilli infections: a prospective, open-label, uncontrolled study. *Clin Ther.* 2008;30(1): 143–151.
- Grégoire N, Mimoz O, Mégarbane B, et al. New colistin population pharmacokinetic data in critically ill patients suggesting an alternative loading dose rationale. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(12): 7324–7330.
- Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(8): 3430–3436.
- Mohamed AF, Karaiskos I, Plachouras D, et al. Application of a loading dose of colistin methanesulfonate in critically ill patients: population pharmacokinetics, protein binding, and prediction of bacterial kill. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(8):4241–4249.
- Karaiskos I, Friberg LE, Pontikis K, et al. Colistin Population Pharmacokinetics after Application of a Loading Dose of 9 MU Colistin Methanesulfonate in Critically Ill Patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(12):7240–7248.
- Moni M, Sudhir AS, Dipu TS, et al. Clinical efficacy and pharmacokinetics of colistimethate sodium and colistin in critically ill patients in an Indian hospital with high endemic rates of multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections: A prospective observational study. *Int J Infect Dis.* 2020;100:497–506.
- Couet W, Grégoire N, Gobin P, et al. Pharmacokinetics of colistin and colistimethate sodium after a single 80-mg intravenous dose of CMS in young healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;89(6):875–879.
- Mizuyachi K, Hara K, Wakamatsu A, Nohda S, Hiramata T. Safety and pharmacokinetic evaluation of intravenous colistin methanesulfonate sodium in Japanese healthy male subjects [published correction appears in *Curr Med Res Opin.* 2015 Mar;31(3):593–4]. *Curr Med Res Opin.* 2011;27(12):2261–2270.
- He H, Li JC, Nation RL, et al. Pharmacokinetics of four different brands of colistimethate and formed colistin in rats. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(10):2311–2317.
- Tsuji BT, Pogue JM, Zavascki AP, et al. International Consensus Guidelines for the Optimal Use of the Polymyxins: Endorsed by the American College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDSA), International Society for Anti-infective Pharmacology (ISAP), Society of Critical Care Medicine (SCCM), and Society of Infectious Diseases Pharmacists (SIDP). *Pharmacotherapy.* 2019;39(1):10–39.
- Feng JY, Lee YT, Pan SW, et al. Comparison of colistin-induced nephrotoxicity between two different formulations of colistin in critically ill patients: a retrospective cohort study. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2021;10:111. doi.org/10.1186/s13756-021-00977-w
- Menna P, Salvatorelli E, Mattei A, Cappiello D, Minotti G, Carasiti M. Modified Colistin Regimen for Critically Ill Patients with Acute Renal Impairment and Continuous Renal Replacement Therapy. *Chemotherapy.* 2018;63(1):35–38.
- Azad MA, Huang JX, Cooper MA, et al. Structure-activity relationships for the binding of polymyxins with human  $\alpha$ -1-acid glycoprotein. *Biochem Pharmacol.* 2012;84(3):278–291.
- Markou N, Fousteri M, Markantonis SL, et al. Colistin pharmacokinetics in intensive care unit patients on continuous venovenous haemo-

- diafiltration: an observational study. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67(10):2459–2462.
41. Nation RL, Garonzik SM, Thamlikitkul V, et al. Dosing guidance for intravenous colistin in critically-ill patients. *Clin Infect Dis.* 2017; 64(5):565–571.
  42. Athanassa ZE, Markantonis SL, Fousteri MZ, et al. Pharmacokinetics of inhaled colistimethate sodium (CMS) in mechanically ventilated critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2012;38(11):1779–1786.
  43. Boisson M, Jacobs M, Grégoire N, et al. Comparison of intrapulmonary and systemic pharmacokinetics of colistin methanesulfonate (CMS) and colistin after aerosol delivery and intravenous administration of CMS in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58(12):7331–7339.
  44. Lu Q, Luo R, Bodin L, et al. Efficacy of high-dose nebulized colistin in ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Anesthesiology.* 2012;117(6):1335–1347.
  45. Colomycin. Souhrn údajů o přípravku. Státní ústav pro kontrolu léčiv [online]. [cit. 2022-01-19]. Dostupné z: <https://www.sukl.cz>.
  46. Shields RK, Anand R, Clarke LG, et al. Defining the incidence and risk factors of colistin-induced acute kidney injury by KDIGO criteria. *PLoS One.* 2017;12(3):e0173286.
  47. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, et al. Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society [published correction appears in *Clin Infect Dis.* 2017;64(9):1298] [published correction appears in *Clin Infect Dis.* 2017;65(8):1435] [published correction appears in *Clin Infect Dis.* 2017;65(12):2161]. *Clin Infect Dis.* 2016; 63(5):e61–e111.
  48. Rello J, Solé-Lleonart C, Rouby JJ, et al. Use of nebulized antimicrobials for the treatment of respiratory infections in invasively mechanically ventilated adults: a position paper from the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23(9):629–639.
  49. So W, Kim L, Thabit AK, Nicolau DP, Kuti JL. Physical compatibility of isavuconazonium sulfate with select i. v. drugs during simulated Y-site administration. *Am J Health Syst Pharm.* 2017;74(1):e55–e63.
  50. Avery LM, Chen IH, Reyes S, Nicolau DP, Kuti JL. Assessment of the Physical Compatibility of Eravacycline and Common Parenteral Drugs During Simulated Y-site Administration. *Clin Ther.* 2019;41(10): 2162–2170.
  51. Eljaaly K, Bidell MR, Gandhi RG, et al. Colistin Nephrotoxicity: Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Open Forum Infect Dis.* 2021;8(2):ofab026.
  52. Falagas ME, Kasiakou SK. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Crit Care.* 2006; 10(1):R27.
  53. Sorlí L, Luque S, Grau S, et al. Trough colistin plasma level is an independent risk factor for nephrotoxicity: a prospective observational cohort study. *BMC Infect Dis.* 2013;13:380.
  54. Dagla I, Karkoula E, Baira E, Tsaropoulos A, Gikas E. Analytical methodologies used for the determination of colistin in biological fluids. Is it still a challenge? *J Pharmaceut Biomed.* 2019;164:777–788.
  55. Mercier T, Tissot F, Gardiol C, et al. High-throughput hydrophilic interaction chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the optimized quantification of the anti-Gram-negatives antibiotic colistin A/B and its pro-drug colistimethate. *J Chromatogr A.* 2014;1369: 52–63.
  56. Zabidi MS, Abu Bakar R, Musa N, Wan Yusuf WN. Analytical methodologies for measuring colistin levels in pharmacokinetic studies. *J Liq Chromatogr Relat.* 2020;43:671–686.

## OZNÁMENÍ

Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP (SLM) oznamuje, že ve dnech 17.–23. října 2022 se budou konat elektronické volby do výboru a revizní komise SLM.

Zvací e-maily k volbám budou rozeslány týden před volbami.

O případnou aktivaci účtu na webových stránkách SLM je možné požádat paní Romanu Laušerovou, [romana.lauserova@lfmotol.cuni.cz](mailto:romana.lauserova@lfmotol.cuni.cz), tel. 224 435 390.

Informace o volbách jsou rovněž zveřejněny na webových stránkách SLM. Dovolují si požádat o laskavou účast ve volbách do výboru a revizní komise SLM, která hájí zájmy klinické mikrobiologie a předem děkují.

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.  
Šéfredaktor