



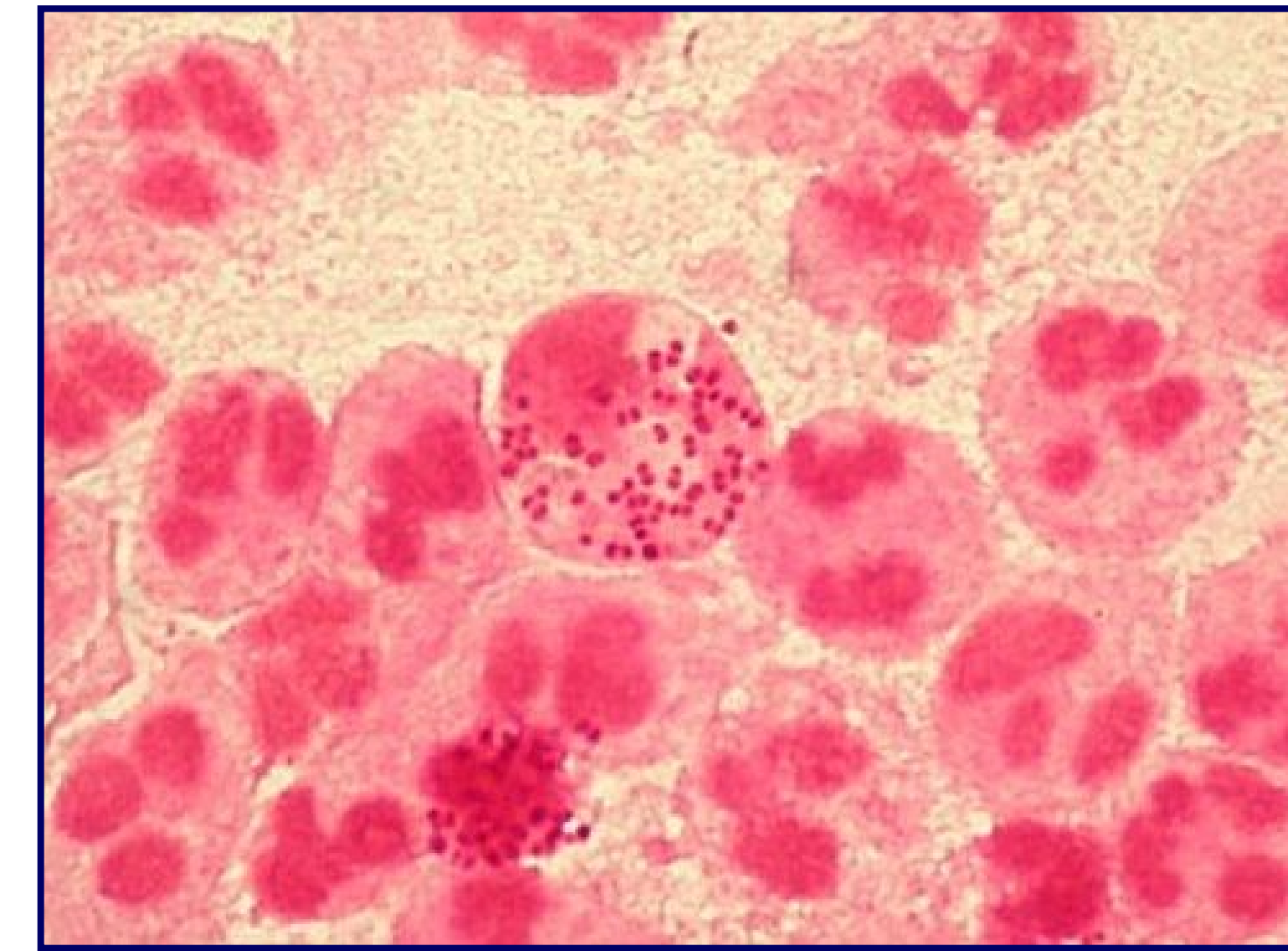
Stanovení minimální inhibiční koncentrace penicilinu, tetracyklinu, ciprofloxacinu, azitromycinu a ceftriaxonu E-testem u 110 kmenů *Neisseria gonorrhoeae* izolovaných na Ostravsku v letech 2006 – 2010

Vladislav Holec a Eva Chmelařová

Oddělení bakteriologie a mykologie CKL

Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

vladislav.holec@zu.cz



Úvod

Sledujeme-li kmeny *Neisseria gonorrhoeae* izolované v 90. letech na Ostravsku, pozorujeme snížení frekvence izolací a v souladu s publikovanými údaji zároveň nárůst plazmidově řízené rezistence k penicilinu (1) – viz tab.1., fenotypově *N. gonorrhoeae* produkující β -laktamázu (PPNG). Tato vlastnost spolu s plazmidově řízenou rezistencí k tetracyklinu (2) postupně vedla ke změně terapie směrem k fluorochinolonům, azalidům a cefalosporinům 3. generace. Paralelně došlo k mohutnému rozvoji molekulárně-genetických metod průkazu gonokoků přímo ve vzorku často bohužel bez kultivace a stanovení citlivosti. V 90. letech se ve světě objevují první kmeny rezistentní k chinolonům (QRNG) (3,4), po roce 2000 se objevují kmeny vysoce rezistentní k azitromycinu (AZM-HR) (5) a kmeny se sníženou citlivostí k cefiximu a ceftriaxonu (Cefⁱ) (4,6). V rutinní diagnostické praxi je dnes nezbytné stanovovat u izolátů *N. gonorrhoeae* MIC antibiotik, s výhodou je možno použít metodu E-testu (7,8,9,10).

Metodika

V laboratoři bakteriologie Ostrava bylo v období 2006 - březen 2010 izolováno 110 kmenů *Neisseria gonorrhoeae* za použití tohoto postupu: transportní souprava Amiesovo médium (DispoLab), kultivace 72 hodin při 35°C a 5% CO₂ v CO₂ inkubátoru na neselektivní půdě GC agar báze (Hi Media) s beraní krví + obohacovadlem A (Dulab) a na selektivní půdě - GC agar báze (Hi Media) s beraní krví + obohacovadlem A, B-2 a AMFO (Dulab) + 1% glukóza (viz obr.1). U izolátů provedeny tyto testy: barvení dle Grama, cytochromoxidázový test (PLIVA – Lachema), API NH (BMX), stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) k antibiotikům E-testy (AB Biodisk) na neselektivní půdě GC agar báze s beraní krví + obohacovadlem A (kultivace 48 hodin při 35°C a 5% CO₂ v CO₂ inkubátoru) a průkaz β -laktamázy (Cefinase BD). U každého kmene byla stanovena MIC (mg/l) penicilinu (Benzylpenicilin Low, rozpětí stripu 0,002-32, citlivost C \leq 0,064), tetracyklinu (0,016-256, C \leq 0,250), ciprofloxacinu (0,002-32, C \leq 0,064), azitromycinu (0,016-256, C \leq 2,000) a ceftriaxonu (Ceftriaxon Low, 0,002-32, C \leq 0,250). Jako kontrola kvality byl použit kmen *N. gonorrhoeae* CNCTC 5194.

Výsledky:

Výsledky stanovení rozmezí MIC, koncentrace inhibující 50% kmenů souboru MIC₅₀ a koncentrace inhibující 90% kmenů souboru MIC₉₀ obsahuje tabulka č.1.

V souboru 110 kmenů se vyskytovaly tyto fenotypy rezistence:

N. gonorrhoeae s chromozomálně řízenou rezistencí k penicilinu CMRNG (1,8%), *N. gonorrhoeae* produkující penicilinázu PPNG (1,8%), *N. gonorrhoeae* rezistentní k tetracyklinu TRNG (11,8%), *N. gonorrhoeae* rezistentní k azitromycinu ARNG (1,8%) *N. gonorrhoeae* rezistentní k chinolonům QRNG (49,1%) a *N. gonorrhoeae* se sníženou citlivostí k ceftriaxonu Cefⁱ (4,5%). Kritéria pro stanovení fenotypu a rozmezí MIC u těchto kmenů viz tabulka č.2.

Závěr:

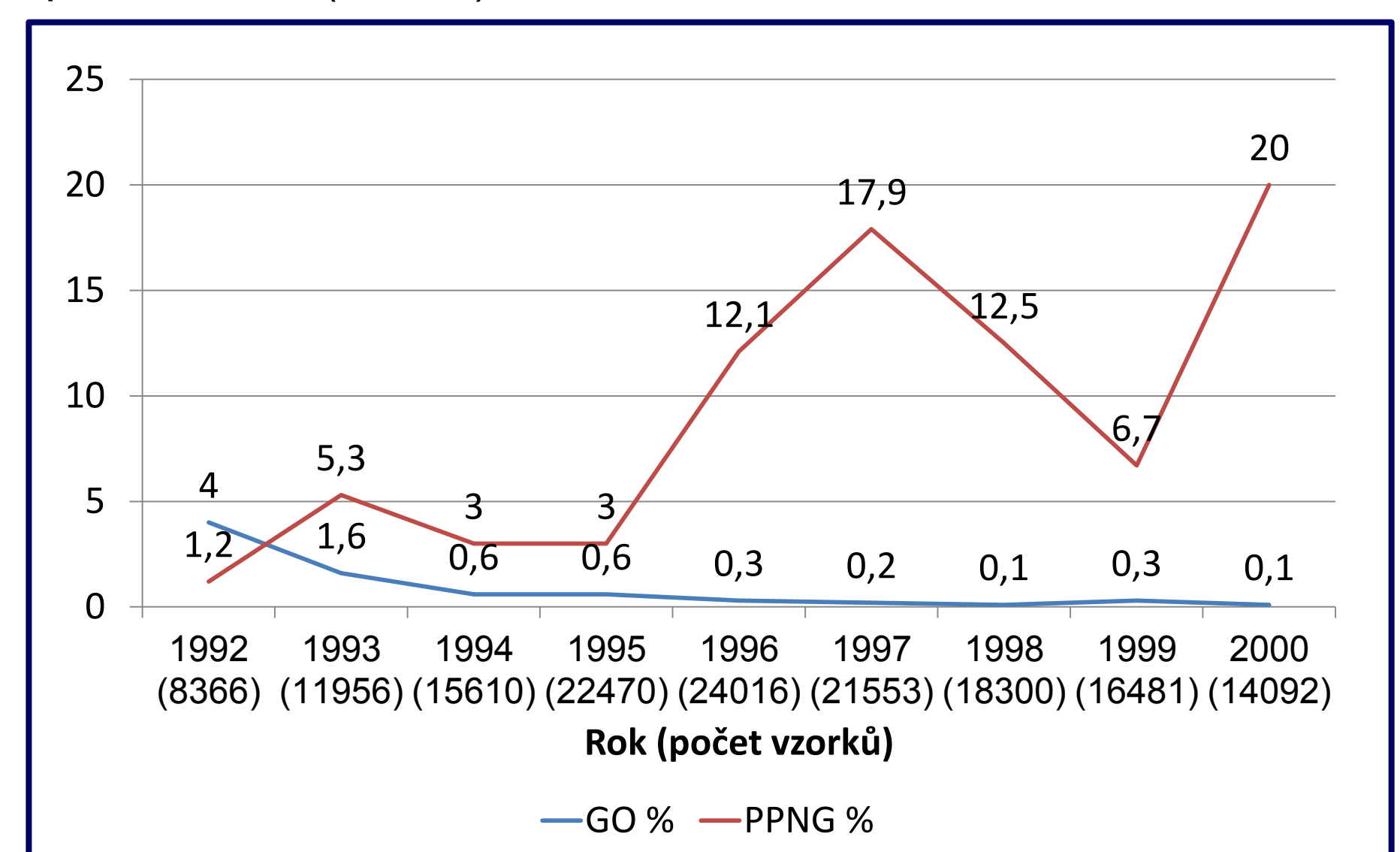
V posledních 4 letech se na Ostravsku vyskytují PPNG již v pouhých 2%, každý druhý kmen (49%) je rezistentní k chinolonům, objevují se první kmeny rezistentní k azitromycinu (MIC 4-8 mg/l). Všechny izolované kmeny *N. gonorrhoeae* jsou citlivé k ceftriaxonu, 4% ale vykazují sníženou citlivost (MIC 0,064 – 0,19 mg/l).

Tabulka č. 2:

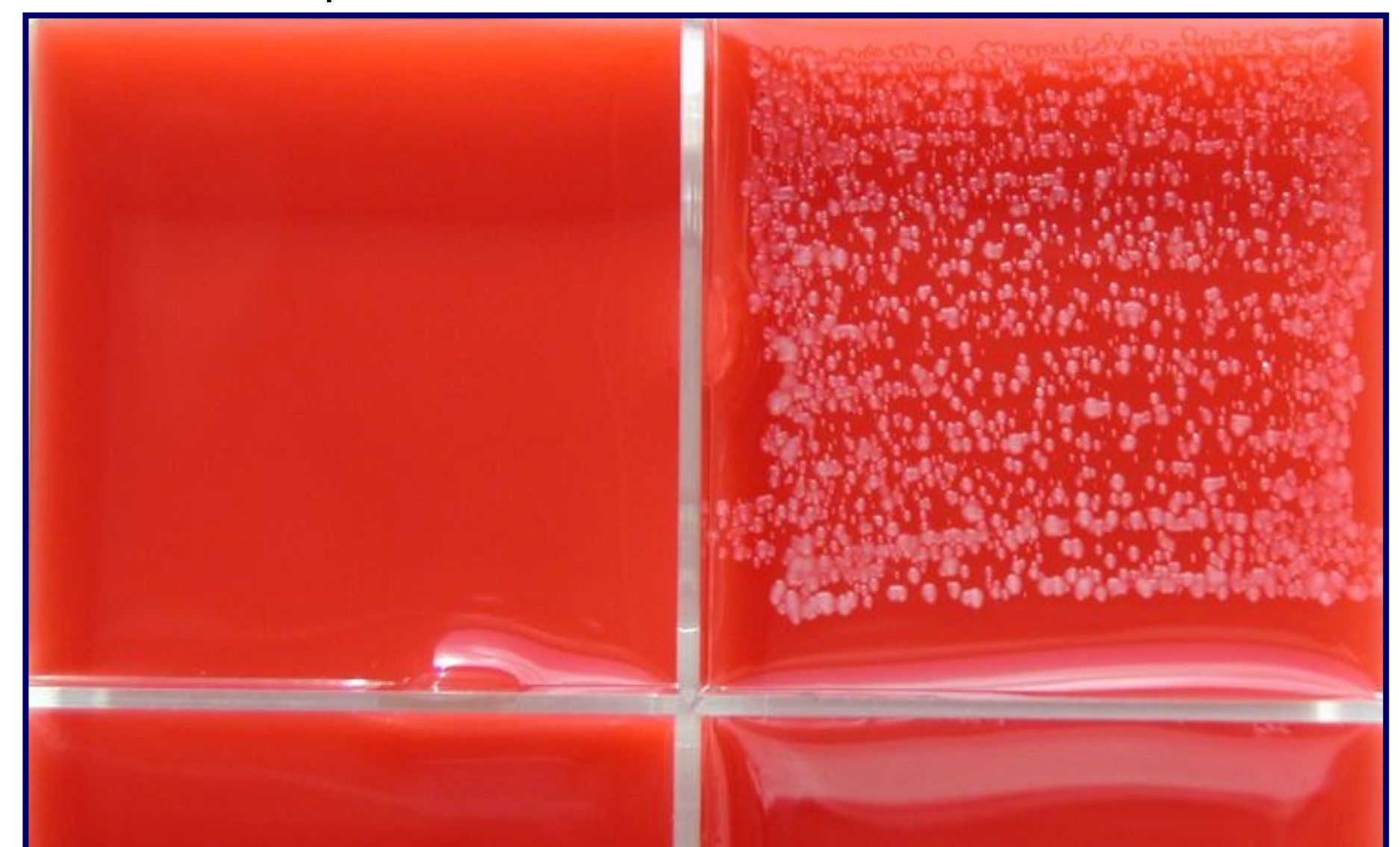
Výskyt a vlastnosti fenotypů rezistence (event. snížené citlivosti) *N. gonorrhoeae*: rozmezí MIC v mg/l a produkce β -laktamázy. CMRNG - *N. gonorrhoeae* s chromozomálně řízenou rezistencí k penicilinu (MIC \geq 2 mg/l, β -laktamáza negativní) (1), PPNG - *N. gonorrhoeae* produkující β -laktamázu, TRNG - *N. gonorrhoeae* rezistentní k tetracyklinu, QRNG - *N. gonorrhoeae* rezistentní k chinolonům, ARNG - *N. gonorrhoeae* rezistentní k azitromycinu, Cefⁱ - *N. gonorrhoeae* se sníženou citlivostí k ceftriaxonu (MIC 0,064 - 0,125 mg/l) (6).

| fenotyp rezistence | penicilin | tetracyklin | ciprofloxacin | azitromycin | ceftriaxon | β + počet (%) | počet (%) |
|--------------------|-------------|-------------|---------------|---------------|---------------|---------------------|-----------|
| CMRNG | 2 | 1 - 1,5 | >32 | 0,25 - 0,5 | 0,023 - 0,047 | 0 | 2 (1,8) |
| PPNG | 24 - >32 | 8 | 2 - 3 | 0,047 - 0,064 | 0,006 - 0,012 | 2 (1,8) | 2 (1,8) |
| TRNG | 0,023 - >32 | 3 - 32 | <0,002 - 3 | 0,023 - 0,19 | 0,002 - 0,064 | 2 (1,8) | 13 (11,8) |
| ARNG | 0,75 - 1 | 0,75 - 1 | >32 | 4 - 8 | 0,016 - 0,047 | 0 | 2 (1,8) |
| QRNG | 0,064 - >32 | 0,19 - 8 | 0,094 - >32 | 0,047 - 8 | 0,002 - 0,19 | 2 (1,8) | 54 (49,1) |
| Cef ⁱ | 1 | 0,75 - 1 | 12 - >32 | 0,25 - 0,5 | 0,064 - 0,19 | 0 | 5 (4,5) |

Graf č.1: Kultivační průkaz *N. gonorrhoeae* na Ostravsku v letech 1992-2000: počty vzorků, četnost záchytu gonokoků (GO) v %, z toho četnost záchytu gonokoků produkujících β -laktamázu (PPNG) v %.



Obr. č.1: 48 hod. pozitivní kultivace *N. gonorrhoeae* na selektivní půdě.



Tabulka č.1: Rozmezí MIC 110 kmenů *N. gonorrhoeae* v mg/l, MIC inhibující 50% a 90% kmenů.

| antibiotikum | rozmezí MIC | MIC ₅₀ | MIC ₉₀ |
|---------------|---------------|-------------------|-------------------|
| penicilin | 0,012 - >32 | 0,5 | 1 |
| tetracyklin | 0,032 - 32 | 1 | 8 |
| ciprofloxacin | <0,002 - >32 | >32 | >32 |
| azitromycin | 0,016 - 8 | 0,25 | 1 |
| ceftriaxon | <0,002 - 0,19 | 0,047 | 0,094 |

Literatura:

AAC – Antimicrobial Agents and Chemotherapy, JCM – Journal of Clinical Microbiology

- 1) Rice RJ a Knapp J, 1994, AAC 38:155-158
- 2) Koay AS a kol., 1996, JCM 34:1863-1862
- 3) Kai Man Kam a kol., 1996, JCM 34:1462-1464
- 4) Morris SR a kol., 2009, JCM 47:2944-2949
- 5) Chisholm SA a kol., 2010, AAC 54:3812-3816
- 6) Lindberg R a kol., 2007, AAC 51:2117-2122
- 7) Kwok-Him Yeung a kol., 1993, JCM 31:3053-3055
- 8) Van Dyck E a kol., 1994, JCM 32:1586-1588
- 9) Mehaffey PC a kol., 1996, JCM 34:479-481
- 10) Biedenbach D a Jones RN, 1996, JCM 34:3214-3217