

REZISTENCE KOMUNITNÍCH KMENŮ *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* K MAKROLIDOVÝM ANTIBIOTIKŮM

Luboslava Čekanová^{1,2}, Milan Kolář²

¹Laboratoře Mikrochem a. s. Olomouc

²Ústav mikrobiologie FN a LF UP v Olomouci

V měsících leden – prosinec roku 2006 bylo izolováno 612 kmenů *Streptococcus agalactiae* z vaginálních výtěrů, 156 z výtěrů horních cest dýchacích a 97 ze vzorků moči od pacientů z komunitního prostředí za účelem zjištění stavu rezistence *Streptococcus agalactiae* k vybraným antibiotikům. Identifikace izolovaných bakteriálních kmenů byla provedena standardními mikrobiologickými metodami. Citlivost k antibiotikům byla určována difúzní diskovou metodou, fenotyp rezistence k makrolidovým antibiotikům byl určen D-testem.

Průměrná hodnota rezistence k erytromycinu byla 25,8 %, ke klindamycinu 24,1 % a k tetracyklinu 82,9 %. Konstitutivní fenotyp rezistence (cMLS_B) dosáhl průměrné hodnoty 79,8 %, indukovaný fenotyp (iMLS_B) 13,6 % a eflux (M fenotyp) 6,6 %.

Získané údaje potvrzují problém rezistence k makrolidům a linkosamidům u druhu *Streptococcus agalactiae* v komunitním prostředí. MLS_B fenotyp rezistence byl prokázán u 93,4 % všech erytromycin-rezistentních kmenů, což v případě pacientů alergických na peniciliny a cefalosporiny představuje terapeutický problém.

Klíčová slova: *Streptococcus agalactiae*, komunitní prostředí, rezistence na antibiotika.

RESISTANCE OF COMMUNITY-ACQUIRED STREPTOCOCCUS AGALACTIAE STRAINS TO MACROLIDE ANTIBIOTICS

In order to determine the rates of *Streptococcus agalactiae* resistance to selected antibiotics, 612 *Streptococcus agalactiae* strains were isolated from vaginal swabs, 156 from upper respiratory tract, and 97 were obtained from urine samples of patients from the community setting between January and December 2006. The bacterial strains isolated were identified using standard microbiological methods. Susceptibility to antibiotics was determined by the disk diffusion method, the phenotype of resistance to macrolide antibiotics was detected by the D-test. The mean values of resistance to erythromycin, clindamycin, and tetracycline were 25.8 %, 24.1 %, and 82.9 %, respectively. The constitutive phenotype of resistance (cMLS_B), inducible phenotype (iMLS_B), and efflux (M phenotype) mean values were 79.8 %, 13.6 %, and 6.6 %, respectively.

The data obtained confirm the problem of resistance to macrolides and lincosamides in *Streptococcus agalactiae* species in the community setting. The MLS_B resistance phenotype was found in 93.4 % of all erythromycin-resistant strains, which in the case of patients allergic to penicillins and cephalosporines poses a therapeutic challenge.

Key words: *Streptococcus agalactiae*, community setting, antibiotic resistance.

Klin Farmakol Farm 2008; 22(2): 55–57

Úvod

Streptococcus agalactiae se jako kmenová bakterie vyskytuje v lidském zažívacím a genitálním traktu, současně je však podmíněným patogenem u jedinců s narušenou obranyschopností. Dále patří k významným bakteriálním původcům novorozeneckých sepsí a je důležitou příčinou perinatální morbidity a mortality.

Léky volby pro léčbu infekcí způsobených kmeny *Streptococcus agalactiae* jsou penicilin nebo amoxicilin s velmi dobrou účinností (1, 2, 3, 4). Alternativními přípravky jsou makrolidová antibiotika a linkosamidy, které jsou doporučovány především u pacientů s alergií na beta-laktamová antibiotika. Je však nutné zdůraznit, že k důležitým problémům v komunitním prostředí patří v současné době výskyt streptokoků s rezistencí k těmto alternativním léčivům, a to především kmenů *Streptococcus pyogenes*. Tato rezistence je však popisována i v případě druhu *Streptococcus agalactiae*. Schoening et al. uvádějí 11 % četnost erytromycin-rezistentních kmenů a 5 % v případě klindamycin-rezistentních izolátů v Německu (5).

Betriu et al. popisují situaci ve Španělsku se 17 % rezistencí k erytromycinu a 12 % ke klindamycinu (6). V Portugalsku dokumentují Figueira-Coelho et al. 11 % erytromycin-rezistentních kmenů a 10 % klindamycin-rezistentních kmenů *Streptococcus agalactiae* (7).

Nejčastější mechanismus rezistence gram-pozitivních koků (včetně *Streptococcus agalactiae*) k makrolidům je modifikace cílového místa a eflux (4,8). Modifikace cílového místa rRNA je příčinou odolnosti nejen k makrolidům, ale současně i k linkosamidům (linkomycinu, klindamycinu) a streptograminu B (MLS_B fenotyp). Tento typ rezistence je nejčastěji způsoben *erm* geny (erythromycin ribosomal methylase), které kódují metylázu. Je-li metyláza syntetizována konstitutivně (gen *ermB*), jedná se o cMLS_B fenotyp, inducibilně syntetizovaná metyláza (gen *ermA*) podmiňuje iMLS_B fenotyp. Oba typy rezistence inaktivují 14–16členné makrolidy, linkosamidy a streptogramin B (8, 9). Fenotyp M (aktivní transport z bakteriální buňky), tzv. eflux, je u *Streptococcus agalactiae* způsobený *mefA* a *mefE* geny (10). Tento typ rezistence je charakterizován

citlivostí k 16členným makrolidům (josamycinu, spiramycinu), klindamycinu a streptograminu B a rezistencí ke 14- a 15členným makrolidům (klaritromycinu, roxitromycinu, azitromycinu) (8, 9).

Cílem předložené studie bylo stanovení rezistence kmenů *Streptococcus agalactiae* k erytromycinu, klindamycinu a tetracyklinu v komunitním prostředí olomouckého regionu.

Material a metody

V měsících leden – prosinec roku 2006 byly izolovány kmeny *Streptococcus agalactiae* z vaginálních výtěrů, ze vzorků moči a z výtěrů horních cest dýchacích získaných od osob v komunitním prostředí olomouckého regionu. Izolované kmeny byly určovány standardními mikrobiologickými postupy. K identifikaci byla použita diagnostická souprava pro určování sérologických skupin beta-hemolytických streptokoků ITEST STREPTO GROUP (Itest plus, s. r. o.) a CAMP test.

Identifikovaný bakteriální kmen od určitého pacienta byl do výsledků zařazen jen 1x, aby bylo

vyloučeno jeho opakování v databázi. Podmínkou pro zařazení do souboru nebyla klinicky prokázána souvislost mezi izolovaným kmenem a infekcí.

Fenotyp rezistence k erytromycinu byl stanoven double-disk testem (D-testem) na Mueller Hinton agaru s 5 % beraní krve (Oxoid). Uvedený agar byl inokulován bakteriální suspenzí a na jeho povrch byly položeny disky erytromycinu (15 µg) a klindamycinu (2 µg). Vzdálenost mezi středy obou disků byla 15–20 mm. Po 18–24 hod. inkubaci v 35 °C byl měřen průměr inhibičních zón kolem uvedených disků (8, 11). Fenotyp kmenů, které netvořily žádnou inhibiční zónu, nebo jejichž zóny byly menší než je stanovený limit pro citlivé kmeny, byl označen jako cMLS_B. Fenotyp s charakteristicky deformovanou zónou u klindamycinu byl vyhodnocen jako iMLS_B. Rezistence u izolátů, které neměly deformovanou zónu u klindamycinu a zóna kolem erytromycinu byla menší než je limit pro citlivé kmeny nebo žádná, byla charakterizována jako M fenotyp (11).

Citlivost k tetracyklinu (30 µg) byla určována difúzní diskovou metodou podle doporučení Národní referenční laboratoře pro antibiotika (SZÚ Praha) (12).

Výsledky

Ve sledovaném období (leden – prosinec 2006) bylo izolováno celkem 865 kmenů *Streptococcus agalactiae*. Z tohoto celkového počtu bylo 612 kmenů z vaginálních výtěrů, 156 z výtěrů horních cest dýchacích a 97 ze vzorků močí.

Rezistence izolovaných kmenů *Streptococcus agalactiae* k antibiotikům, podle jednotlivých biologických materiálů, je uvedena v tabulce 1. Z výsledků vyplývá, že četnost erytromycin-rezistentních kmenů se pohybovala v rozmezí 22,7–27,8 % a rezistence ke klindamycinu dosahovala hodnot v rozmezí 21,2–26,8 %. Nejvyšší rozdíly v rezistenci v závislosti na typu biologického materiálu byly zaznamenány u tetracyklinu (77,8–91,0 %).

Zastoupení jednotlivých fenotypů erytromycin-rezistentních kmenů *Streptococcus agalactiae* podle biologických materiálů je uvedeno v tabulce 2. Získané výsledky ukazují, že nejčastěji se vyskytoval konstitutivní fenotyp rezistence (cMLS_B), který dosahoval hodnot 71,4–92,6 %.

Diskuze

Získané výsledky ukazují, že průměrná hodnota rezistence *Streptococcus agalactiae* k erytromycinu dosáhla v naší studii relativně vysoké hodnoty 26 %. Tato hodnota je srovnatelná s výsledky práce De Mouy et al., kteří ve Francii v roce 1999 prokázali rezistenci k erytromycinu ve 21 % a ke klindamycinu v 18 % (13). Rovněž Rouse et al. na základě údajů z Anglie uvádějí četnost erytromycin-rezistentních kmenů ve 21 %, ale pouze 4 % těchto kmenů byly

Tabulka 1. Rezistence kmenů *Streptococcus agalactiae* z močí, vaginálních výtěrů a výtěrů horních cest dýchacích k vybraným antibiotikům (v procentech)

Materiál	Antibiotikum		
	erytromycin	klindamycin	tetracyklin
vaginální výtěr	22,7	21,2	91,0
výtěr z horních cest dýchacích	26,9	24,4	77,8
moč	27,8	26,8	80,0
průměr	25,8	24,1	82,9

Tabulka 2. Zastoupení fenotypů rezistence *Streptococcus agalactiae* podle biologických materiálů (v procentech)

Materiál	Fenotyp rezistence		
	konstitutivní (cMLS _B)	indukovaný (iMLS _B)	eflux (M fenotyp)
vaginální výtěr	75,5	18,0	6,5
výtěr z horních cest dýchacích	71,4	19,1	9,5
moč	92,6	3,7	3,7
průměr	79,8	13,6	6,6

současně rezistentní ke klindamycinu (14). Vysoké hodnoty prevalence erytromycin-rezistentních kmenů (42 % a 54 %) jsou uváděny ve studiích amerických autorů (15,16). Zajímavé výsledky přináší stanovení četnosti rezistentních kmenů v jednotlivých biologických materiálech. Zatímco v případě erytromycinu a klindamycinu jsou tyto hodnoty relativně stejné, u tetracyklinu jsou izoláty z genitálního traktu více rezistentní. Lze pouze spekulovat, zdali je tato skutečnost podmíněna jiným terapeutickým přístupem k infekcím v této lokalizaci. Dále nelze vyloučit možnost ovlivnění výsledků kolonizujícími kmeny, u nichž lze očekávat vyšší rezistenci k antibiotikům.

Konstitutivní fenotyp rezistence tvořil průměrně 80 %, indukovaný typ rezistence se vyskytoval ve 14 % a efux dosáhl četnosti 7 %. Lze tedy konstatovat, že fenotyp MLS_B podmiňující rezistenci ke všem makrolidům, linkosamidům a streptogramin B byl prokázán u více jak 90 % kmenů, přičemž dominující část tvořil cMLS_B typ. Podobnou frekvenci fenotypu MLS_B uvádějí autoři např. v Portugalsku (92 %), ve Španělsku (91 %) a ve Francii (92 %) (7, 17, 13). Ve všech těchto zemích rovněž převažuje cMLS_B fenotyp. V Německu uvádějí Schoening et al. výskyt fenotypu cMLS_B ve 41 %, iMLS_B ve 38 % a M fenotypu ve 21 % (5).

Při porovnání zastoupení cMLS_B typu u *Streptococcus agalactiae* (80 %) se stejným údajem u *Streptococcus pyogenes* ze stejného regionu v roce 2006 (50 %) je zřejmé, že v případě *Streptococcus agalactiae* je situace horší (18). Tuto skutečnost dokládá i porovnání zastoupení M fenotypu, 7 % v případě *Streptococcus agalactiae* a 23 % u *Streptococcus pyogenes*.

Z dosažených výsledků vyplývá, že periodické sledování citlivosti *Streptococcus agalactiae* k makrolidovým antibiotikům je důležité vzhledem ke skutečnosti, že rezistence je poměrně vysoká. Penicilin a amoxicilin jsou stále léky první volby a použití makrolidů by mělo být omezeno pouze na pacienty s alergií na penicilinová antibiotika. U pacientů alergických na penicilinová antibiotika je nutné v případě infekcí, vyvolaných kmeny *Streptococcus agalactiae* s rezistencí k makrolidům a event. i k linkosamidům, použít antibiotika v souladu s antibiogramem a typem onemocnění.

Podpořeno výzkumným záměrem
MSM6198959223.

Mgr. Luboslava Čekanová

Laboratoře Mikrochem a. s. Olomouc
Nezvalova 984/2, 779 00 Olomouc
e-mail: luba.cekanova@michem.cz

Literatura

- Andrews JL, Diekema DJ, Hunter SK, et al. Group B streptococci causing neonatal bloodstream infection: antimicrobial susceptibility and serotyping results from SENTRY centers in the Western Hemisphere. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 859–862.
- Manning SD, Pearlman MD, Tallman P, Pierson CL, Foxman B. Frequency of antibiotic resistance among group B *Streptococcus* isolated from healthy college students. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 137–139.
- Murdoch DR, Reller LB. Antimicrobial susceptibilities of group B streptococci isolated from patients with invasive disease: 10-year perspective. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 3623–3624.
- Lopardo HA, Vidal P, Jeric P, et al. Six-month multicenter study on invasive infections due to group B streptococci in Argentina. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 4688–4694.
- Schoening TE, Wagner J, Arvand M. Prevalence of erythromycin and clindamycin resistance among *Streptococcus agalactiae* isolates in Germany. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 579–582.
- Betriu C, Culebras E, Gómez M, et al. Erythromycin and clindamycin resistance and telithromycin susceptibility in *Streptococcus agalactiae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 1112–1114.
- Figueira-Coelho J, Ramirez M, Salgado MJ, Melo-Cristino J. *Streptococcus agalactiae* in a large Portuguese teaching hospital: antimicrobial susceptibility, serotype distribution, and clonal analysis of macrolide-resistant isolates. *Microb Drug Resist* 2004; 10: 31–36.
- Seppälä H, Nissinen A, Yu Q, et al. Three different phenotypes of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* in Finland. *J Antimicrob Chemother* 1993; 32: 885–891.

9. Urbášková P, Jakubů V, Melter O. Analýza rezistence *Streptococcus pyogenes* k antibiotikům ze skupiny makrolidů, linkosamidů a streptograminů_B (MLS_B). Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2004; 13: 28–29.
10. Arpin C, Daube H, Tessier F, Quentin C. Presence of *mefA* and *mefE* genes in *Streptococcus agalactiae*. Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43: 944–946.
11. Jakubů V, Urbášková P. Fenotypy rezistence na makrolidová antibiotika u *Streptococcus pyogenes*. Zprávy CEM (SZÚ Praha) 2000; 9: 499–500.
12. Urbášková P. Rezistence bakterií k antibiotikům – vybrané metody. Praha Trios, 1998.
13. De Mouy D, Cavallo JD, Leclercq R, Fabre R, The Aforcopi-Bio Network. Antibiotic susceptibility and mechanism of erythromycin resistance in clinical isolates of *Streptococcus agalactiae*: French multicenter study. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 2400–2402.
14. Rouse DJ, Andrews WW, Lin FY, et al. Antibiotic susceptibility profile of group B *Streptococcus* acquired vertically. Obstet Gynecol 1998; 92: 931–934.
15. Borchardt SM, DeBusscher JH, Tallman PA, et al. Frequency of antimicrobial resistance among invasive and colonizing group B streptococcal isolates. BMC Infect Dis 2006; 6: 57–64.
16. DiPersio LP, DiPersio JR. High rates of erythromycin and clindamycin resistance among OBGYN isolates of group B *Streptococcus*. Diagn Microbiol Infect Dis 2006; 54: 79–82.
17. Culebras E, Rodriguez-Avial I, Betriu C, Redondo M, Picazo JJ. Macrolide and tetracycline resistance and molecular relationships of clinical strains of *Streptococcus agalactiae*. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 1574–1576.
18. Čekanová L, Kolář M. Vývoj rezistence komunitních respiračních patogenů k antimikrobním přípravkům v olomouckém regionu. Interní Med. 2007; 9: 405–407.