

VLIV SELEKČNÍHO TLAKU VYBRANÝCH ANTIBIOTIK NA REZISTENCI NEJČASTĚJI SE VYSKYTUJÍCÍCH GRAMNEGATIVNÍCH BAKTERIÁLNÍCH KMENŮ NA ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE VE FAKULTNÍ NEMOCNICI V HRADCI KRÁLOVÉ

AN INFLUENCE OF SELECTIVE PRESSURE OF ANTIBIOTICS ON GRAM-NEGATIVE BACTERIAL FLORA RESISTANCE IN THE HAEMATOLOGY UNIT AT THE TEACHING HRADEC KRALOVE, CZECH REPUBLIC

ZEMKOVÁ M.¹, JEBAVÝ L.², ČERMAK P.³, KOBLIHOVÁ H.¹, VLČEK J.¹

¹ KATEDRA KLINICKÉ A SOCIÁLNÍ FARMACIE, UNIVERSITA KARLOVA V PRAZE, FARMACEUTICKÁ FAKULTA, HRADEC KRÁLOVÉ

² II. INTERNÍ KLINIKA - ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE, LÉKAŘSKÁ FAKULTA A FN HRADEC KRÁLOVÉ

³ ÚSTAV KLINICKÉ MIKROBIOLOGIE, LÉKAŘSKÁ FAKULTA A FN HRADEC KRÁLOVÉ

Cíl studie: Analyzovat vztah mezi expozicí antibiotikům (cefotaxim, ceftazidim, ofloxacin, ciprofloxacín, imipenem, meropenem, gentamicin, amikacin, netilmicin a amoxycilin/kyselina klavulanová) a rezistencí nejčastěji se vyskytujících gram-negativních bakteriálních kmenů na Oddělení klinické hematologie II. Interní kliniky Fakultní nemocnice. **Použité metody:** Jedná se o retrospektivní, observační studii. Sběr dat byl prováděn v období od 1.1.1998 do 31. 12. 2001. Spotřeba antibiotik byla vyjádřena v definovaných denních dávkách vztažených na 100 ošetřovacích dnů - lůžkodnů (DDD/100 lůžkodnů). Identifikace bakteriálních kmenů a vyšetření citlivosti (disková difusní metoda) bylo provedeno v souladu s mezinárodně akceptovanými pokyny. Do studie byly pro jednu hospitalizaci jednoho pacienta zahrnuty pouze odlišné fenotypy. Závislost četnosti rezistentních kmenů na expozici antibiotikům byla analyzována pomocí lineární regrese. **Výsledky:** Statisticky významná lineární závislost byla zjištěna mezi relativní roční spotřebou fluorochinolonů a rezistencí kmenů *Enterobacter spp.* k fluorochinolonům ($r = 0,821$; $p = 0,005$). Statisticky významná negativní korelace byla zjištěna mezi expozicí gentamicinu a rezistencí kmenů *Klebsiella pneumoniae* ($r = -0,882$; $p = 0,012$). **Závěr:** V prostředí hemato-onkologického oddělení bylo zjištěno, že snížení selekčního tlaku fluorochinolonů vede rovněž ke snížení výskytu kmenů *Enterobacter spp.* rezistentních k tomuto antibiotiku. Paradoxně byl na oddělení při nízké spotřebě gentamicinu pozorován vysoký podíl kmenů *Klebsiella pneumoniae* rezistentních vůči gentamicinu.

Klíčová slova: antibiotika, selekční tlak antibiotik, gram-negativní bakterie, hemato-onkologie

Objective: Aim of the study was to evaluate the relationship between usage of antimicrobial agents intended to treat infection caused by Gram-negative bacteria (cefotaxim, ceftazidim, ofloxacin, ciprofloxacin, imipenem, meropenem, gentamicin, amikacin, netilmicin and amoxycilin/clavulanic acid) and resistance of those bacteria in the haemato-oncology unit at the University Hospital. **Methods design:** Observational, retrospective study. Data had been collected from January 1, 1998 to December 31, 2001. Antibiotic usage data were obtained by chart extraction. Non-duplicate strains isolated from haemato-oncology inpatients were tested for their susceptibility by the disk diffusion test. **Results:** A relationship between relative one-year consumption (expressed in DDD/100bed-days) and rates of resistance for selected Gram-negative bacteria was evaluated by the means of linear regression. We identified statistically significant positive correlation for fluoroquinolones usage and *Enterobacter spp.* resistance ($r = 0,821$; $p = 0,005$). Statistically significant negative correlation was found for usage of gentamicin ($r = -0,882$; $p = 0,012$) and *Klebsiella pneumoniae* resistance. **Conclusion:** In the haemato-oncology setting a decrease of selective pressure of fluoroquinolones entailed a decrease of *Enterobacter spp.* strains resistant to fluoroquinolones. In paradox, high resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains to gentamicin was observed at the haemato-oncology wards with low consumption of gentamicin.

Keywords: antibiotics, antibiotic selective pressure, gram-negative bacteria, haemato-oncology

Úvod

Bakteriální rezistence vůči antibiotikům je závažným celosvětovým problémem. Zvyšující se frekvence rezistentních bakteriálních kmenů je opakovaně zjišťována jak v nemocničním prostředí, tak v komunitě.

V nemocničním prostředí je situace závažná zejména na hemato-onkologických odděleních a jednotkách intenzivní péče, kde vysoký selekční tlak antibiotik a mnohdy nedodržování hygienických opatření vede ke vzniku a šíření nozokomiálních

nákaz [1-3]. Kmeny, které tato onemocnění způsobují, bývají často multirezistentní a jsou v literatuře dávány do souvislosti s neúspěšnou a nákladnou terapií [4, 5]. Navzdory zvyšující se prevalenci gram pozitivních bakteriálních agens zůstávají gramnegativní kmeny stále významnými patogeny [6, 7].

Selekční tlak antibiotik je kromě dalších rizikových faktorů uváděn jako primární příčina narůstající bakteriální rezistence vůči antibiotikům. Expozice antibiotikům je uváděna jako

jeden z rizikových faktorů osídlení pacientů multirezistentními kmeny. Dalšími rizikovými faktory (sekundárně usnadňující kolonizaci/infekci rezistentními kmeny) jsou základní onemocnění, aplikace cytostatických režimů se zvýrazněnou slizniční toxicitou, programy autologních a allogenních transplantací periferních kmenových buněk (PBPCT), intravaskulární či permanentní katetrizace, mechanická ventilace, délka hospitalizace; celková závislost na zdravotnickém personálu, dodržování hygienických opatření aj. [8, 9]. Naše studie byla provedena s cílem analyzovat vliv selektivního tlaku některých antibiotik, používaných v léčbě/profylaxi infekcí gramnegativními bakteriemi, a rezistenci nejčastěji se vyskytujících gramnegativních bakteriálních kmenů na Oddělení klinické hematologie II. Interní kliniky Fakultní nemocnice [10,11].

Metodika

Soubor nemocných

Retrospektivně, za období od 1.1. 1998 do 31.12. 2001, byly ze zdravotnické dokumentace všech pacientů hospitalizovaných na dále uvedených jednotkách Oddělení klinické hematologie (OKH) ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové, zjišťovány údaje o veškeré expozici antibiotikům.

Sledované oddělení:

- Standardní oddělení 29 lůžek
- Integrované oddělení klinické onkologie (IOKO) 25 lůžek
- Transplantační oddělení 6 lůžek
- Oddělení hematologické intenzivní péče 6 lůžek
- Jednotka intenzivní péče 4 lůžka

Studie byla schválena Etickou komisí Fakultní nemocnice v Hradci Králové rozhodnutím ze dne 13. 3. 2002.

Gramnegativní bakterie

Byla provedena frekvenční analýza zachycení jednotlivých bakteriálních druhů/rodů. Do dalšího šetření byla zahrnuta rezistence bakteriálních agens, které tvořily během sledovaného období více než 3 % z celkového zastoupení izolovaných G- bakterií.

Mikrobiologické vyšetření

Pacienti podstupují mikrobiologické vyšetření, a to při příjmu a následně vždy, pokud si to klinický stav pacienta vyžaduje. Bakteriální kmeny byly izolovány z klinicky relevantního biologického materiálu (nazofaryngeální sekret, bronchoalveolární laváž, sputum, krev, cerebrospinální mok, moč, jiné tělní tekutiny a exudáty, intravaskulární katetry). Ve studii jsou zařazeny pouze pacienti, u kterých byly prokázány infekční komplikace získané během hospitalizace (dle CDC definice). Údaje o citlivosti kmenů byly získány z mikrobiologické laboratoře Fakultní nemocnice. Identifikace bakteriálních kmenů a vyšetření citlivosti (disková difusní metoda) bylo provedeno v souladu s mezinárodně akceptovanými pokyny [12].

K vyloučení duplicity kultivací byly do studie, ke zjištění celkového podílu rezistentních kmenů, zahrnuty pouze odlišné fenotypy pro jednu hospitalizaci daného pacienta. Jako odlišné fenotypy byly definovány kmeny, které se lišily svou citlivostí alespoň k jednomu antibiotiku ve škále vyšetřovaných antibiotik. U jednotlivých kultivací se nerozlišovalo, zda se jedná o kolonizaci nebo floridní infekci. Bakteriální rezistence byla vyjádřena jako podíl kmenů rezistentních k vyšetřovanému antibiotiku z celkového počtu izolovaných G- bakterií.

Spotřeba antibiotik

Celková expozice antibiotikům byla zaznamenána u každého pacienta hospitalizovaného na výše zmíněném oddělení. Tyto údaje byly získávány ze zdravotní dokumentace pacienta. Pro účely analýzy byla vybrána antibiotika s účinkem proti kmenům gramnegativních patogenů: cefalosporiny 3. generace

(cefotaxim, ceftazidim), fluorochinolony (ofloxacin, ciprofloxacin), karbapenemy (imipenem, meropenem), aminoglykosidy (gentamicin, amikacin, netilmicin) a aminopeniciliny s inhibitorem beta-laktamázy (amoxycilin/kyselina klavulánová). Pro účely studie byla antibiotika seskupena na základě ATC klasifikace (Anatomicko-terapeuticko-chemická klasifikace). Definované denní dávky pro jednotlivá antibiotika byly zjištěny na základě ATC/DDD klasifikace [13] a agregovaná data byla vyjádřena jak v absolutní (celkové) roční spotřebě (DDDatb), tak v relativních hodnotách (relativní roční spotřeba antibiotik; RDDDatb) definovaných denních dávek na 100 ošetřovacích dnů - lůžkodnů (DDDatb /100 lůžkodnů). Selektivní tlak antimikrobních preparátů na Oddělení klinické hematologie (OKH) fakultní nemocnice byl hodnocen pomocí parametru RDDDatb, který lze definovat poměrem absolutního počtu definovaných denních dávek (DDDatb) jednotlivých antibiotik na 100 ošetřovacích dnů-lůžkodnů (DDDatb /100 lůžkodnů) podle vzorce:

$$RDDDatb = DDDatb \times 100 / \text{počet lůžkodnů} [14]$$

Při hodnocení byla porovnávána půlroční období v intervalu I. pololetí 1998- II. pololetí 2001 (I./1998, II./1998, I./1999, II./1999, I./2000, II./2000, I./2001, II./2001).

Statistika

Sledováno bylo zastoupení jednotlivých gram-negativních kmenů v uvedeném období a procentuální zastoupení rezistence na jednotlivá antibiotika. Srovnávány byly změny v zastoupení jednotlivých mikrobů a změny v rezistenci na jednotlivá antibiotika v časovém horizontu let 1998-2001. Závislost četnosti kmenů rezistentních vůči danému antibiotiku na expozici daného antibiotika na oddělení klinické hematologie byla analyzována metodou lineární regrese. Statistická významnost byla stanovena na hladině 95 %.

Výsledky

Celkový počet pacientů hospitalizovaných na Oddělení klinické hematologie Fakultní nemocnice Hradec Králové ve sledovaném období byl 7432 pacientů. Přehled frekvence gramnegativních bakteriálních druhů izolovaných z klinicky relevantních biologických materiálů je podán v tabulce 1. Procentuální podíl kmenů *Escherichia coli* činil ve sledovaném období 13,2-20,5 % izolovaných kmenů. Z dalších gram-negativních bakterií byly s největší četností výskytu identifikovány druhy *Enterobacter spp.* (3,6-8,1 %), *Pseudomonas aeruginosa* (11,8-17,0 %), *Acinetobacter spp.* (1,8-7,5 %) a *Klebsiella pneumoniae* (8,1-17,8 %). Frekvence *Stenotrophomonas maltophilia* byla prokázána v intervalu 0,3-7,4 %. Analýza aplikace jednotlivých antimikrobních preparátů ve sledovaném období na Oddělení klinické hematologie (OKH) je uvedena v tabulce 2. Na základě uvedených dat je zřejmé, že aplikace aminoglykosidových antibiotik se snížila o 18,5 %, významného poklesu bylo dosaženo rovněž u amoxicilin/kys. klavulánová (o 16,3 %). Výrazný pokles (o 38,1 %) byl zaznamenán u cefalosporinů 3. generace. Selektivní tlak fluorochinolony byl výrazněji redukován až v roce 2000, kdy jejich spotřeba byla v porovnání s rokem 1999 nižší o 14,1 %.

Tabulka 1: Frekvence izolovaných G-bakterií u pacientů hospitalizovaných na Oddělení klinické hematologie Fakultní nemocnice Hradec Králové.

Druh	relativní četnost (v %)			
	1998	1999	2000	2001
<i>Enterobacter spp.</i>	8,1	6,0	7,2	3,6
<i>Escherichia coli</i>	20,5	18,7	13,2	18,8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16,6	14,7	17,0	11,8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13,7	8,1	8,8	17,8
<i>Acinetobacter spp.</i>	7,5	5,7	3,2	1,8
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,3	0,3	3,0	7,4

Tabulka 2: Selekční tlak jednotlivých antimikrobních preparátů na Oddělení klinické hematologie vyjádřený pomocí RDDDatb (DDDatb/100lůžkodnů).

ATB	ATC	I/1998	II/1998	I/1999	II/1999	I/2000	II/2000	I/2001	II/2001
Ofloxacin	J01MA011	25,45	27,44	21,08	26,49	17,20	21,57	18,45	12,59
Ciprofloxacin	J01MA021	1,98	4,51	3,34	7,54	6,86	4,57	6,29	5,59
Gentamicin	J01GB031	1,81	2,63	2,07	3,39	1,66	2,20	1,73	1,50
Amikacin	J01GB061	2,63	7,69	5,51	8,47	6,19	6,44	4,82	5,60
Netilmicin	J01GB071	1,07	1,60	0,61	0,34	0,00	0,12	0,27	0,30
Cefotaxim	J01DA101	1,47	0,93	1,46	3,45	2,74	2,66	1,44	1,05
Ceftazidim	J01DA111	2,63	1,92	0,61	0,20	1,85	0,97	0,90	0,91
Cefoper.+sulb	J01DA 1	0,34	2,88	0,71	0,00	2,74	3,22	3,78	3,37
Cefepim	J01DA241	1,65	3,99	2,69	1,36	2,43	0,00	0,00	2,80
Cefpirom	J01DA371	3,31	4,67	2,19	4,14	3,25	4,16	2,33	0,57
Meropenem	J01DH021	0,68	2,04	0,30	0,50	0,08	0,67	0,00	1,68
Imipenem+inh	J01DH511	0,51	0,00	0,00	0,06	0,32	0,48	1,49	0,67
Amx.+enz.inh	J01CR021	32,78	27,40	35,73	45,14	33,50	26,14	30,05	20,30
Amp.+enz.inh	J01CR011	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Legenda: ošetřovací dny na OKH ve sledovaných obdobích: 1998-11789, 1999-16892, 2000-18633, 2001-19295

Tabulka 3: Výsledky lineární regresní analýzy závislosti rezistence gramnegativních bakteriálních kmenů na spotřebě antibiotik na Oddělení klinické hematologie ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové.

ATB ^a	Klebsiella pneumoniae		Pseudomonas aeruginosa		Acinetobacter spp		Escherichia coli		Enterobacter spp.	
	R ^b	P ^c	R ^b	P ^c	R ^b	P ^c	R ^b	P ^c	R ^b	P ^c
CTX	-0,965	0,044	-0,951	0,049	0,144	0,856	0,678	0,322	0,216	0,784
CTZ	0,842	0,158	-0,023	0,977	0,423	0,577	NT	NT	0,175	0,825
GEN	-0,882	0,012	-0,549	0,451	0,615	0,385	0,318	0,682	0,706	0,294
AMI	-0,777	0,223	0,660	0,340	0,353	0,647	NT	NT	NT	NT
NET	0,364	0,636	-0,998	0,030	-0,067	0,933	0,347	0,653	-0,078	0,922
FQ	0,102	0,898	0,264	0,736	0,236	0,764	-0,994	0,004	0,821	0,005
AMX+CA	-0,996	0,004	NT	NT	0,679	0,321	0,052	0,948	-0,820	0,180

Legenda: ^{a)} CTX - cefotaxim, CTZ - ceftazidim, GEN - gentamicin, AMI - amikacin, NET - netilmicin, FQ - fluorochinolony, AMX+CA - amoxicilin+kys. klavulanová; ^{b)} R - hodnota regresního koeficientu; ^{c)} P - hodnota pravděpodobnosti (tučně zvýrazněny statisticky významné hodnoty); ^{d)} NT - nebylo testováno

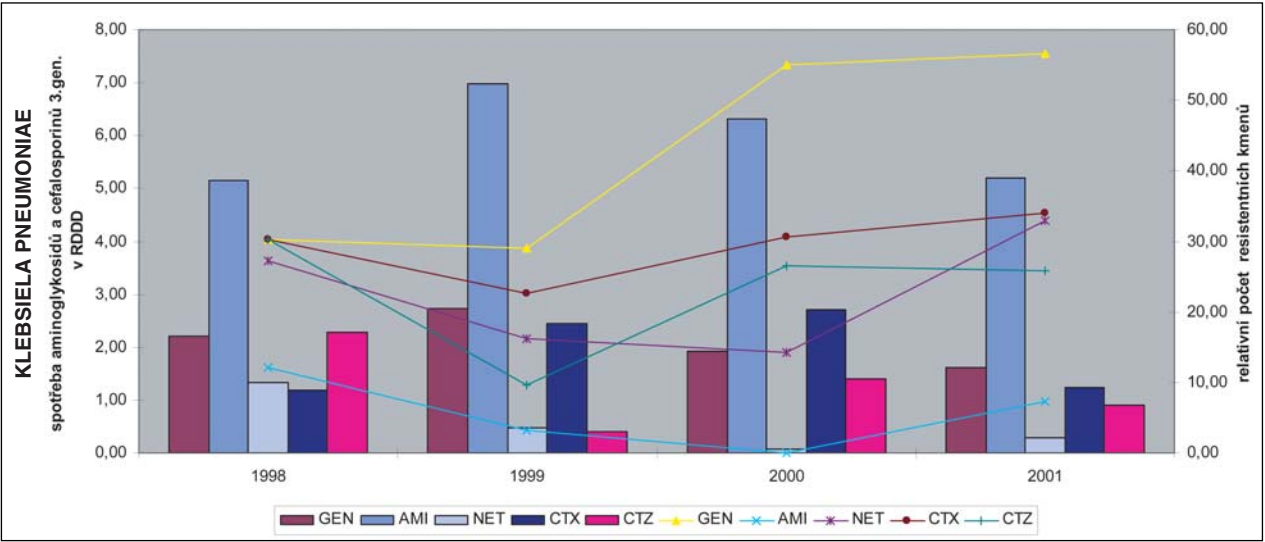
Vývoj selekčního tlaku aminoglykosidových antibiotik, cefalosporinů 3. generace, fluorochinolonů a amoxicilin/kys.klavulanová ve vztahu k výskytu rezistentních kmenů *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter spp.* a *Pseudomonas aeruginosa* je pro názornost uveden v grafech 1-5. Z výsledků je zřejmá poměrně dobrá citlivost sledovaných G-baktérií k aminoglykosidovým antibiotikům s výjimkou zvýšené frekvence gentamicin a netilmicin-rezistentních kmenů *Klebsiella pneumoniae* (30,3-56,7 %; 27,3-33,0 %), gentamicin-rezistentních kmenů *Pseudomonas aeruginosa* (32,6-51,4 %) a *Acinetobacter spp.* (36,4-43,8 %). Nízká úroveň rezistence byla prokázána u amikacinu, kde vyšší četnost rezistentních kmenů byla zaznamenána u *Pseudomonas aeruginosa* (11,6-24,3 %), naopak pokles rezistence byl pozorován u *Acinetobacter spp.* (27,3-18,8%). V případě cefalosporinů 3. generace byl prokázán pokles míry rezistence u *Acinetobacter spp.* (27,3-12,5 % pro ceftazidim), *Enterobacter spp.* (30,8-12,5% pro cefotaxim) a *Stenotrophomonas maltophilia* (50,0-37,5% pro ceftazidim). Účinnost fluorochinolonů byla limitována u kmenů *Escherichia coli* (5,4-24,4 %), *Pseudomonas aeruginosa* (39,5-50,0%) a *Stenotrophomonas maltophilia* (25,0-37,5 %), pokles rezistence byl dokumentován u *Klebsiella pneumoniae* (24,2-15,5 %). Pokles četnosti rezistentních kmenů k amoxycilinu/kys. klavulanová byl pozorován pouze u *Acinetobacter spp.* (63,6-25,0 %). Výsledky regresní analýzy jsou prezentovány v tabulce 3. V tabulce jsou uvedeny hodnoty koeficientu lineární regrese společně s hodnotami spolehlivosti. Statisticky význam-

ná lineární závislost byla zjištěna mezi expozicí antibiotikům fluorochinolonové řady a rezistencí kmenů *Enterobacter spp.* k fluorochinolonům ($r=0,821$; $p=0,005$). Statisticky významná negativní korelace byla zjištěna mezi expozicí antibiotikům fluorochinolonové řady a rezistencí kmenů *Escherichia coli* k fluorochinolonům ($r=-0,994$; $p=0,004$), spotřebou gentamicinu a rezistencí kmenů *Klebsiella pneumoniae* k tomuto antibiotiku ($r=-0,882$; $p=0,012$), spotřebou cefotaximu a rezistencí kmenů *Klebsiella pneumoniae* k cefotaximu ($r=-0,965$; $p=0,044$), spotřebou amoxycilinu/kys. klavulanová a rezistencí kmenů *Klebsiella pneumoniae* k tomuto antibiotiku ($r=-0,996$; $p=0,004$) a spotřebou netilmicinu a rezistencí kmenů *Pseudomonas aeruginosa* k tomuto antibiotiku ($r=-0,998$; $p=0,030$).

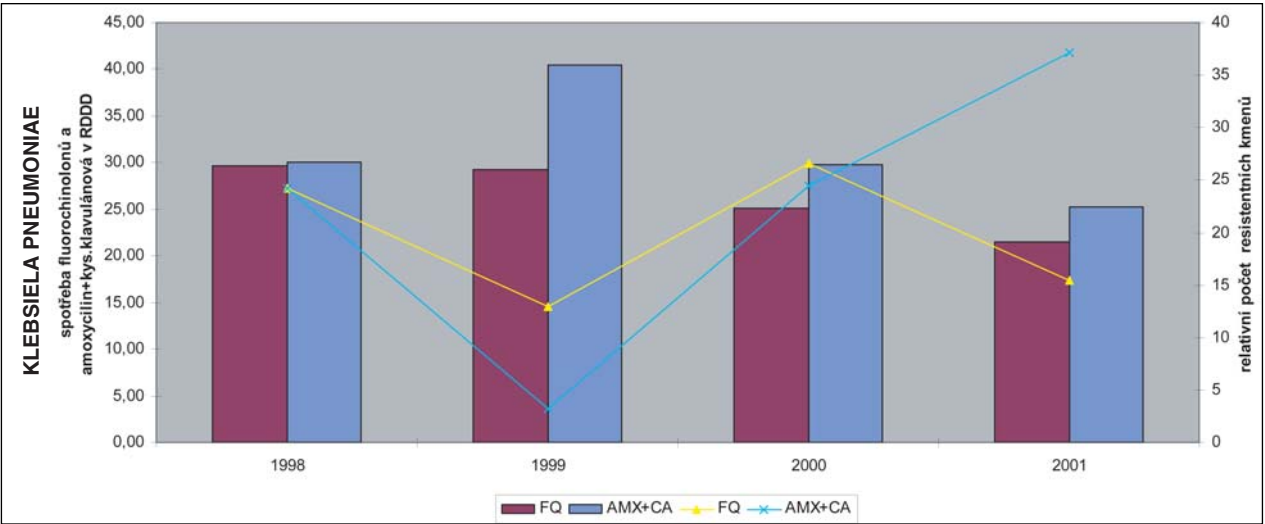
Diskuse

Práce, kterou zde prezentujeme, patří do širší analýzy hledání vztahu mezi expozicí antibiotik a vývojem rezistence. Navazujeme na projekt [15], jehož výsledky ukázaly na možný vztah mezi vývojem rezistence fluorochinolonů a amikacinu ve vztahu k jejich spotřebě v prostředí celé nemocnice. Možnost tohoto projektu byla dána snadným přístupem k informacím o expozici léčiv a o vývoji rezistence. Analýza vztahu expozice antimikrobních léčiv a vývoje rezistence na Oddělení klinické hematologie je obtížnější, protože prostředí ve sledované fakultní nemocnici v současné době nedovoluje sledovat expozici léčiv pomocí počítačové techniky pro absenci databáze předepisovaných léčiv na oddělení.

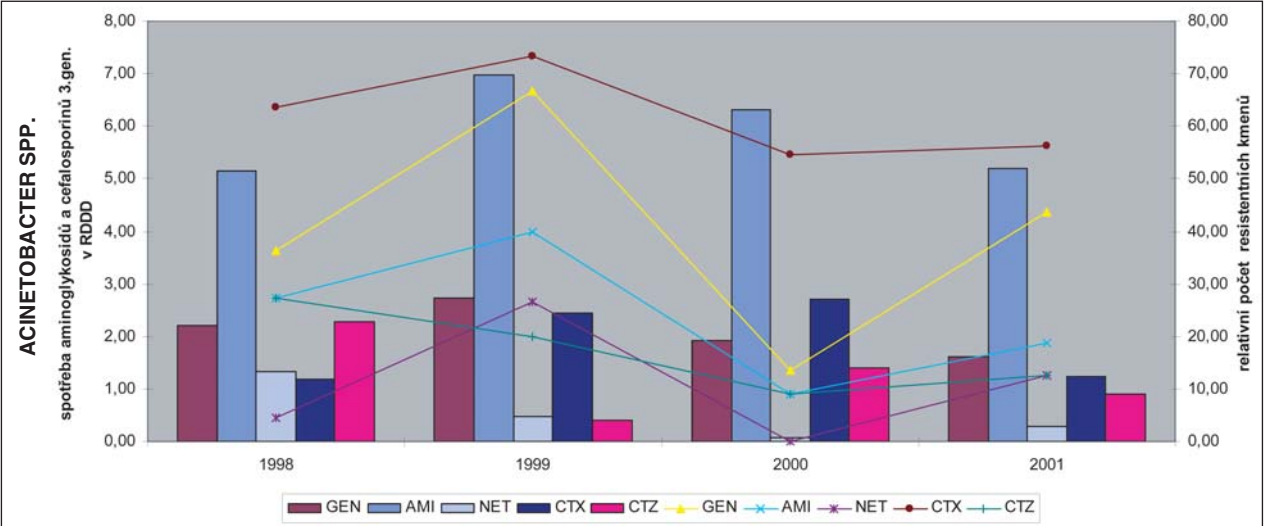
Graf 1: Vývoj selekčního tlaku aminoglykosidových antibiotik a cefalosporinů 3. generace (ve sloupcích) ve vztahu k výskytu rezistentních kmenů *Klebsiella pneumoniae* (spojené přímký).



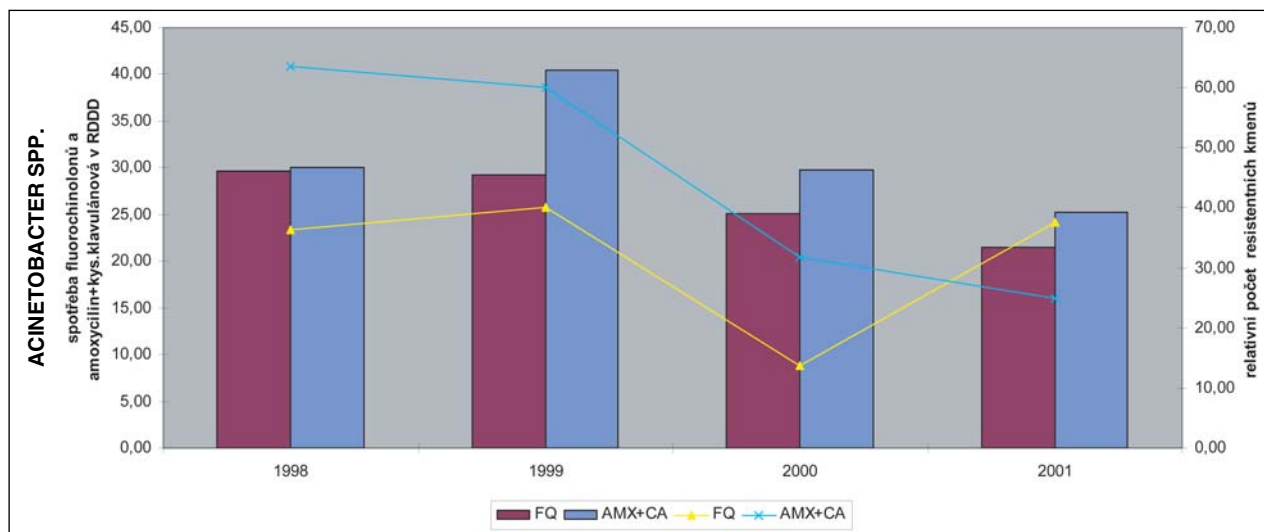
Graf 2: Vývoj selekčního tlaku antibiotik fluorochinolonové řady a amoxycilin/kys. klavulanová (ve sloupcích) ve vztahu k výskytu rezistentních kmenů *Klebsiella pneumoniae* (spojené přímký).



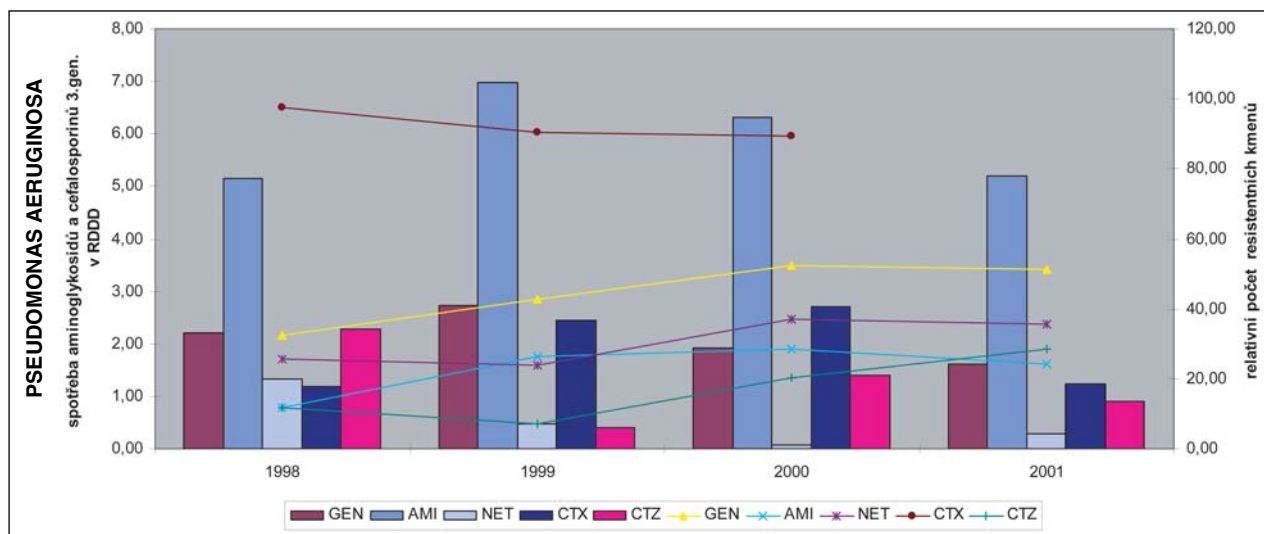
Graf 3: Vývoj selekčního tlaku aminoglykosidových antibiotik a cefalosporinů 3. generace (ve sloupcích) ve vztahu k výskytu rezistentních kmenů *Acinetobacter spp* (spojené přímký).



Graf 4: Vývoj selekčního tlaku antibiotik fluorochinolonové řady a amoxicilin/kys. klavulanová (ve sloupcích) ve vztahu k výskytu rezistentních kmenů *Acinetobacter spp* (spojené přímký).



Graf 5: Vývoj selekčního tlaku aminoglykosidových antibiotik a cefalosporinů 3.generace (ve sloupcích) ve vztahu k výskytu rezistentních kmenů *Pseudomonas aeruginosa* (spojené přímký).



Naopak výhodou je, že díky studiu dokumentace máme přístup k plné informaci o expozici léčiva.

Důraz byl kladen zejména na hlavní, v literatuře často zmiňovaný, rizikový faktor pro osídlení multirezistentními bakteriálními kmeny, a to selekční tlak antibiotik [4, 5, 15]. V naší studii jsme se zaměřili na kmeny gram-negativních bakterií a antibiotika, která jsou v léčbě/prevenzi infekcí způsobených těmito patogeny užívána v praxi. Kvůli potenciální možnosti zkřížené rezistence byla zaznamenávána kompletní antibiotická expozice u jednotlivých pacientů.

Význam kmenů *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter spp* a *Stenotrophomonas maltophilia*, jako potenciální původce bakteriálních onemocnění, ve flóře pacientů na hemato-onkologických odděleních byl opakovaně doložen v recentních studiích [16-20].

Jsmo si vědomi problémů, které vyplývají z retrospektivního způsobu sběru dat, možnou neúplnost průzkumu nebo průběžné změny v testovacích panelech jednotlivých antibiotik. Výše uvedené výsledky rezistence zahrnují pouze antibiotika, která byla testována stejnou metodikou v celém průběhu sledovaného období.

V naší studii byla nalezena lineární závislost mezi spotřebou fluorochinolonů a vývojem rezistence kmenů *Enterobacter spp.* k tomuto antibiotiku a spotřebou gentamicinu a rezistencí kmenů *Klebsiella pneumoniae* ke gentamicinu, přesto jsme zde zaznamenali významné rozdíly jednotlivých bakteriálních populací.

V souladu s publikovanými studiemi [6, 7, 8, 15, 23] naše analýza potvrdila, pozitivní korelaci vztahu selekčního tlaku fluorochinolonů a vývoje rezistence *Enterobacter spp* k této skupině antibiotik. U ostatních *Enterobacterií*, *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* nebyl tento vztah prokázán. Pozitivní hodnota regresního koeficientu ukazuje, že na oddělení s nízkým selekčním tlakem fluorochinolonů byla většinou zaznamenána nízká rezistence kmenů *Enterobacter spp.* Tato závislost byla pozorována již dříve [16,18] a je vysvětlována jednak alterací subjednotky A DNA gyrázy a jednak sníženou akumulací antibiotika v buňce. Naprosto odlišná závislost byla zjištěna mezi spotřebou gentamicinu a rezistencí kmenů *Klebsiella pneumoniae* ke gentamicinu. Tento trend neumíme uspokojivě vysvětlit a toto pozorování je v rozporu s obecně známým předpokladem, že čím nižší je selekční tlak antibiotik, tím nižší je rezistence bakteriálních kmenů.

V literatuře se nám nepodařilo najít sdělení, které by potvrdilo statisticky významnou korelaci mezi spotřebou gentamicinu a rezistencí kmenů *Klebsiella pneumoniae*. Eldeen et al. pozorovali nižší výskyt rezistentních kmenů *Klebsiella pneumoniae* při nižší expozici aminoglykosidovým antibiotikům. Autoři však neprovedli dostatečnou statistickou analýzu [20]. Další sdělení uvádějí rovněž statisticky významný pokles (nikoliv korelaci) rezistence kmenů *Klebsiella pneumoniae* ke gentamicinu při nižší expozici gentamicinu [21-22]. Další studie však naznačují, že vztah spotřeby a rezistence mezi expozicí gentamicinu a rezistencí kmenů *Klebsiella pneumoniae* k tomuto antibiotiku není tak jednoznačný. Kolář et al. neidentifikovali statisticky významnou závislost [23]. Gerdink et al. pozorovali statisticky významný pokles rezistence po výměně gentamicinu amikacinem. Po znovuzavedení gentamicinu do praxe autoři nezjistili žádný vzestup rezistence gramnegativních bakteriálních kmenů ke gentamicinu [24]. Rovněž Mylotte neprokázal, že by navzdory převažující expozici gentamicinu došlo během devíti let k vzestupu rezistence gramnegativních kmenů izolovaných z hemokultur [25]. Asensio et al. identifikovali expozici aminoglykosidům a expozici cefalosporinům 3. generace jako nezávislé rizikové faktory pro záchyt multirezistentního kmene *Klebsiella pneumoniae* [26]. Také další sdělení uvádí podávání aminoglykosidových antibiotik jako rizikové pro následující osídlení pacientů multirezistentními kmeny *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*. Kromě expozice aminoglykosidovým antibiotikům, však shodně i v naší studii, byla prokázána rovněž pozitivní asociace mezi expozicí antibiotikům fluorochinolonové řady a nálezem multirezistentních bakteriálních kmenů [17] a asociace mezi expozicí aminopenicilinům s inhibitorem beta-laktamázy a nálezem multirezistentních bakteriálních kmenů [19].

V souladu s dalšími sděleními [27], i v naší studii, byla prokázána pozitivní asociace mezi expozicí aminoglykosidům a antibiotikům cefalosporinové řady a nálezem multirezistentních kmenů *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa*. Asociace mezi expozicí aminoglykosidům, cefalosporinům 3. generace a aminopenicilinům s inhibitorem beta-laktamázy a multirezistencí může být vysvětlena existencí genů kódujících rezistenci k několika antibiotikům [16, 22, 25, 27, 28, 29, 30].

Určitým vysvětlením, které však zůstává pouze v rovině spekulací, by mohla být zkřížená rezistence nebo „koncentrační závislost“ aminoglykosidových antibiotik (nízkými dávkami by mohly být způsobeny subinhibiční koncentrace, které umožňují růst rezistentních kmenů) [31,32].

Rezistence ke karbapenemům je převážně způsobena produkcí beta-laktamázy. Literatura uvádí, že dalším mechanismem přispívajícím k tomuto jevu je alterace proteinů vnější membrány [33]. Nedávno byly identifikovány plazmidy kódující multirezistenci k beta-laktamovým antibiotikům včetně karbapenemů. Ahmad a kol. pozorovali selekci rezistentních kmenů během terapie karbapenemy [34].

Multirezistentní kmeny *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae*, způsobující epidemie v nemocničním prostředí, často produkují ESBL (širokospektré beta-laktamázy) [16, 17, 35, 36]. Ve fakultní nemocnici je prováděna jejich detekce pouze u vybraných kmenů.

Pro sledování vývoje rezistence pomocí diskové difusní metody by bylo vhodnější pracovat s evidovanými průměry inhibičních zón. Vhodné by bylo i použití dat o testování MIC, nicméně toto hodnocení nebylo na sledovaném oddělení v uvedeném období prováděno tak často, aby mohly být získány relevantní výsledky o stavu rezistence mikroorganismů. Statistická významnost vzestupu nebo poklesu rezistence nebyla hodnocena vzhledem ke krátkému sledovanému období. Během pěti let byl však statisticky významný pokles rezistence kmenů *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa* vůči cefotaximu, ceftazidimu, gentamicinu, amikacinu a ciprofloxacinu pozorován na neurochirurgické klinice JIP fakultní nemocnice. Tohoto trendu bylo dosaženo striktním dodržováním hygienických opatření [37].

K základním předpokladům racionální antibiotické léčby patří vedle znalosti frekvence bakteriálních patogenů na konkrétním oddělení i informace o jejich rezistenci k antimikrobním preparátům. Dalším důležitým faktorem, ovlivňujícím výběr vhodnější léčby, je vývoj bakteriální rezistence v souvislosti se selekčním tlakem antibiotik, což vyžaduje podrobné studium vlivu selekčního tlaku antibiotik na citlivost bakteriálních agens analýzou epidemiologických dat, získaných jak z ambulantní, tak nemocniční praxe [38, 39].

I když je význam antibiotické politiky v nemocnicích stále nedoceněn, představuje základní nástroj k regulaci rezistence. Bylo publikováno sdělení [40], ve kterém program kontroly spotřeby antibiotik vedl ke snížení nákladů na antibiotika a zároveň ke zvýšení citlivosti bakterií k antibiotikům. Tyto programy kontroly používání antibiotik mají své výhody (snížení nákladů, snížení nežádoucích účinků antibiotik, lepší volba použitého antibiotika), ale i nevýhody (zvýšené náklady na administrativu, obtížné zavádění do nemocničního prostředí aj.). Naše sdělení může přispět k motivaci metodicky zvládnout takový typ analýz a dát tak do rukou antibiotických center další zdroj informací pro jejich práci.

S výsledky studie byli seznámeni pracovníci antibiotického střediska Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Ve fakultní nemocnici se buduje systém monitorování výskytu nejčastějších nosokomiálních patogenů, který je podkladem pro práci nemocničního hygienika, který na základě získaných poznatků provádí hygienická opatření na konkrétním pracovišti.

Jelikož víme, že vývoj rezistence a spotřeby úzce souvisí s místem a časem, bylo by zajímavé srovnat výsledky s jinými nemocnicemi. Toto bychom rádi provedli v další analýze, pokud bude zájem z pracovišť, která mají požadovaná data k dispozici.

Poděkování: Studie vznikla za podpory CEZ: J13/98: 11600004.

Literatura

1. Urli T, Perone G, Acquarolo A, Zappa S, Antonini B. Surveillance of infections acquired in intensive care: usefulness in clinical practice. *J Hosp Infect* 2002; 52: 130-135
2. Leverstein-van Hall MA, Fluit AC et al. Control of nosocomial multiresistant Enterobacteriaceae using temporary restrictive-antibiotic agent policy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 20: 785 – 791
3. Kolář M. Antibiotická léčba nosokomiálních infekcí. Triton; Praha 2000
4. Urbášková P. Rezistence bakterií k antibiotikům. Vybrané metody. Triton; Praha 1999
5. Garouste-Orgeas M, Marie O, Rouveau M, Villers S, Arlet G, Schlemmer B. Secondary carriage with multi-resistant *Acinetobacter* spp. and *Klebsiella pneumoniae* in an adult ICU population: relationship with nosocomial infections and mortality. *J Hosp Infect* 1996; 34: 279-289.
6. Raymond DP, Pelletier SJ, Crabtree TD, Evans HL, Pruet TL, Sawyer RG. Impact of antibiotic-resistant Gram-negative bacilli infections on outcome in hospitalized patients. *Crit Care Med* 2003; 31: 1035 – 1041

7. Waterer GW, Wundering RG. Increasing threat of Gram-negative bacteria. *Crit Care Med* 2001; 29: 75 – 81
8. Kolář M, Kurašová Y, Látal T, Hejnar P, Faber E, Raida L. Výskyt bakteriálních kmenů izolovaných u neutropenických pacientů a jejich rezistence k antibiotikům. *Čas Lék Čes* 1998; 137: 84-88
9. Mayer J. Infekce způsobené gram pozitivními baktériemi u onkologicky nemocných a význam vankomycinu v jejich léčbě. *Klin onkol* 1998; 11: 137-143
10. EORTC- International Antimicrobial Therapy Cooperative Group. Three antibiotic regimens in the treatment of infections in febrile granulocytopenic patients with cancer. *Am J Med* 1989; 86: 668-672
11. Nyč O, Kavan P, Lochmann O. Současné možnosti antimikrobní léčby onkologicky nemocného pacienta s febrilní neutropenií. *Remedia Klin. Mikrobiol* 1997; 1: 144-147
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Sixth international supplement, Nat Comm Clin Lab Standards, Villanova PA, 1995

13. Anatomical therapeutic chemical (ATC) index (including defined daily doses (DDDs) for plain substances) Oslo: WHO collaboration centre for drug statistics methodology, 1996
14. Bergman U, Christerson I, Jansson B, Wiholm BE. Auditing drug utilization by means of defined daily dose per bed-day. A methodological study, *Eur J Clin Pharmacol* 1980; 17: 183–187
15. Vlček J, Pozlerová E, Lonská V et al. Analýza vývoje rezistence gramnegativních tyčků k fluorochinolonům, amikacinu a třetí generaci cefalosporinů ve vztahu k jejich spotřebě ve fakultní nemocnici. *Remed Klin Mikrobiol* 1997; 1 (6): 176–180
16. Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB, Edelstein PH, Fishman NO. Extended-spectrum betalactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1162–1171
17. Lautenbach E, Strom BL, Bilker WB, Patel JB, Edelstein PH, Fishman NO. Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1288–1294
18. Sanders WE, Sanders ChC. Enterobacter spp. Pathogens poised to flourish at turn of the century. *Clin Microb Rev* 1997; 10 (2): 220–241
19. Morris AJ. Susceptibility patterns of bacterial isolates from intensive care and haematology/oncology patients in New Zealand. *New Zealand Medical Journal* 1997; 110: 187–189
20. Eldeen AS, Araj GF, Thulesius O. A comparison of antibiotic consumption and bacterial resistance patterns in Kuwait and Sweden. *AMPIS* 1998; (Suppl 3):56–62
21. Muscato JJ, Wilbur DW, Stout JJ, Fahrlander RA. An evaluation of the susceptibility patterns of gram-negative organisms isolated in cancer center with aminoglycoside usage. *Antimicrob Chemother* 1991; 27: 1–7
22. Peetersmans WE, Bobbaers HJ. Amicacin as first-choice aminoglycoside in a medical intensive care unit: a one year bacteriological surveillance study. *J Chemother* 1996; 8 (1): 17–24
23. Kolář M, Urbánek K, Látl T. Antibiotic selective pressure and development of bacterial resistance. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 17: 357–363
24. Gerding DN, Larson TA, Hughes RA, Weiler M, Shanholtzer C, Peterson LR. Aminoglycoside resistance and aminoglycoside usage: ten years of experience in one hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35 (7): 1284–1290
25. Mylotte JM. Gentamicin resistance among gram-negative bacillary blood isolates in a hospital with a long-term use of gentamicin. *Arch Intern Med* 1987; 147 (9): 1642–1644
26. Asensio A, Olivek A, Gonzales –Diego P. Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as a risk factor for colonization and infection. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 55–60
27. Mohr JF, Jones A, Zeichner-Ostrosky L, Wanger A, Tillotson G. Association between antibiotic use and changes in susceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* in a private, university-affiliated teaching hospital: a 8-year- experience: 1995–2002. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 24:346–351
28. Patterson JE, Hardin TC, Kelly CA, Garcia RC, Jorgensen JH. Association of antibiotic utilization measures and control of multiple-drug resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000; 21: 455–458
29. Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? *Clin Infect Dis* 2002; 34: 634–640
30. Drlica K. The mutant selection window and antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 11–17
31. Li L, Lim CK: A novel large plasmid carrying multiple beta-lactam resistance genes isolated from a *Klebsiella pneumoniae* strain. *J. Appl. Microbiol.*, 2000; 88: 1–14
32. Traub WH, Schwarze I, Bauer D. Nosocomial outbreak of cross-infection due to multiple-antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae*: characterization of the strain and antibiotic susceptibility studies. *Chemotherapy* 2000; 46: 1–14
33. Ardanuy C, Linares J, Dominguez MA, Hernandez-Alles S, Benedi VJ, Martinez-Martinez L. Outer membrane profiles of clonally related *Klebsiella pneumoniae* isolates from clinical samples and activities of cephalosporins and carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 1636–1640
34. Ahmad M, Urban C, Mariano N. Clinical characteristics and molecular epidemiology associated with imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 352–355.
35. Shah AA, Hasan F, Ahmed S, Hamed A: Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of Gram-negative bacilli producing extended-spectrum β -lactamases. *Research in Microbiology* 2004; 155: 409–421
36. Zemelman C, Bello H, Domínguez M, Gonzales G, Mella S, Zemelman R. Activity of cefepime, cefotaxime, ceftazidime, and aztreonam against extended-spectrum- producing isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from Chilean hospitals. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2001; 40: 41–43
37. Čermák P, Žabka L, Šlezarová P, Škrabková Z. Zlom ve vývoji rezistence *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa* izolovaných na jednotce intenzivní péče neurochirurgické kliniky FN v Hradci Králové v letech 1995–1999. *Klin mikrobiol inf* 2001; 7 (2). 43–46
38. Kolář M, Látl T. Implementation of a practical antibiotic policy in the Czech Republic. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20: 440–443
39. Couper MR. Strategies for the rational use of antimicrobials. *Clin Infect Dis* 1997; 24 (Suppl 1): 154–156
40. White AC, Atmar RL, Wilson J et al. Effects on requiring prior authorization for selected antimicrobials: expenditures, susceptibilities and clinical outcomes. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 230–239