

Türkiye’de ilk kez NDM-1 karbapenemaz üreten
ve IncI2, IncA/C ile IncY plazmitlerini taşıyan
Escherichia coli ST471 infeksiyonu

Mahir Kapmaz¹, Fatma Erdem², Ayham Abulaila², Erhan Yeniaras³, Oral Öncül⁴, Zerrin Aktaş²

¹Yenibosna Safa Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İstanbul

³Yenibosna Safa Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon, İstanbul

⁴İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, İstanbul

KLİMİK 2016 Kurultayı. Sözlü Sunum

9-13 Mart 2016, Antalya

Giriş

NDM'nin şu ana kadar 16 varyantı tanımlıdır. En yaygın olanı NDM-1..

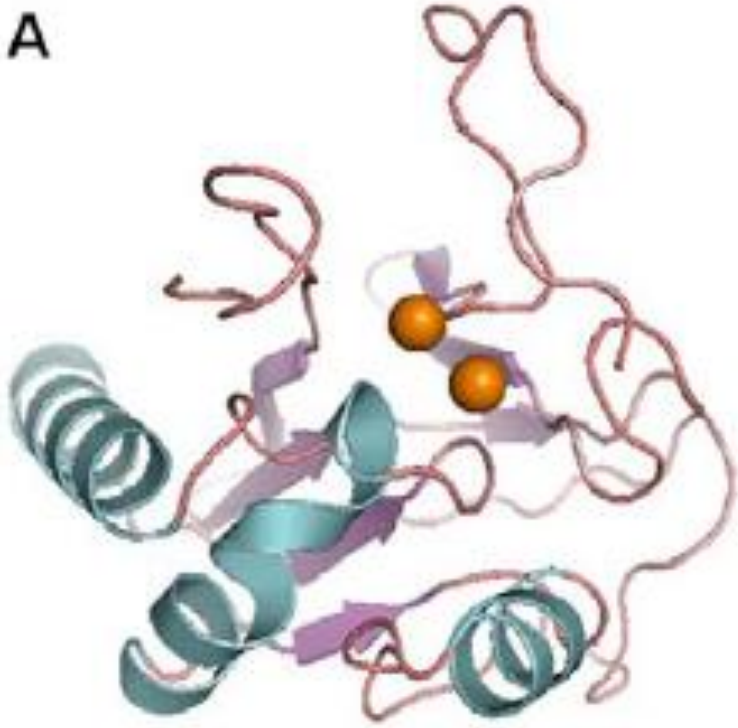
<http://www.lahey.org/studies/other.asp>

NDM-1 üreten bakteri

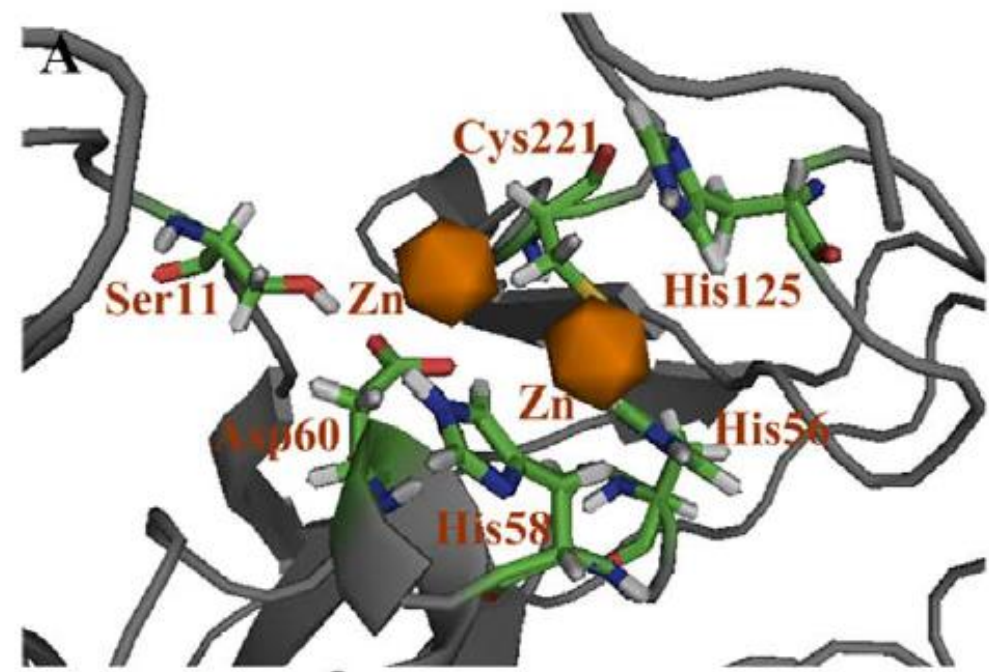


ESBL,
ampC beta-laktamaz,
diğer karbapenemazlar
(OXA-48, KPC, VIM..)
16S RNA metilaz,
esterazlar da üretebilir

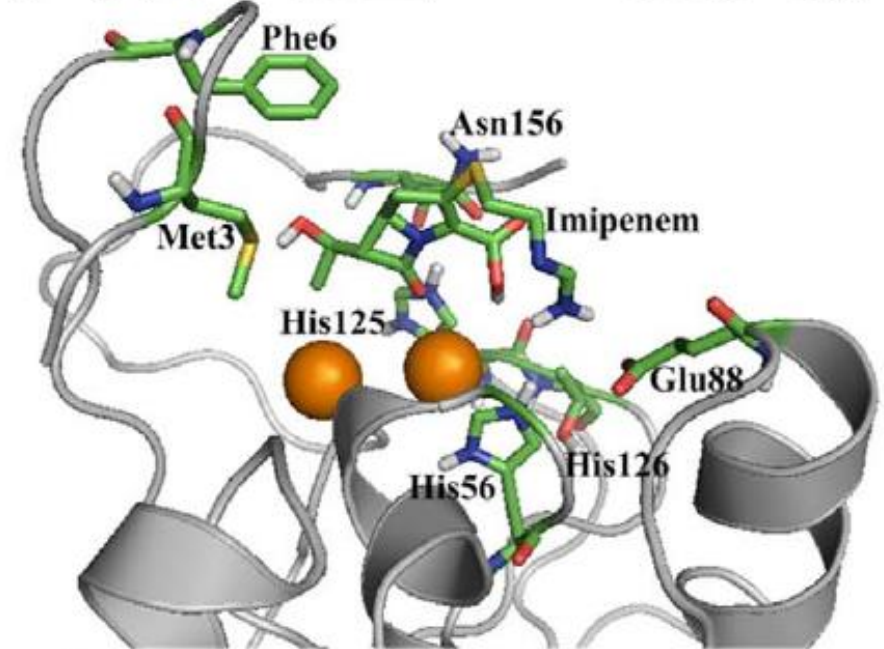
A



A



B



Klas A, C, D :..... Aktif bölgede SERİN taşır
Klas B :..... ÇİNKÖ taşır (metalik beta-laktamazlar)

New Delhi Metallo-beta-lactamase around the world: An eReview using Google Maps

M Berrazeg^{1,2}, S M Diene¹, L Medjahed³, P Parola¹, M Drissl², D Raoult¹, J M Rolain (jean-marc.rolain@univ-amu.fr)¹

Euro Surveill. 2014;19(20)

*BL*NDM'nin *Acinetobacter*'den enterik
çomaklara transfer olduğuna dair kuvvetli
varsayımlar mevcut

Dortet L, Biomed Res Int. 2014

Bacteria producing New Delhi Metallo-beta-lactamase-1
enzyme reported worldwide by frequency,
1 December 2009 - 31 December 2012 (n=950)

Species	Number of isolates	Percentage of total
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	359	37.8
<i>Escherichia coli</i>	268	28.2
<i>Enterobacter cloacae</i>	52	5.5
<i>Citrobacter</i> spp.	44	4.7
<i>Acinetobacter baumannii</i>	36	3.8
<i>Acinetobacter pittii</i>	27	2.8
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	20	2.1
<i>Acinetobacter</i> sp.	20	2.1
Non-determined Enterobacteriaceae	15	1.6
<i>Klebsiella</i> spp.	10	1.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	0.9
<i>Moraxella</i> spp.	8	0.8
<i>Morganella morganii</i>	8	0.8
<i>Comamonas testosteroni</i>	7	0.7
<i>Enterobacter</i> spp.	7	0.7
<i>Pseudomonas</i> sp.	7	0.7
<i>Providencia rettgeri</i>	6	0.6

Worldwide Dissemination of the NDM-Type Carbapenemases in Gram-Negative Bacteria

Laurent Dortet,¹ Laurent Poirel,^{1,2} and Patrice Nordmann^{1,2}

BioMed Research International, 2014

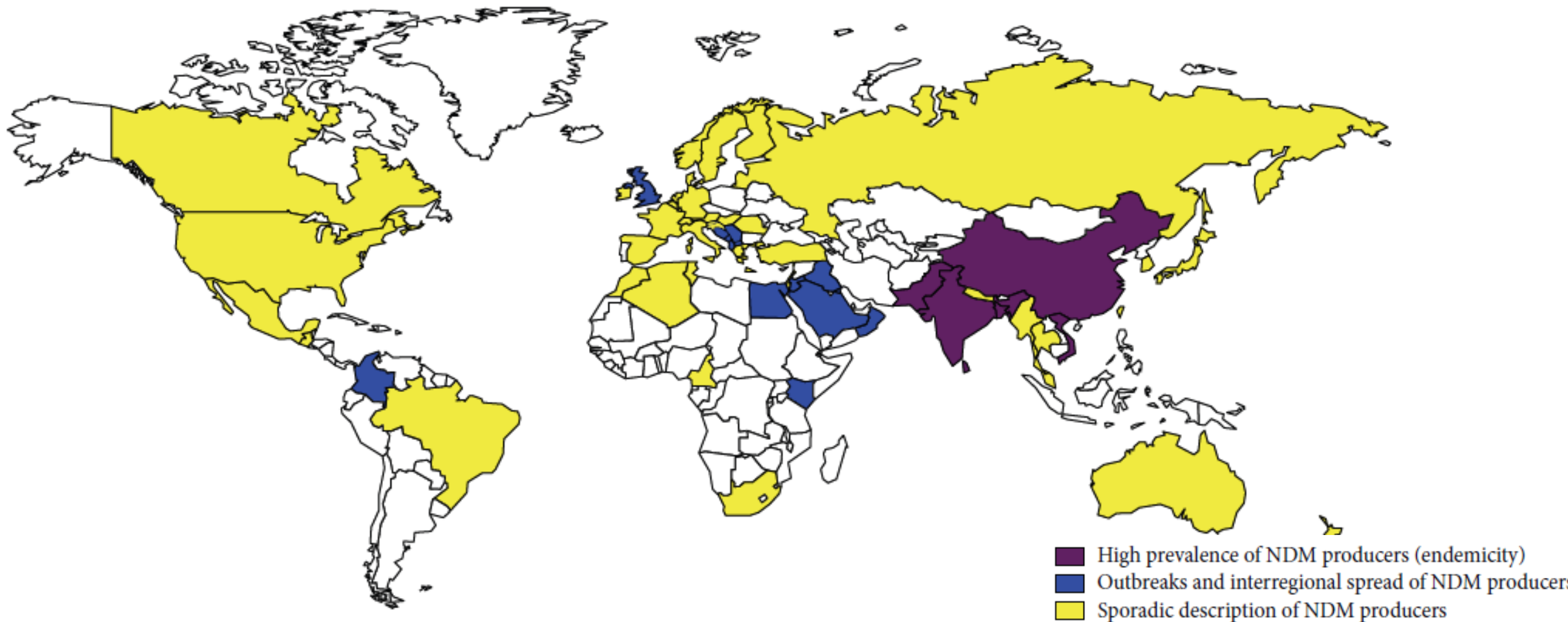




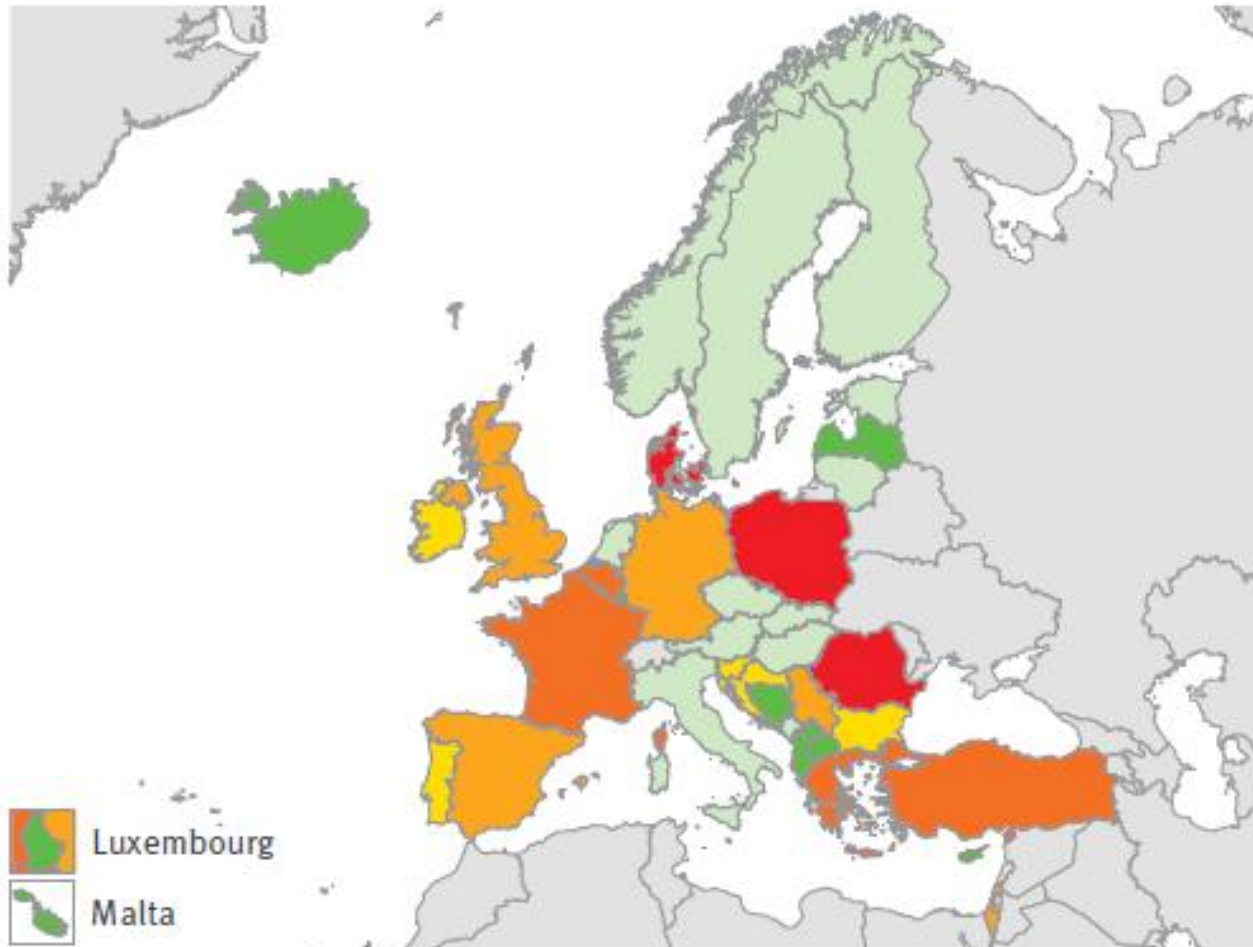
Photo: Pankaj Nangia/Bloomberg

NDM-1 sadece hasta örneklerinde değil, özellikle Yeni Delhi'de musluk suyu ve kanalizasyon sistemlerinde de bulunmuş

Hindistan'da toplumda rektal taşıyıcılık %20'lere kadar ulaşmakta

Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015

C. New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM)



Epidemiological stages, 2014-2015

- | | |
|---------------------------------------|--|
| ■ Countries not participating | ■ Sporadic hospital outbreaks (Stage 2b) |
| ■ No case reported (Stage 0) | ■ Regional spread (Stage 3) |
| ■ Sporadic occurrence (Stage 1) | ■ Inter-regional spread (Stage 4) |
| ■ Single hospital outbreak (Stage 2a) | ■ Endemic situation (Stage 5) |

Euro Surveill. 2015;20(45)

Bu çalışmada
Türkiye’de (bildiğimiz kadarıyla) ilk defa
*bla*_{NDM-1} genine sahip
iki *Escherichia coli* suşu
bildirilmektedir

Yöntem

Antibiyotik duyarlılığı
Disk difüzyonu ve Etest ile

Karbapenemaz aktivitesi
MHT ve Blue-Carba ile

PCR ile

*bla*_{KPC},

*bla*_{OXA-48},

*bla*_{NDM-1},

*bla*_{VIM},

*bla*_{IMP},

*bla*_{CTX-M},

*bla*_{TEM},

*bla*_{SHV},

16S rRNA metilaz
Rmt genleri

Plazmidik kinolon ve AmpC genleri
Multipleks PCR ile

Plazmid analizi

PBRT (DİATHEVA®) ile

PBRT kit - *PCR based replicon typing*

Klonal ilişki
PFGE ve MLST (Pasteur Enst.) ile

Birinci Olgu

Akciğer metastazı olan 82 yaşında Türk kadın hasta solunum sıkıntısı ile YBÜ'mize alındı.

Masif plevral efüzyon ve vena cava süperior sendromu mevcuttu

Yurtdışı öyküsü yoktu; giriş kültürlerinde üreme olmadı.

Mart 2014'te, 22.günde, sondadan alınan idrar kültüründe karbapeneme dirençli *E.coli* 1626 üredi. Komplike İYE tanısı ile imipenem – kolistin başlandı.

25. günde çoklu organ yetmezliği ve şok tablosuyla öldü

İkinci olgu

Doksan yaşında Türk kadın hasta Nisan 2014'de YBÜ'müze alındı.

SVO sekeli, DM, HT, KKY, anemi saptandı.

Yurtdışı veya hospitalizasyon öyküsü yoktu.

Sekizinci gününde sondadan alınan idrar kültüründe karbapeneme dirençli *E.coli* 1824 üredi.

Asemptomatik bakteriüri düşünülen hasta 23. gününde antibiyotik verilmeden taburcu edildi

Ertapenem MİK	
<i>E. coli</i> 1626	<i>E. coli</i> 1824
> 32 µg/ml	> 32 µg/ml

Seftriakson MİK	
<i>E. coli</i> 1626	<i>E. coli</i> 1824
> 32 µg/ml	> 32 µg/ml

Meropenem MİK	
<i>E. coli</i> 1626	<i>E. coli</i> 1824
16 µg/ml	24 µg/ml

İmipenem MİK	
<i>E. coli</i> 1626	<i>E. coli</i> 1824
>16 µg/ml	> 16 µg/ml



Ofloksasin MİK

***E. coli* 1626**

> 32 µg/ml

***E. coli* 1824**

> 32 µg/ml

Siprofloksasin MİK

***E. coli* 1626**

> 4 µg/ml

***E. coli* 1824**

> 4µg/ml

Amikasin MİK

***E. coli* 1626**

>256 µg/ml

***E. coli* 1824**

>256 µg/ml

Gentamisin MİK

***E. coli* 1626**

> 16 µg/ml

***E. coli* 1824**

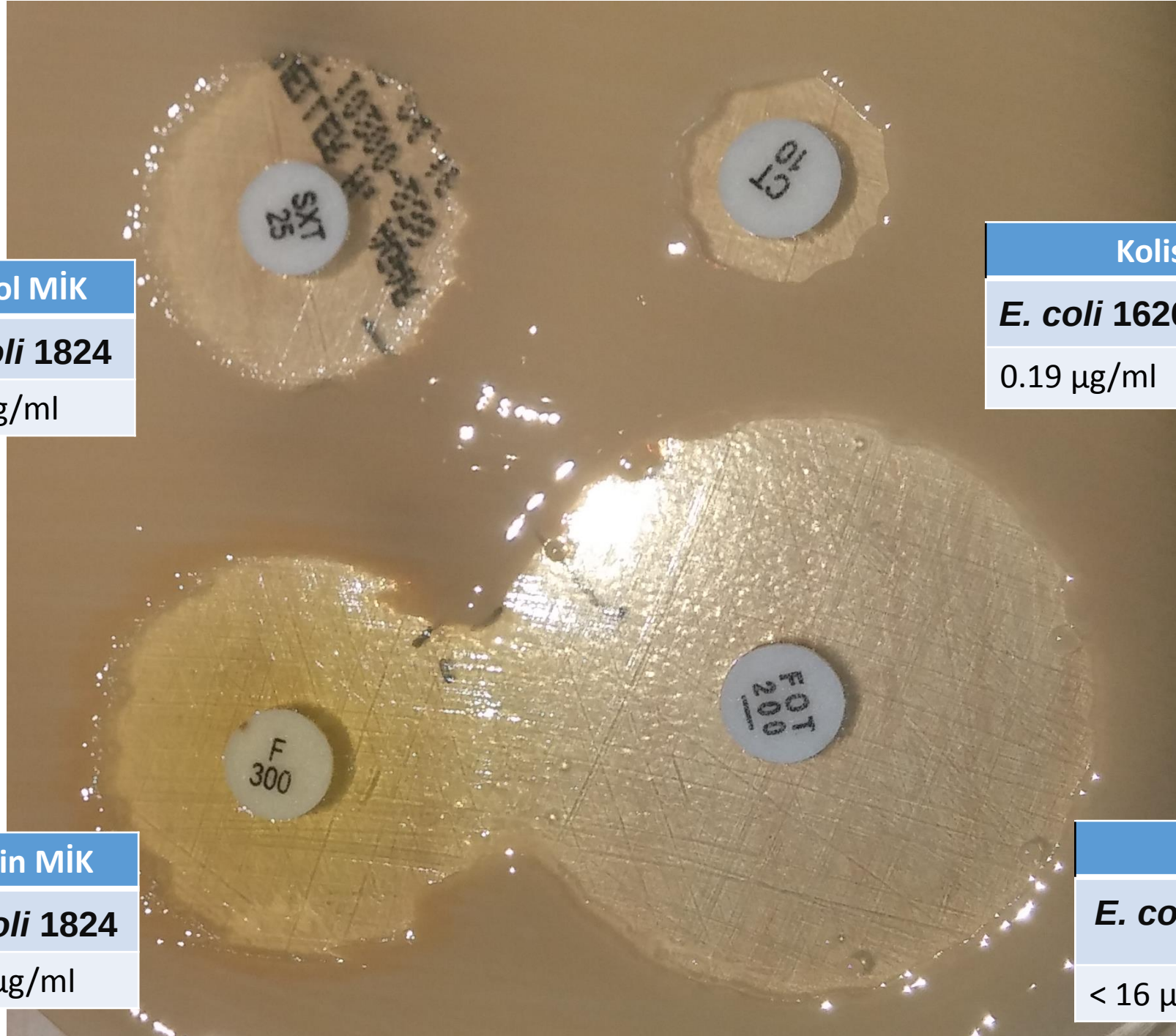
> 16 µg/ml

Ko-trimokzasol MİK	
<i>E. coli</i> 1626	<i>E. coli</i> 1824
< 20µg/ml	< 20µg/ml

Kolistin MİK	
<i>E. coli</i> 1626	<i>E. coli</i> 1824
0.19 µg/ml	0.19 µg/ml

Nitrofurantoin MİK	
<i>E. coli</i> 1626	<i>E. coli</i> 1824
< 16 µg/ml	< 16 µg/ml

Fosfomisin MİK	
<i>E. coli</i> 1626	<i>E. coli</i> 1824
< 16 µg/ml	< 16 µg/ml



E. coli 1626

E. coli 1824

PCR	NDM-1 CTX-M-9 grubu CTX-M-15 TEM, SHV RmtC ...	NDM-1 CTX-M-9 grubu ... TEM, SHV RmtC CIT grubu
PBRT ile plazmid analizi	I2, Y, A/C	I2, Y, A/C
PFGE	A	A
MLST	ST471	ST471

YBÜ kayıtlarımız tarandı:

1----- Ocak 2014'te bir Türk hasta Bulgaristan'da hospitalizasyon sonrası YBÜ'mize alınmış ve septik şok ile 10.günde ölmüştü. Yara kültüründe karbapeneme dirençli *E.coli*, kan kültüründe *E.coli* üremişti.

2----- Ayrıca o tarihte hastanemize Kuzey Afrika'dan hasta kabulü yapılıyordu

Outbreak Caused by NDM-1- and RmtB-Producing *Escherichia coli* in Bulgaria

Laurent Poirel,^{a,b} Encho Savov,^c Arzu Nazli,^a Angelina Trifonova,^c Iva Todorova,^c Ivanka Gergova,^c Patrice Nordmann^{a,b}

Medical and Molecular Microbiology Unit, Department of Medicine, Faculty of Science, University of Fribourg, Fribourg, Switzerland^a; INSERM U914, South-Paris Medical School, K.-Bicêtre, France^b; Laboratory of Microbiology, Military Medical Academy, Sofia, Bulgaria^c

Twelve consecutive carbapenem-resistant *Escherichia coli* isolates were recovered from patients (infection or colonization) hospitalized between March and September 2012 in different units at a hospital in Bulgaria. They all produced the carbapenemase NDM-1 and the extended-spectrum- β -lactamase CTX-M-15, together with the 16S rRNA methylase RmtB, conferring high-level resistance to all aminoglycosides. All those isolates were clonally related and belonged to the same sequence type, ST101. In addition to being the first to identify NDM-producing isolates in Bulgaria, this is the very first study reporting an outbreak of NDM-1-producing *E. coli* in the world.

Increasing prevalence and dissemination of NDM-1 metallo- β -lactamase in India: data from the SMART study (2009)

Christine Lascols^{1*}, Meredith Hackel¹, Steven H. Marshall², Andrea M. Hujer³, Sam Bouchillon¹, Robert Badal¹, Daryl Hoban¹ and Robert A. Bonomo^{2–5}

¹International Health Management Associates, Inc., Schaumburg, IL 60173, USA; ²Research Service, Louis Stokes Cleveland Department of Veterans Affairs Medical Center, Cleveland, OH 44106, USA; ³Department of Medicine, Case Western Reserve University School of Medicine, Cleveland, OH 44106, USA; ⁴Pharmacology, Case Western Reserve University School of Medicine, Cleveland, OH 44106, USA; ⁵Molecular Biology and Microbiology, Case Western Reserve University School of Medicine, Cleveland, OH 44106, USA

<i>E. coli</i> Ah8.71	ST88	3	>64	>128	>128	>32	>4	8	>32	>2	1	0.25	CTX-M-15	CMY-2	—
<i>E. coli</i> Ah8.73	ST88	3	>64	>128	>128	>32	>4	>8	>32	>2	1	0.25	CTX-M-15	CMY-2	—
<i>E. coli</i> Ah8.74	ST88	3	>64	>128	>128	>32	>4	8	>32	>2	1	0.25	—	—	—
<i>E. coli</i> Ah8.75	ST471	3	>64	>128	>128	>32	>4	8	>32	>2	1	0.25	CTX-M-15	CMY-2	—
<i>E. coli</i> Ch8.72	ST88	4	>64	>128	>128	>32	>4	8	>32	>2	1	0.25	CTX-M-15	CMY-2	—
<i>E. coli</i> Ch8.70	ST2	4	>64	>128	>128	>32	>4	8	>32	>2	1	0.25	CTX-M-15	CMY-2	—
<i>E. coli</i> Ch8.68	ST44	4	>64	>128	>128	>32	>4	8	>32	>2	2	0.12	CTX-M-15	CMY-2	—
<i>E. coli</i> Ch8.69	ST501	4	>64	>128	>128	>32	>4	4	>32	>2	2	0.12	CTX-M-15	CMY-2	—

E.coli ST471 başka nerede izole edilmiş?

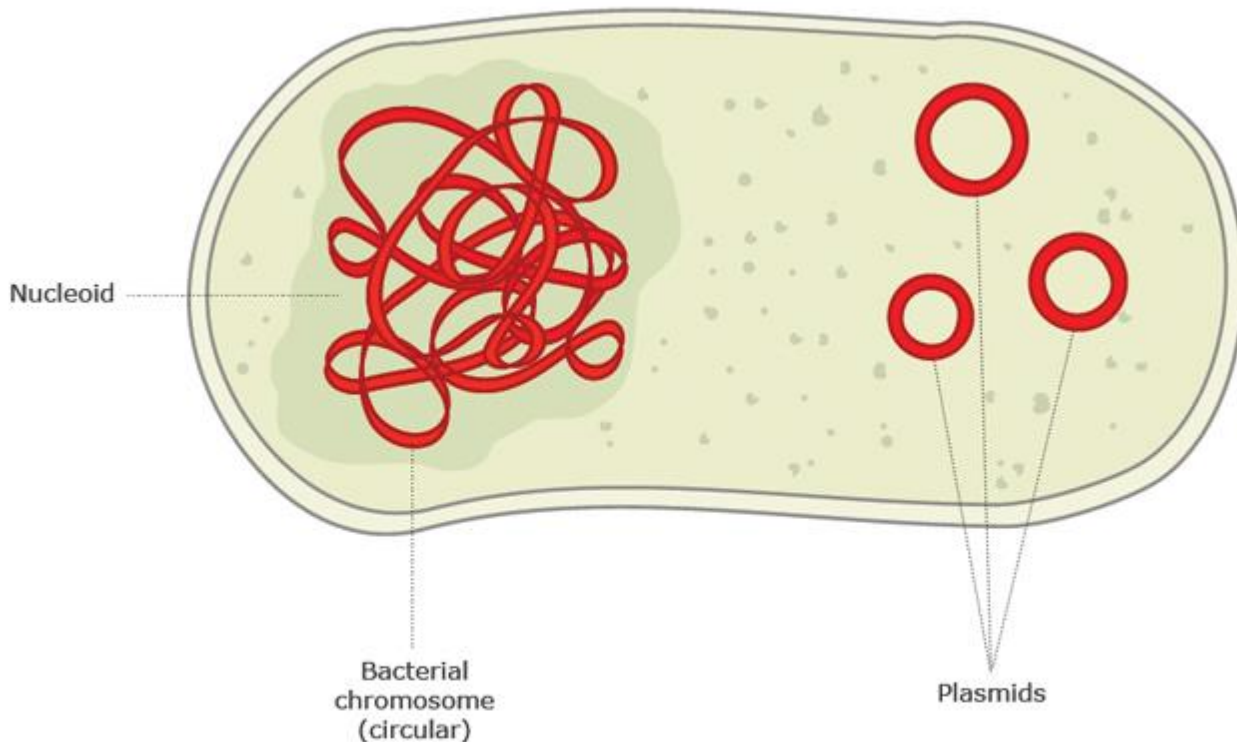
Kuzeydoğu Cezayir'deki tavuk çiftliklerinde tarama yapılmış



(sahipleri ve o bölgede hastanede bulunan hastalar dahil olmak üzere)

E.coli ST471 tavuk kommensal bakterilerde ve insan patojenlerinde izole edilmiştir

- Her iki izolat da IncA/C, IncI2 ve IncY plazmitlerini taşıyordu.



Incompatibility: Konjugasyon sırasında iki plazmidin stabil bir şekilde ilerleyememesi.

Yani sadece compatible olan plazmid kurtulmakta.

(*Enterobacteriaceae*'de 27 Incompatibility grubu (+))

Carattoli, AAC, 2009

MINIREVIEW

Resistance Plasmid Families in *Enterobacteriaceae*[▽]

Alessandra Carattoli*

Department of Infectious, Parasitic and Immune-Mediated Diseases, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, June 2009, p. 2227–2238

Pek çok plazmid hücre bölünmesi sırasında plazmid taşımayan yavru hücreleri öldürecek sistemlere sahiptir.

*Prof. Carattoli plazmidleri yaşayan organizma kabul ediyor. NEDEN?
Çünkü plazmidlerin bireysel bir evrim hikayesi var; sürekli bir soya sahip*

Resistance Plasmid Families in *Enterobacteriaceae*[▽]

Alessandra Carattoli*

Department of Infectious, Parasitic and Immune-Mediated Diseases, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, June 2009, p. 2227–2238

IncFII..... (dar bir konak çeşitliliği var)

IncA/C, IncL/M ve IncI1..... (geniş konak çeşitliliği)



Epidemik direnç plazmidleri

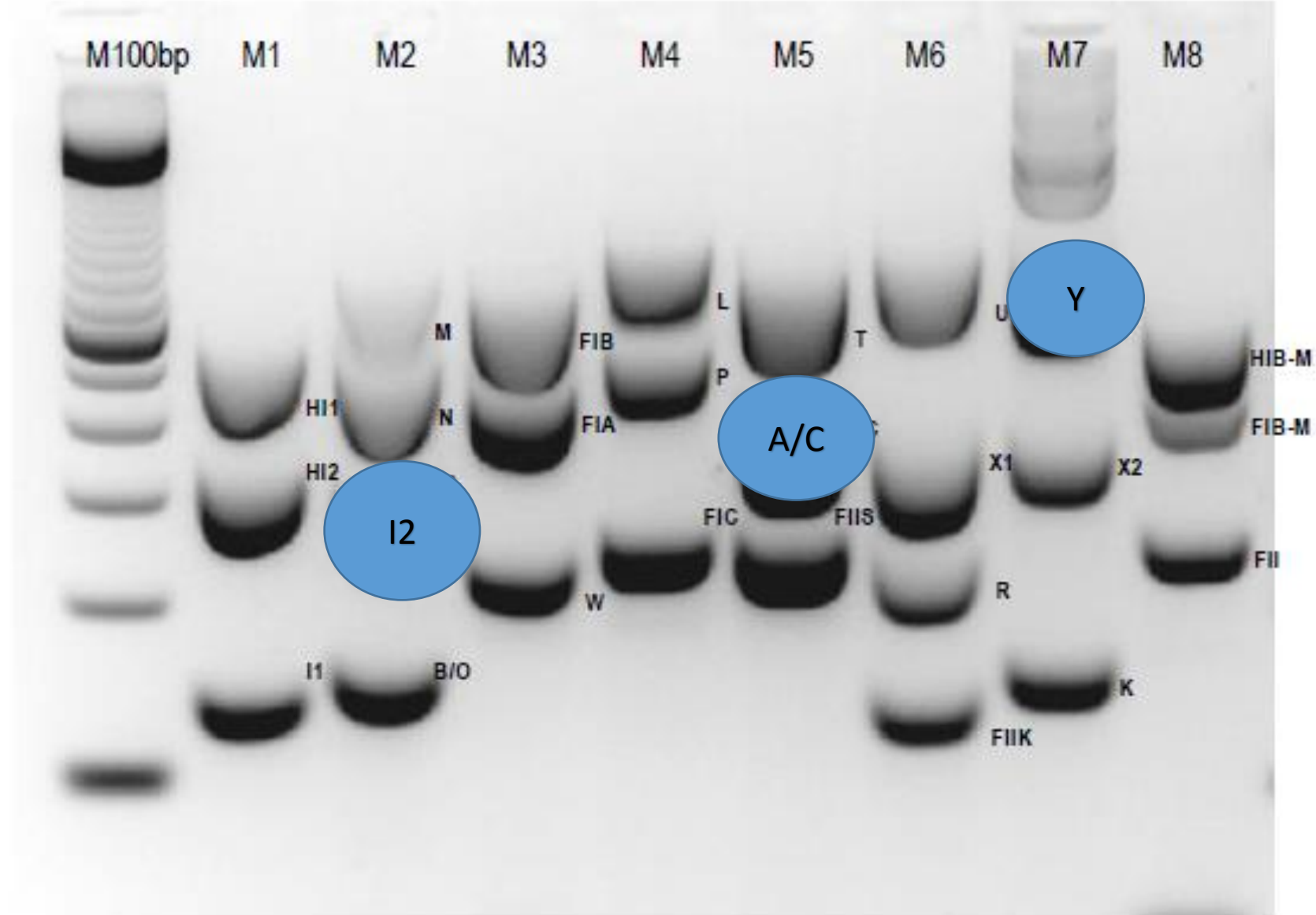
İnfeksiyonla mücadelede yeni bir yaklaşım



Anti-plazmid yaklaşım

(yani plazmidleri elimine etmek) !!!

İzolatlarımızın taşıdığı plazmidler



SONUÇ

Türkiye'den şu ana kadar NDM-1 üreten

K. pneumoniae (ilk vaka 2012'de Bağdatlı bir hasta),

Laurent Poirel, AAC, 2012

Acinetobacter baumannii (2006 yılına ait bir izolatta)

Ignasi Roca et al, J Antimicrob Chemother, 2014

Enterobacter cloacae bildirilmiştir (2013'e ait izolat)

Laurent Poirel, AAC, 2014

Ancak bildiğimiz kadarıyla henüz NDM-1 pozitif *E. coli* bildirilmemiştir

SONUÇ

Bu suşlar neden YBÜ'müzden birden kayboldu?

Temas önlemleri !

Şans !

NDM-1 üreten *E.coli*, NDM-1 üreten *Klebsiella pneumoniae*'ye kıyasla hastanelerde daha az yayılıyor !!

Nordmann P, Dortet L, Poirel L. 2014. Infections due to NDM-1 Producers. In: Ergonul O, Can F, Akova M, Madoff L, eds. *Emerging Infectious Diseases: Clinical Case Studies*. 1st ed. London: Academic Press, Elsevier; 273-293

SONUÇ

IncI2, IncA/C ve IncY plazmitleri insan ve köpeklerdeki *E. coli* izolatlarında ve *Salmonella* cinsinde rapor edilmiştir.

Aktas Z et al. Int J Antimicrob Agents. 2007

İzolatlarımız hayvanlar ve insanlar arasında epidemiyolojik açıdan bağlantılı olabilir
(*nadir plazmitler ve konak çeşitliliği*)

Dirençli bakterilerin genetik özelliklerinin belirlenmesi epidemiyolojik ve evrimsel açıdan önemlidir
(*Sayı az da olsa*)

Çevre örneklerini de içeren geniş çaplı sürveyans çalışmalarına ihtiyaç vardır

SON SÖZ

İzolatlarımızdaki nadir plazmid Inc grupları,
bu suşların ithal değil yerli (*authochtonous*) olduğunu
düşündürmekte

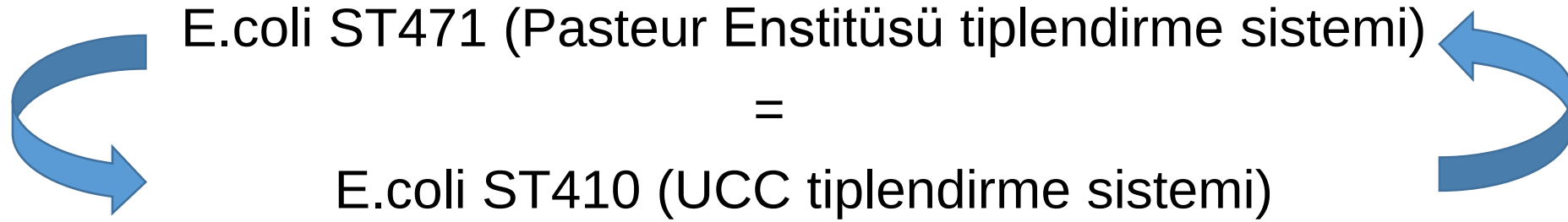


*Sen büyüdüğün vakit çocuğum,
Yine çiçekler açacak dallarda.
Dallarda açan çiçekler gibi,
Yine çocuklar uyuyacak masallarda*

Fazıl Hüsnü Dağlarca

Resim: Gündüz Ağayev

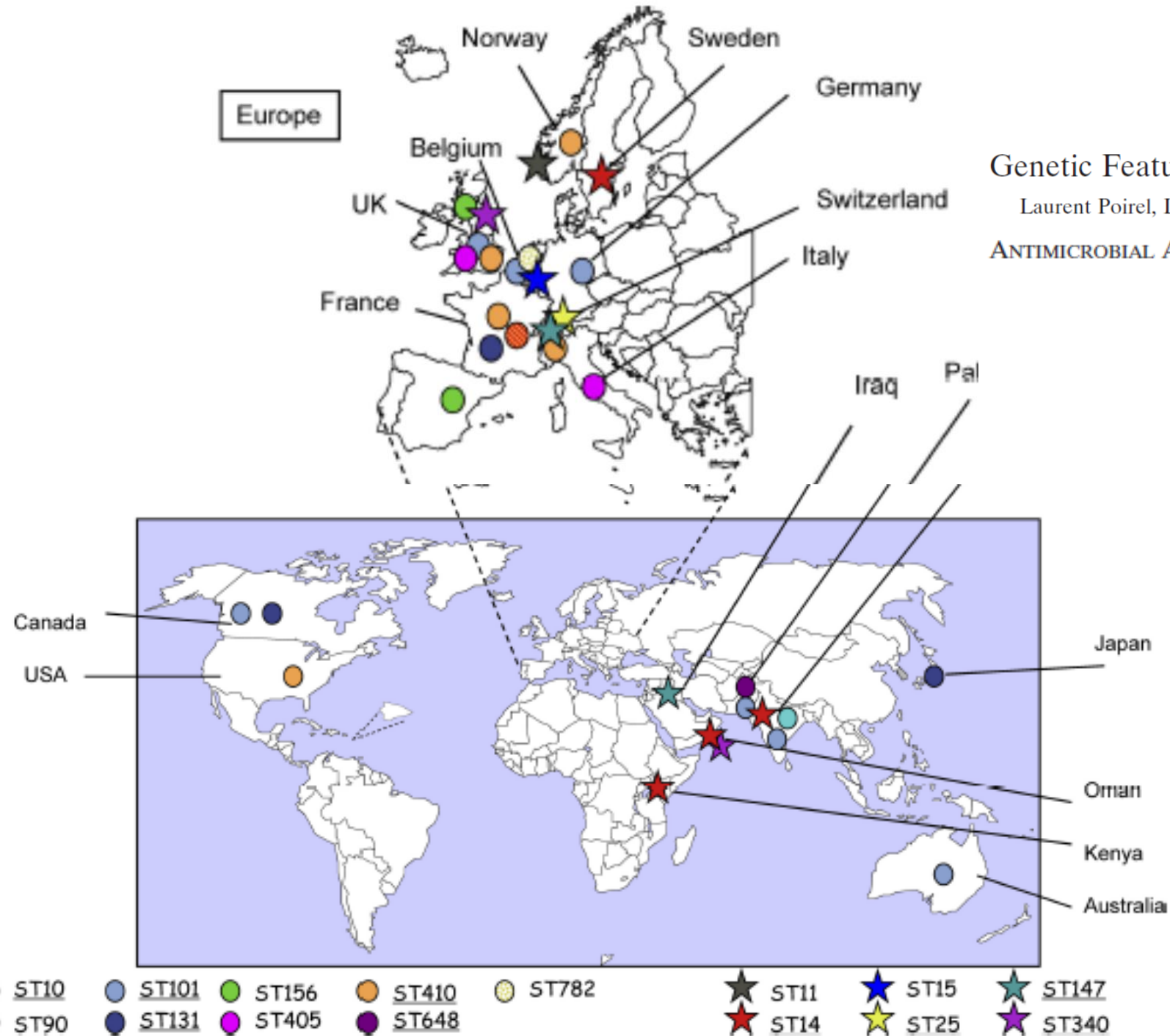
İlginç olarak



E.coli ST410 ise hayvan, insan ve etlerde izole edilmiş olan dünya çapında bir tip.
NDM-1 üreten E.coli ST410 bildirilmiş

Ma L et al. BMC Infect Dis, 2013

Fiatt J et al. Antimicrob Agents Chemother, 2014



Genetic Features of *bla*_{NDM-1}-Positive *Enterobacteriaceae*[▽]

Laurent Poirel, Laurent Dortet, Sandrine Bernabeu, and Patrice Nordmann*

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Nov. 2011, p. 5403–5407

Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015

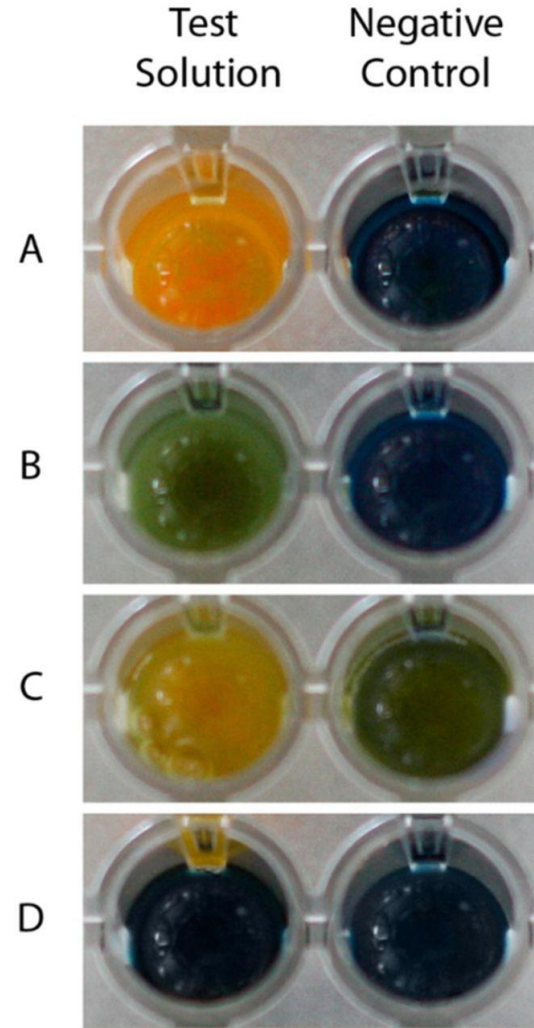
Euro Surveill. 2015;20(45)

Country	Epidemiological stage for the spread of CPE by type of carbapenemase									
	KPC		OXA48		VIM		NDM		IMP	
	2013 ^a	2014–2015 ^b	2013 ^a	2014–2015 ^b	2013 ^a	2014–2015 ^b	2013 ^a	2014–2015 ^b	2013 ^a	2014–2015 ^b
Turkey	2b	0	1	5	1	2b	1	3	1	1

Epidemiological stages, 2014-2015

- Countries not participating
- No case reported (Stage 0)
- Sporadic occurrence (Stage 1)
- Single hospital outbreak (Stage 2a)
- Sporadic hospital outbreaks (Stage 2b)
- Regional spread (Stage 3)
- Inter-regional spread (Stage 4)
- Endemic situation (Stage 5)

Karbapenemaz üreten bakteriler (A, B, C) ile üretmeyen bakteriye (D) ait örnek sonuçlar (Sol) ve negatif kontrol solüsyonları (Sağ)



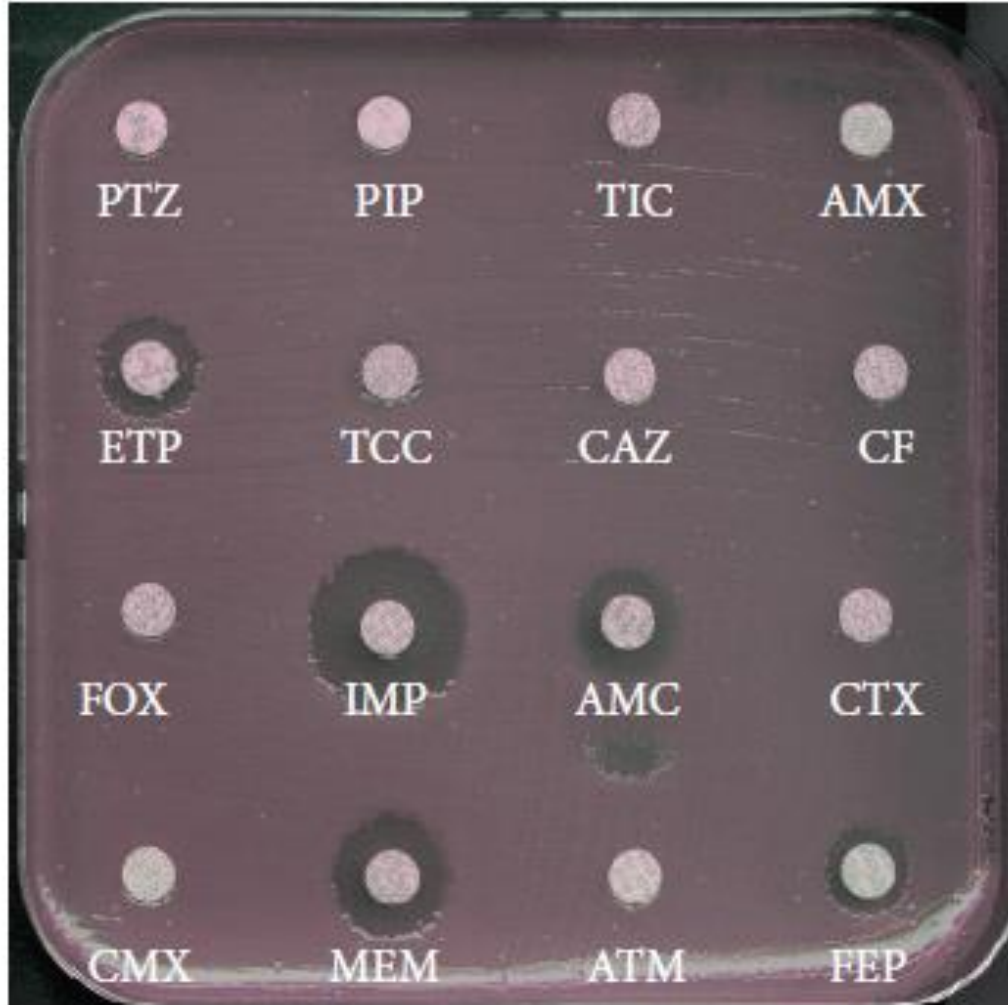
J. Pires et al. J. Clin. Microbiol. 2013;51:4281-4283

Journal of Clinical Microbiology

NDM-1 üreten bakteri



Kolistin, fosfomisin, tigesikline duyarlı



Antibiyotikler	MİNİMAL İNHİBİTÖR KONSANTRASYONU (µg/mL)	
	<i>E. coli</i> 1626	<i>E. coli</i> 1824
Tigesiklin	0.38	0.38
Kolistin	0.19	0.19
Doripenem	8	>32
Ertapenem	>32	>32
Meropenem	16	24
İmipenem	>16	>16
Amoksilin/klavulanik asit	>256	>256
Seftriakson	>32	>32

Antibiyotikler	MİNİMAL İNHİBİTÖR KONSANTRASYONU (µg/mL)	
	<i>E. coli</i> 1626	<i>E. coli</i> 1824
Seftazidim/Seftazidim+klavulanik asit	>32/4	>32/4
Sefotaksim/Sefotaksim+klavulanik asit	>16/>1	>16/>1
Amikasin	>256	>256
Tobramisin	512	96
Levofloksasin	>32	>32
Ofloksasin	>32	>32
Ko-trimoksazol	<20	<20
Nitrofurantoin	<16	<16
Fosfomisin	<16	<16