

Gram Negatif Bakterilerde Karbapenemaz Enzimlerinin Saptanmasında OXA-48 K-Se T, Blue-Carba Test ve PCR Testlerinin Etkinliğinin Karşılaştırılması

Ayham Abulaila, **Fatma Erdem**, Zerrin Aktaş, Oral Öncül
İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi

KARBAPENEMAZLAR



- Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* cinsi bakterilerde karbapenemaz üreten suşlar dünyada küresel bir sorun haline gelmiştir
- Gram negatif bakterilerle ilgili infeksiyonlarda mortalite oranları giderek artan bir oranda bildirilmektedir.
- Dünyada Enterobacteriaceae ailesinde en yaygın olarak saptanan karbapenemazlar; KPC, VIM, IMP, NDM ve OXA-48 enzimleridir.
- OXA-48 enzimin günümüze kadar 11 türevi bildirilmiştir.
(OXA-48, OXA-48b, OXA-54, OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-199, OXA-204, OXA-232, OXA-242, and OXA-247)

Patron A, AAC-2011-55-4896.

Dortel L, AAC-2015 doi.10/1128/AAC0.1128AC.08.05058.-14

KARBAPENEMAZLAR



- OXA-48 enzimi üreten bakteriler ülkemizde endemik hale gelmiştir.
- Son 1-2 yıldır da NDM pozitif izolatların sayısında çok hızlı bir artış olduğu gözlenmektedir.
- Her iki enzimi üreten suşlarla salgınlar bildirilmektedir.
- Diğer enzimlerle ilgili olarak az sayıda da olsa bildirimler vardır.
- Karbapenemaz üreten suşların erken tespit edilmesi
- Karbapenem direnç genlerini taşıyan bakterilerle
Kolonize veya infekte hastaların erken tespiti
İnfeksiyon kontrol önlemleri ve aktif sürveyans açısından önemlidir

FENOTİPİK TARAMA TESTLERİ



- Modified Hodge test (MHT)
- Spektrofotometrik testler
- CarbaNP test (enzim ekstraktı)
- **Blue-Carba Test (direkt koloniden)**
- Kombinasyon disk testleri (boronik asit, EDTA veya dipikolinik asit içeren diskler)
- Kromojenik agarlar
- Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry
- **OXA-48 K-SeT Testi ve KPC K-SeT**

AMAÇ



Karbapenemlere dirençli Enterobacteriaceae ailesindeki bakterilerde karbapenemaz enzimlerinin üretimini saptamaktır.

Karbapenemlere direnç saptanan Enterobacteriaceae ailesine ait suşlarda **karbapenemaz aktiviteleri**

- **Yeni bir test olan “Lateral flow İmmünokromatografik Test (OXA-48 K-Se T test)”**
- **Blue-Carba testleri**
- Kullanılarak araştırılmış ve performansları PCR testi ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM



Çeşitli klinik örneklerden izole edilen, Karbapenemlere dirençli

Toplam 60 suş test edilmiştir.

➤ ***Klebsiella pneumoniae* (49)**

➤ ***Enterobacter cloacae* (5)**

➤ ***Escherichia coli* (5)**

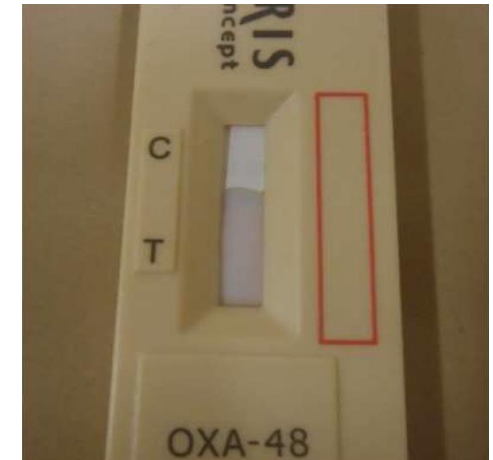
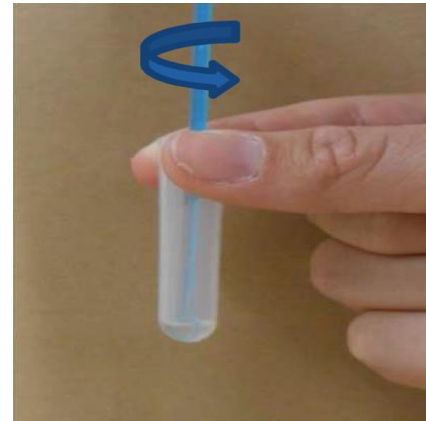
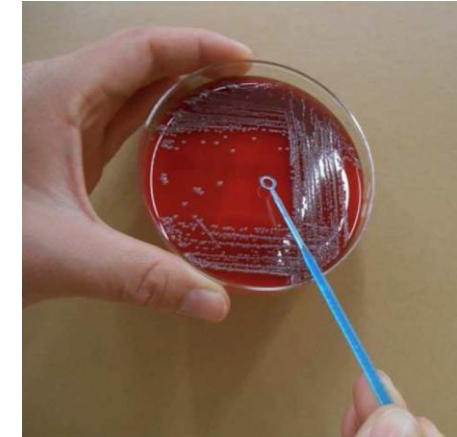
➤ ***Citrobacter freundii* (1)**

GEN	SUŞ SAYISI
OXA-48	47
NDM-1	6
KPC-1	1
IMP-1	1
VIM-2	1
VIM-4	1
GES-1	1
OXA-51	1
OXA23+IMP-1	1

OXA-48 K-Set

Yeni İmmunokromotografik Yöntem

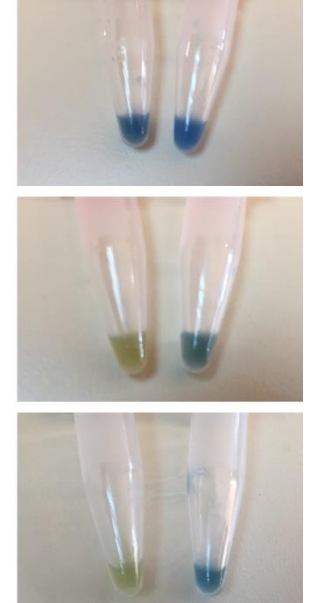
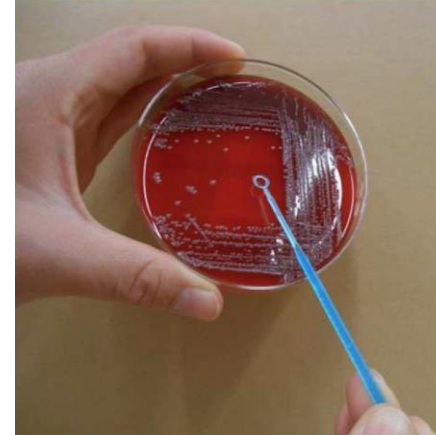
OXA-48
OXA-162
OXA-181
OXA-204
OXA-232
Oxa-244



BLUE-CARBA TESTİ



- 24 saatlik saf bakteri kültüründen bir öze dolusu (10 µl) saf bakteri
- 100 µl Blue-Carba Test solüsyonunda (0.04% bromotimol mavisi, 0.1 mm/L ZnSO₄ and 3 mg/L imipenem, pH 7) süspanse edilir
- 37 °C' de çalkalamalı etüvde 2 saat inkübe edilir.
- Kontrol olarak antibiyotik içermeyen aynı süspansiyon kullanılır.
- Test tüplerinde **renk değişikliği** saptanması
Pozitif sonuç olarak değerlendirilir
(**mavi**den **yeşil** veya **sarı** renge dönmesi)



BLUE-CARBA TEST

A. *E. coli* ATCC 25922

B. OXA-48 pozitif *K. pneumoniae*

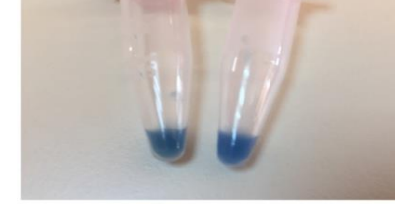
C. OXA-48 pozitif *E. coli*

D. NDM-1 pozitif *E. cloacae*

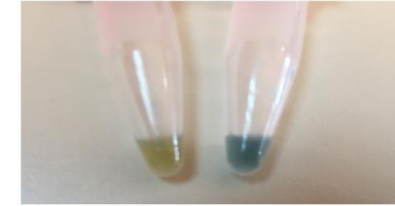
E. KPC pozitif *K. pneumoniae*

Test	Negatif
Solüsyonu	Solüsyon

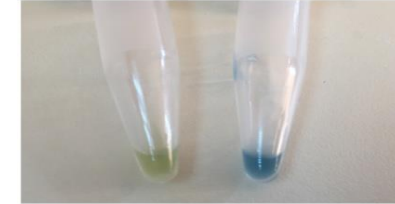
A



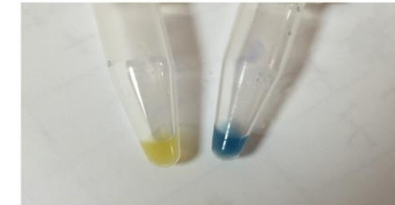
B



C



D



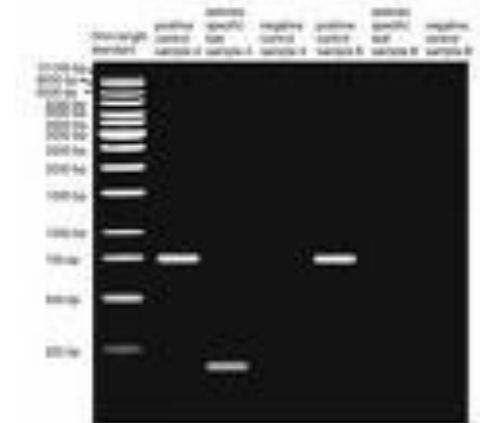
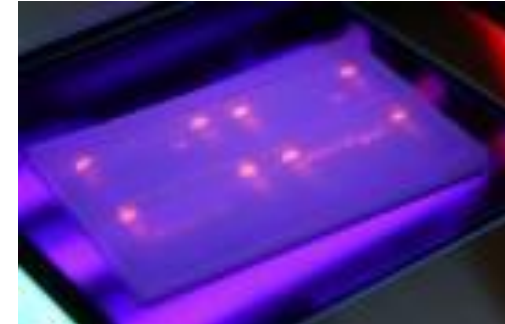
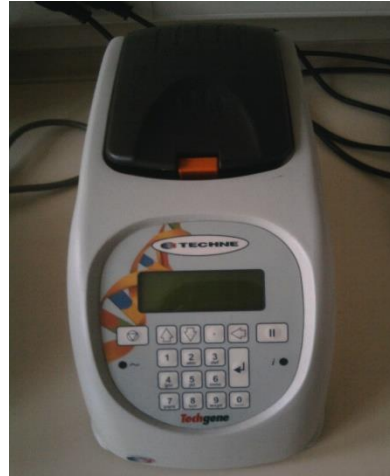
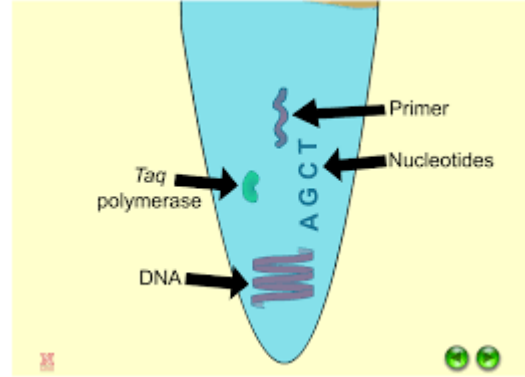
E



POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR) YÖNTEMİ

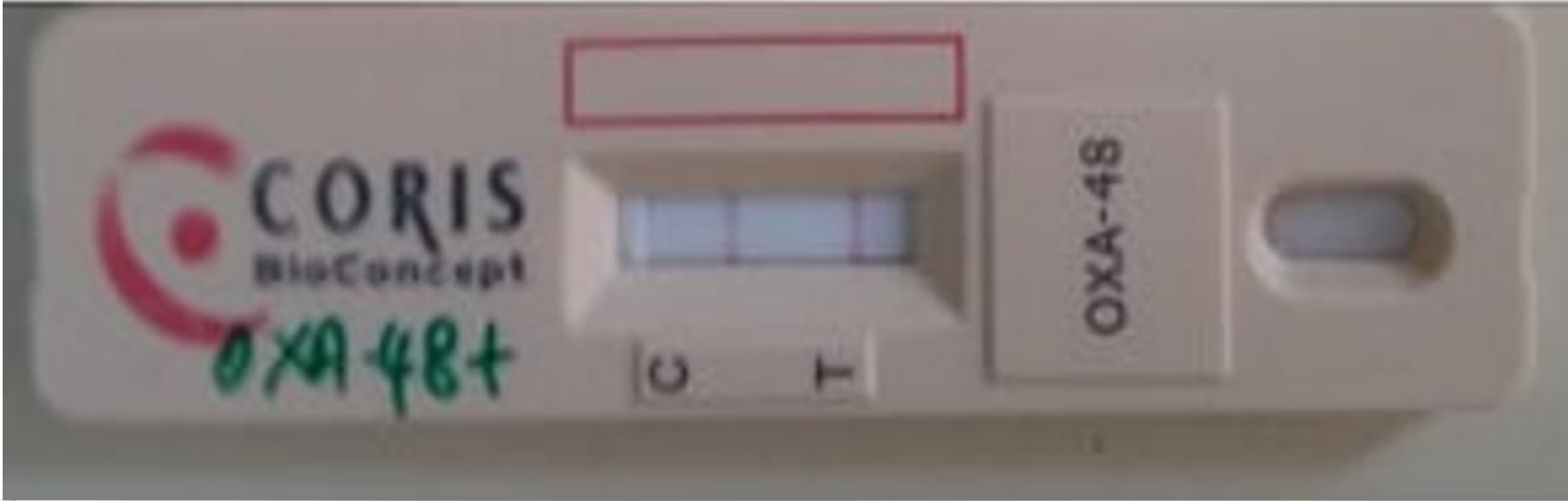


- OXA-48
- NDM-1
- KPC-1
- IMP-1
- VIM-2,-4
- GES-1
- OXA-51
- OXA-23



Bakteri	PCR blaOXA- 48 Pozitif (n)	OXA 48 K-Se I test Pozitif (n)	Blue Carb Test Pozitif (n)
OXA-48 karbapenemaz + Enterobacteriaceae (n=47)	47/47	47/47	47/47
Diğer karbapenemaz + Enterobacteriaceae (n=13) (KPC-1, VIM2-4,IMP1, GES-1,NDM-1,OXA-51, IMP-1+OXA-23)	0/13	0/13	12/13
Duyarlılık (%)		100	92.3
Özgüllük (%)		100	100

OXA-48 K SeT SONUÇLARI



BULGULAR



- PCR testi ile karşılaştırıldığında
- **BCT testi** → %92.3 duyarlılık ve %100 özgüllük,
- **OXA-48 K-SeT testi** → %100 duyarlılık ve özgüllük
- OXA 48 karbapenemaz aktivitesi bulunan bütün suşları tesbit etmiştir.
- BCT'te OXA 48 genini bulunduran suşların
 - 38/47 sinde 5-20 dakikada pozitif sonuç
 - 9/47 unda 20 dakika-2 saat arasında pozitif sonuç
- KPC-1, GES-1, VIM-2, -4, NDM-1, VEB-1 için 5 dakika içinde,
- IMP-1 için 10 dakika içinde pozitif sonuçlar elde edilmiştir.

SONUÇ

- Kolay, hızlı, basit yorumlanabilir ve yüksek duyarlılığa sahip olan her iki testin de performansı iyi bulunmuştur.
- BCT, karbapenemaz enzim tipini belirleyememekle birlikte,
Rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında karbapenemaz oluşturan suşları saptamak için kesin, ucuz, hızlı bir tarama testi olarak kullanılabilir.
- OXA-48 K-Se T ise moleküler olmayan, teçhizat gerektirmeyen ve kısa sürede sonuç verebilen (10 dakika) bir test olarak,
- OXA-48 karbapenemaz geninin yayılımını kontrol altına almak ve tedaviye yön vermek amacıyla doğrulama testi olarak kullanılabilir.



TEŞEKKÜRLER