

# Kolistin dirençli gram negatif bakterilerin klinik ve epidemiyolojisi: Hastanelerde yeni tehdit

Dr. Ayşegül Ulu Kılıç

Erciyes Üni. Tıp Fakültesi  
Enfeksiyon Hast. ve Kli.  
Mikrobiyoloji



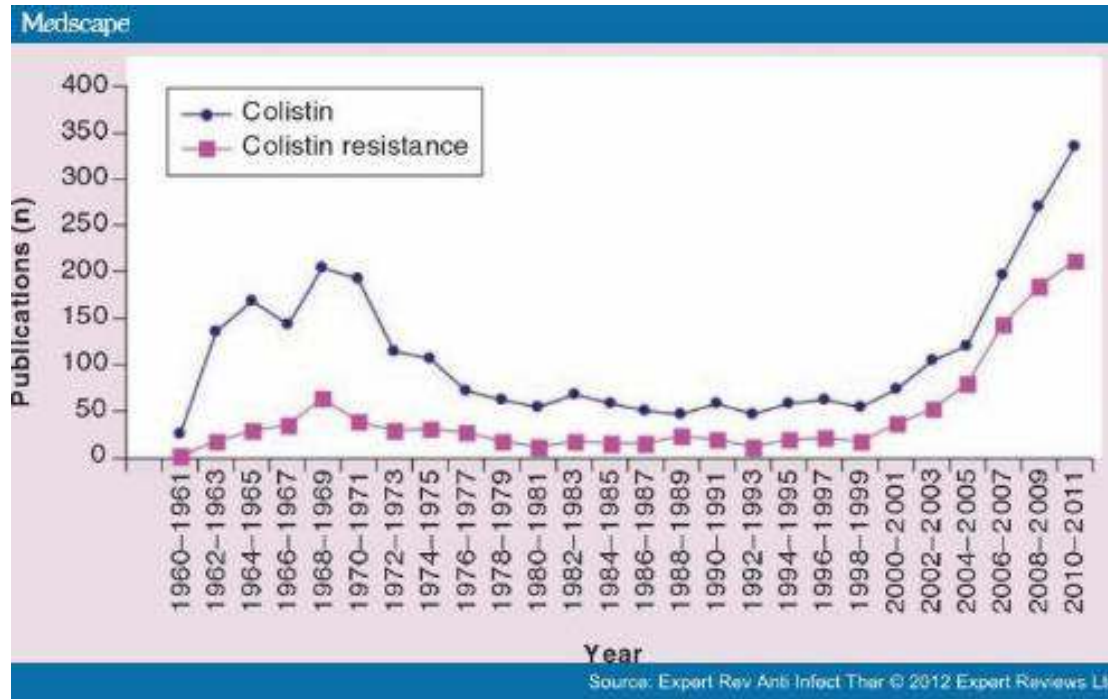
# Kolistin

- Son yıllarda izlenen çoklu ilaç direnci bulunan gram-negatif bakteriler ile oluşan infeksiyonların sıklığında artış ve tedavilerinde yaşanan sorunlar polimiksinleri tekrar gündeme getirmiştir



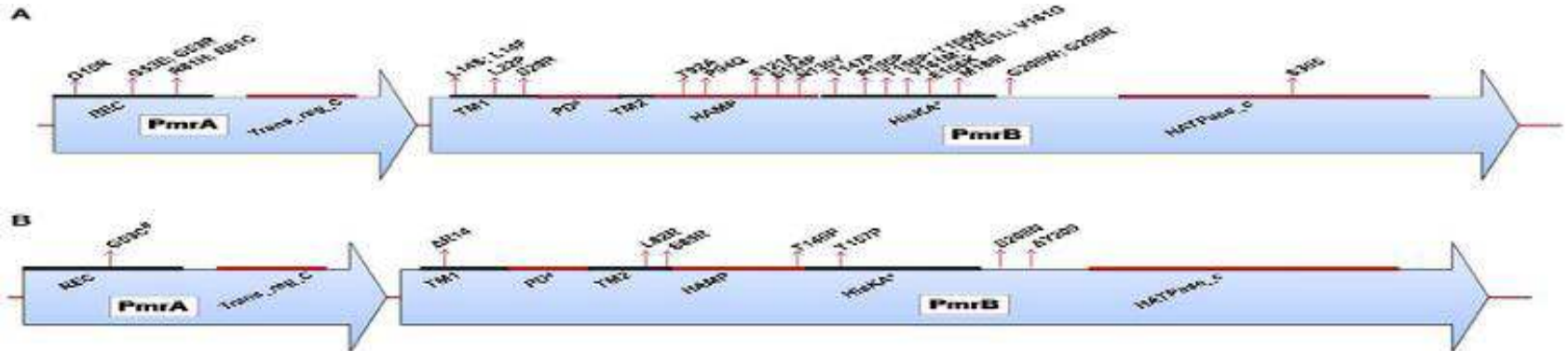
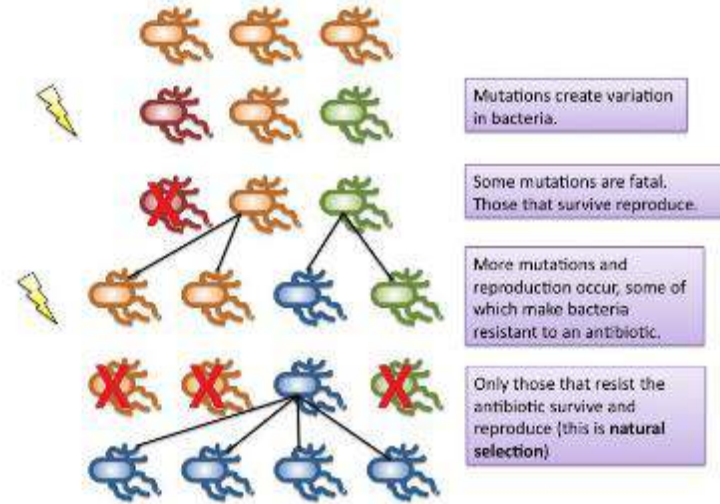
# Kolistin direnci

- ❑ Fakat günümüzde bir çok ülkeden yapılan yayınlar ile kolistin dirençli (ColR) suşların varlığı rapor edilmiştir



# Kolistin direnç mekanizmaları

- Geçtiğimiz yıl Kasım ayına kadar kolistin direnciyle ilgili vertikal mekanizmalar tanımlanmıştı
- İlgili gende mutasyonlar ile lipopolisakkarit modifikasyonu gibi



# Kolistin direnç mekanizmaları

- Yi-Yun Liu ve arkadaşları plazmid aracılığıyla taşınan *mcr-1* genini tanımladılar
  - 2011-2014 arasında hayvanlar, hayvansal gıda ve hastalardan izole edilen Enterobacteriaceae üyelerinde *mcr-1* varlığını göstermişler

## Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study



Yi-Yun Liu\*, Yang Wang\*, Timothy R Walsh, Ling-Xian Yi, Rong Zhang, James Spencer, Yohei Doi, Guobao Tian, Baolei Dong, Xianhui Huang, Lin-Feng Yu, Danxia Gu, Hongwei Ren, Xiaojie Chen, Luchao Lv, Dandan He, Hongwei Zhou, Zisen Liang, Jian-Hua Liu, Jianzhong Shen

### Summary

**Background** Until now, polymyxin resistance has involved chromosomal mutations but has never been reported via horizontal gene transfer. During a routine surveillance project on antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* from food animals in China, a major increase of colistin resistance was observed. When an *E coli* strain, SHP45, possessing colistin resistance that could be transferred to another strain, was isolated from a pig, we conducted further analysis of possible plasmid-mediated polymyxin resistance. Herein, we report the emergence of the first plasmid-mediated polymyxin resistance mechanism, MCR-1, in Enterobacteriaceae.

**Methods** The *mcr-1* gene in *E coli* strain SHP45 was identified by whole plasmid sequencing and subcloning. MCR-1 mechanistic studies were done with sequence comparisons, homology modelling, and electrospray ionisation mass spectrometry. The prevalence of *mcr-1* was investigated in *E coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains collected from five provinces between April, 2011, and November, 2014. The ability of MCR-1 to confer polymyxin resistance in vivo was examined in a murine thigh model.

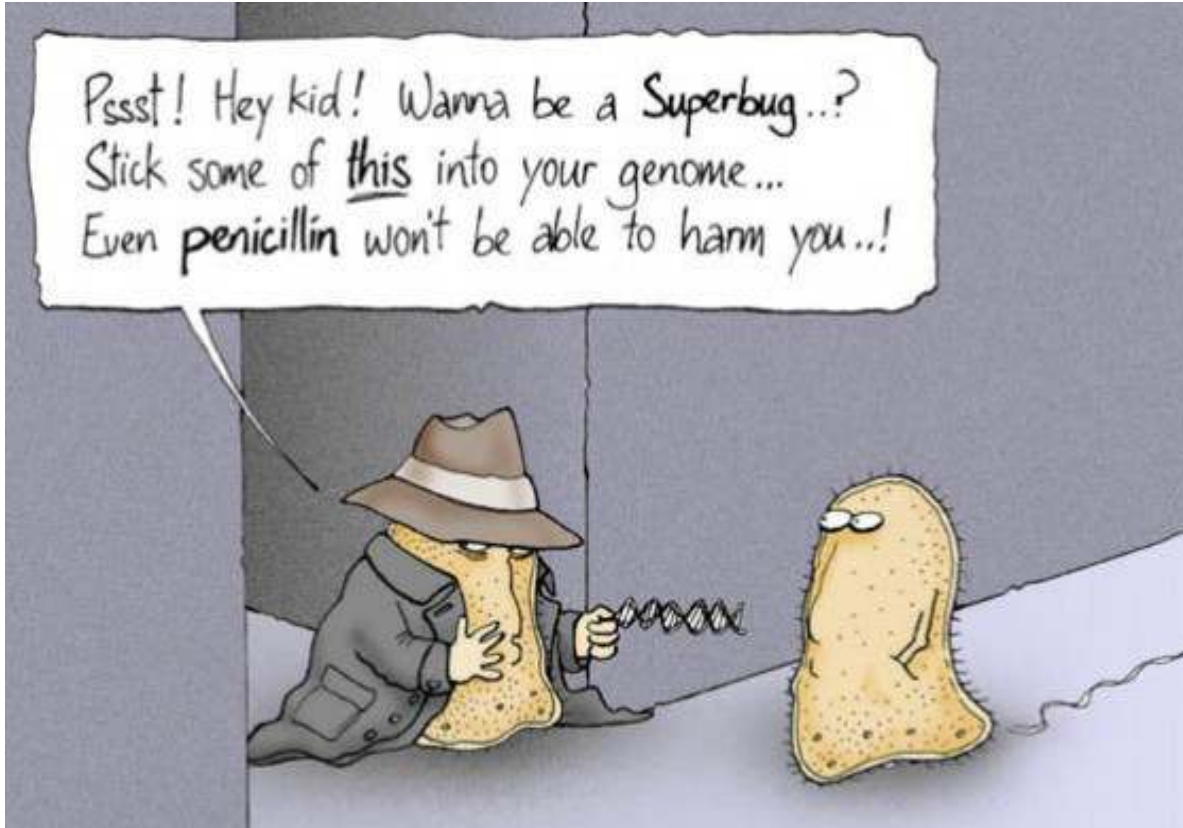
*Lancet Infect Dis* 2015

Published Online  
November 18, 2015  
[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)  
See Online/Articles  
[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00463-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00463-6)

\*Contributed equally  
College of Veterinary  
Medicine, National Risk  
Assessment Laboratory for  
Antimicrobial Resistance of  
Microorganisms in Animals,

# Kolistin direnç mekanizmaları

- ❑ Mcr-1 geninin hareketli bir plazmit tarafından taşınıyor olması önemli bir tehlikeye işaret etmektedir



# Çalışmanın amacı

---

- ❑ Çalışmanın iki amacı bulunmaktadır
  1. Hastalardan izole edilen kolistin dirençli gram negatif izolatlar için retrospektif olarak epidemiyolojik analiz gerçekleştirmek
  2. 2014 Nisan ayından bu yana hastanemizden izole edilen ve saklanan ColR suşları *mcr-1* gen varlığı bakımından taramak ve klonal yakınlıklarını test etmektir

# Yöntem

- ❑ 2008-2016 yılları arasında Erciyes Üniversitesi Hastaneleri'nde yatan hastalardan izole edilen ColR Gram-negatif bakteriler, hastalara ait veriler hastane bilgisayar sistemi, mikrobiyoloji laboratuvarı ve enfeksiyon kontrol kurulu sürveyans raporlarından retrospektif olarak elde edilmiştir
- ❑ İzolatların identifikasyonu ve izolasyonu için konvensiyonal ve Vitek-2 otomatize sistem kullanılmıştır
- ❑ Otomatize sistemde dirençli çıkan suşlar için E-test ile doğrulama yapılmıştır
- ❑ ColR izolatlarda *mcr-1* geni PZR ile, klonal yakınlık PFGE ile araştırılmıştır



# Bulgular

- Toplam 165 hastada ColR gram negatif bakteri

Bakteriler	n=165 (%)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	91 (55.1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	51 (30.9)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 (3.6)
<i>Acinetobacter spp.</i>	3 (1.8)
Gram negatif basil	14 (8.48)

# Bulgular

- 2011 yılı itibari ile E-test ile MİK bakıldı
- Ortalama MİK değeri 4 (4-64) olarak bulundu
- Hastaların %72'si YBÜ'de
- YBÜ'nde yatışı olan ve olmayan hastalar karşılaştırıldı

Demografik özellikler	Toplam n=122	YBÜ n=88 (% 72.1)	SERVİS n=34(% 27.8)	<i>P</i>
Yaş (median)	55 (0-86)	55 (1-85)	55 (0-86)	0.327
Cinsiyet (erkek)	65 (53.3)	17 (50)	48 (54.5)	0.689
Üreme öncesi yatış süresi (median)	19 (0-207)	21(0-92)	17.5 (0-92)	0.103

# Bulgular

	Toplam n=122	YBÜ n=88 (% 72.1)	SERVİS n=34 (% 27.8)	p
<b>Alt Hastalık</b>	42 (34.4)	38(43.2)	4 (11.8)	<b>0.001</b>
Diyabetes mellitus	17 (13.9)	13 (14.8)	4 (11.8)	0.777
Kr. böbrek yetmezliği	23 (18.9)	20 (22.7)	3 (8.8)	0.120
Kr. obstrüktif Akciğer Hast	14 (11.5)	13 (14.8)	1 (2.9)	0.110
<b>Başka üniteden transfer</b>	<b>36 (29.5)</b>	<b>30(34.1)</b>	<b>6 (17.6)</b>	<b>0.081</b>

# Bulgular

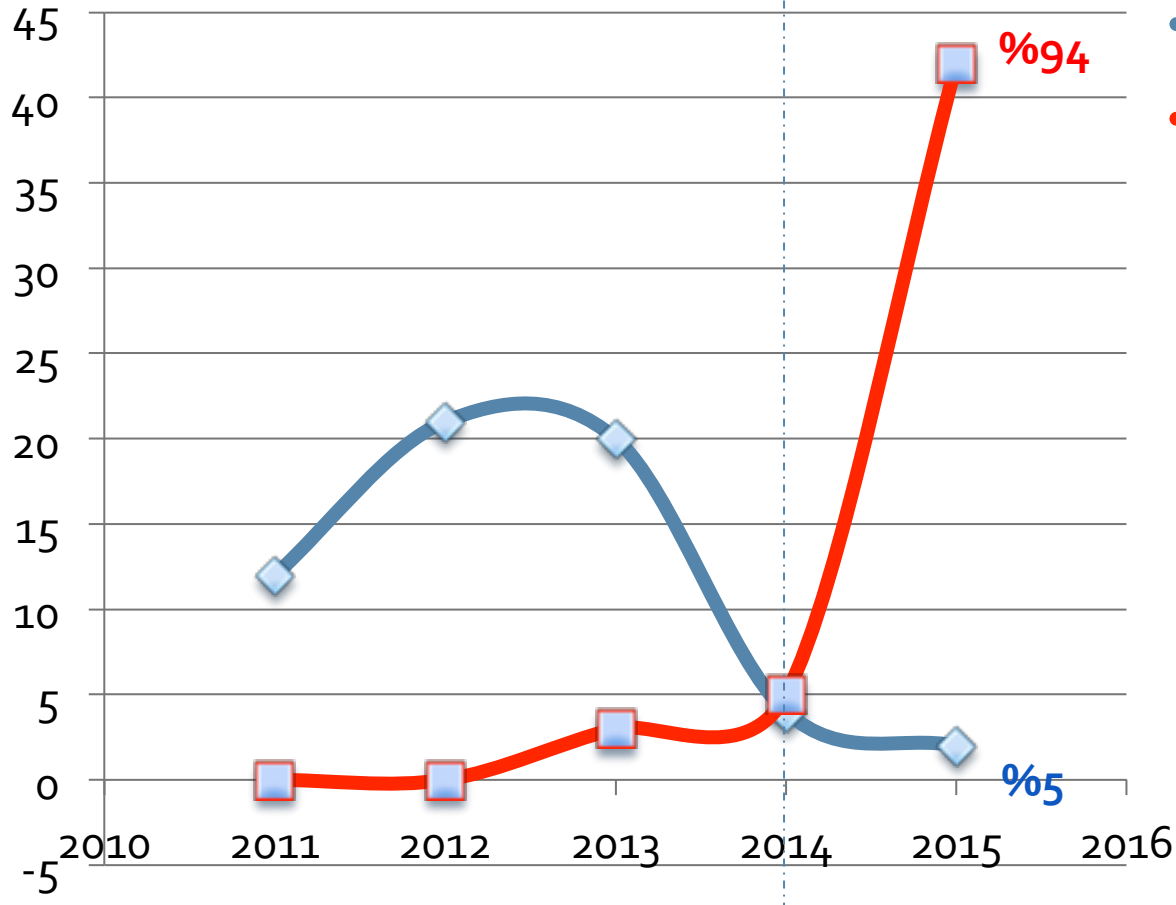
	Toplam n=122	YBÜ n=88 (% 72.1)	SERVİS n=34 (% 27.8)	p
<b>Üreme öncesi antibiyotik kullanımı</b>	<b>112 (91.8)</b>	84 (95.5)	28 (82.4)	<b>0.028</b>
Karbapenem	65 (53.3)	52 (59.1)	13 (38.2)	<b>0.045</b>
Betalaktam	68 (55.7)	54 (61.4)	14 (41.2)	0.066
Glikopeptid	47 (38.5)	36 (40.9)	11 (32.4)	0.415
Tigesiklin	13 (10.7)	10 (11.5)	3 (8.8)	0.758
Kolistin	53 (43.4)	42 (47.7)	11 (32.4)	0.155

# Bulgular

	Toplam n=122	YBÜ n=88 (% 72.1)	SERVİS n=34 (% 27.8)	p
<b>Klinik materyal</b>				
OKK	27 (22.1)	19 (21.6)	8 (23.5)	1.000
Solunum sekr.	19 (15.5)	17 (19.3)	2(5.9)	<b>0.006</b>
İdrar	17 (13.9)	8 (9.1)	9 (26.5)	<b>0.019</b>
Yara	14 (11.5)	10 (11.4)	4 (11.8)	1.000

	Toplam n=122	YBÜ n=88 (% 72.1)	SERVİS n=34 (% 27.8)	p
<b>Sonuç (exitus)</b>	<b>74 (60.7)</b>	60 (68.2)	14 (41.2)	<b>0.008</b>

# Bulgular



◆ Acinetobacter spp.

■ K.pneumoniae

Bakteriler	n(%)
<i>A.baumannii</i>	57 (46.7)
<i>K.pneumoniae</i>	51 (41.8)
<i>P.aeruginosa</i>	5 (4.1)
Gram (-) basil	6 (4.9)
Acinetobacter spp.	3 (2.5)
Toplam	122 (100)

# Bulgular- Moleküler analiz

- ❑ 2014 Nisan- 2016 Mart tarihleri arasında
- ❑ 45 farklı hastadan izole edilen **toplam 45 ColR Gram-negatif patojen** çalışmanın moleküler kısmına dahil edilmiştir
  - ❑ *K. pneumoniae* (37)
  - ❑ *A. baumannii* (5)
  - ❑ *A. junii* (1)
  - ❑ *P. aeruginosa*(1)
  - ❑ *C. brakii* (1)
- ❑ Çalışmada yer alan **2 ayı hastadan tedavi öncesi izole edilen 3 adet ColS *K. pneumoniae*** suşu da klonal yakınlık çalışmasına dahil edilmiştir



# Bulgular

- Bu izolatların % 64.4 (29)'ü farklı YBÜ'de yatan hastalardan izole edildi

- Bütün ColR izolatlar mcr-1 için negatif bulundu

## Bakteriler

Bakteriler	No
<i>K. pneumoniae</i>	37
<i>A. baumannii</i>	5
<i>A. junii</i>	1
<i>C. braakii</i>	1
<i>P. aeruginosa</i>	1

## Klinik örnekler

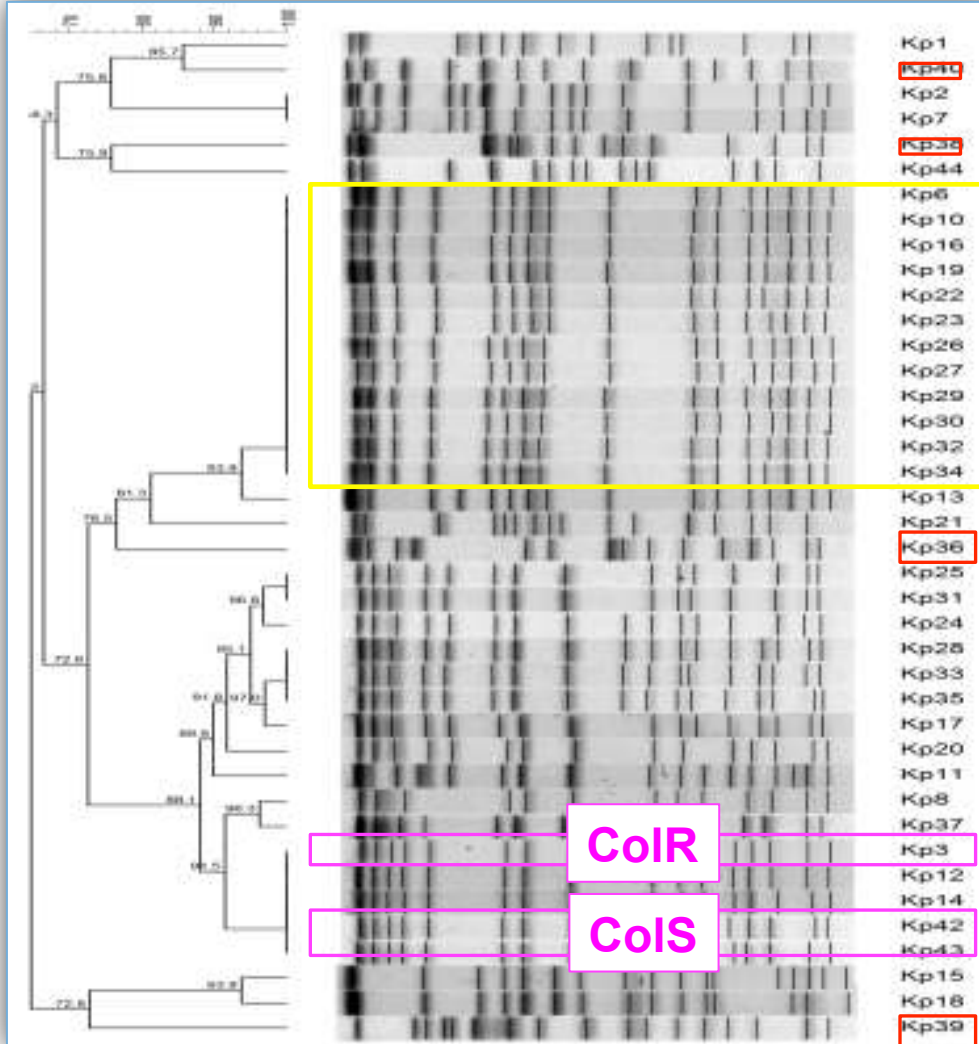
Klinik örnekler	No
Kan	13
İdrar	9
Yara & Abse	6
ETA	5
Doku	3
Kateter	2
Safra	2
Nefrostomi	2
BAL***	1
Balgam	1

## Kolistin kullanımı

Kolistin kullanımı	No
yok	18
1-7 gün	8
7-14 gün	6
14-21 gün	6
>21	9



# Bulgular- *K. pneumoniae* PFGE sonuçları



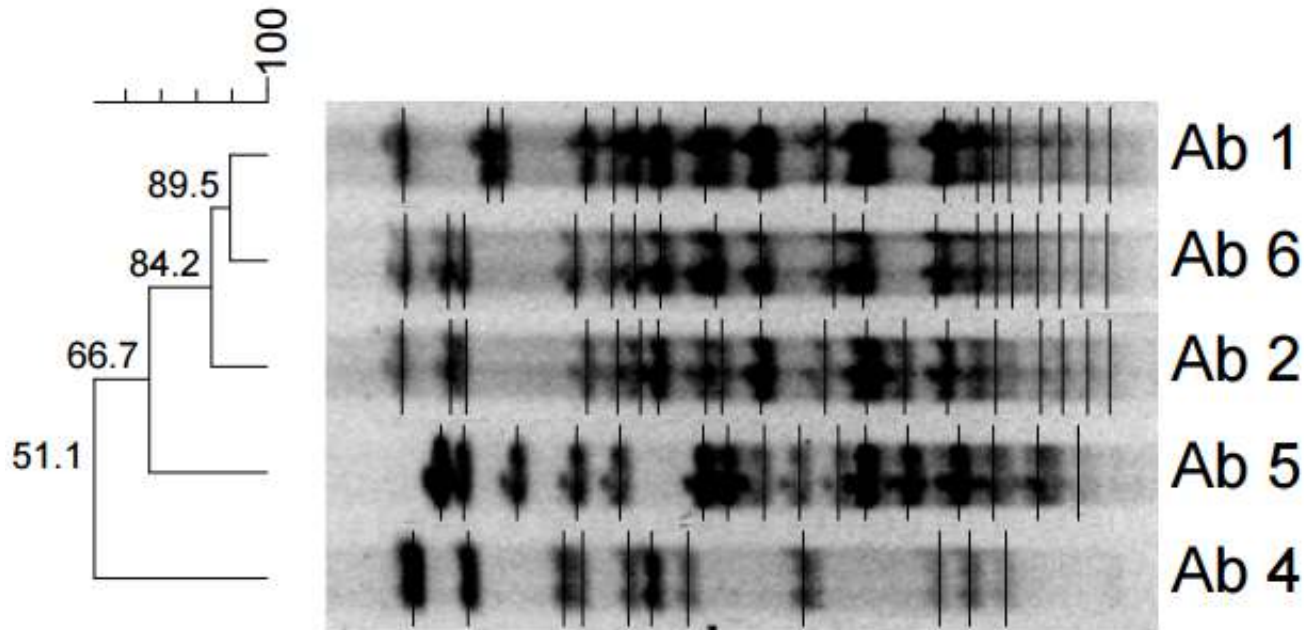
1 major 4 minor klonda

Aynı hastadan 3 aylık zaman diliminde izole edilen 2 CoIS ( Kp42 ve Kp43 ) ve bir CoIR *K. pneumoniae* (Kp3) suşu arasında %100 benzerlik bulundu

2016 yılında izole edilmiş olan 5 CoIR suşunun 4'ü (Kp36, Kp38, Kp39 ve Kp40) her hangi bir suşla klonal yakınlık göstermedi ( en benzer suşla arasında %75 yakınlık bulundu)

# Bulgular- *A. baumannii* PFGE sonuçları

- PFGE sonuçlarına göre *A. baumannii* izolatları sporadikti



# Sonuçlar

---

- ✓ ColR suşlarla gelişen enfeksiyonlar yeni bir tehdit “antibiyotik krizi”
- ✓ *A.baumannii* & *K. pneumoniae*
- ✓ YBÜ hastalarında, antibiyotik baskısı altında, alt hastalık
- ✓ Öncesinde kolistin kullanımı ~ %40
- ✓ Mortalitesi yüksek ~ %60

# Sonuçlar

- ✓ Bütün suşlar *mcr-1* geni için negatif bulundu,
- ✓ Fakat *mcr-1* geninin takibi için metagenom (toprak, atık su, bağırsak mikrobiyomu gibi) temelli çalışmalara gerek var
- ✓ Yakın zamanda ekibimiz tarafından yapılan metagenom temelli *in silico* analizde ***mcr-1* direnç geni Çin bağırsak mikrobiyomunda pozitif bulunurken Türk mikrobiyomunda negatif bulunmuştur.**
- ✓ Şu anda konu ile ilgili olarak daha geniş bir kohortu hedef alacak olan atık su çalışmalarımız devam etmektedir

# Sonuçlar

- ✓ PFGE sonuçlarına göre ColR Kp suşları arasında bir klonal yayılımdan söz edilebilir
- ✓ Fakat 2016 yılında izole edilen Kp suşların **çoğunun tekli klon olması** dışardan yeni suşların hastanemize girmiş olabileceği ile açıklanabilir
- ✓ Başka bir hipotez olarak ColS Kp suşların kolistin baskısı sonucu moleküler evrim geçirmiş olabileceği ihtimalide göz önüne alınmalıdır

# Sonuçlar

- ✓ *Mcr-1* geni bakımından negatif olunması ve aynı hastadan izole edilmiş ColS ve ColR izolatların PFGE profillerinin aynı olması koleksiyonumuzdaki kolistin direncinden sorumlu mekanizmalarının *mcr-1* ilişkili rezistom-mobilom'dan çok diğer **vertikal mekanizmalar** olabileceği ortaya atılabilir
- ✓ Fakat diğer bilinmeyen hareketli, genetik element kökenli ColR fenotipinden sorumlu direnç genleri bu durumdan sorumlu olabilir
- ✓ Bu hipotezleri test etmek için **tüm genom temelli çalışmaların** yapılmasına ihtiyaç vardır (TUBİTAK- 315S263)



Teşekkürler.....