



Karbapenemazlar

Yard.Doç.Dr. Dolunay Gülmez



Tanım

- Karbapenemaz
 - Karbapenemleri hidrolize edebilen enzimler
 - Diğer beta-laktamların çoğuna karşı da etkili
 - Genellikle monobaktamlara etkileri yok.
 - Kromozomal
 - *Bacillus cereus* (BCII)
 - *Bacteroides fragilis* (CfiA)
 - *Stenotrophomonas maltophilia* (L1)
 - Kazanılmış
 - Nonfermentatif basiller
 - *Enterobacteriaceae*

Karbapenemaz sınıflandırması

"aktarılabılır"

Moleküler sınıf	Bush-Jacoby	Özellikler	Örnek enzimler
A	2f	Karbapenem, sefalosporin ve penisilin hidrolizi. KLA ve TAZ ile düşük inhibisyon.	KPC-2, KPC-3, GES-2, IMI-2
B	3a	Monobaktamlar dışında tüm karbapenemlerin hidrolizi. KLA ve TAZ etkisiz. EDTA ve diğer şelatörler ile inhibisyon.	IMP-1, VIM-1, NDM-1
D	2df	Karbapenem, kloksasilin ve oksasilin hidrolizi. KLA bazılarında etkili.	OXA-23, OXA-48

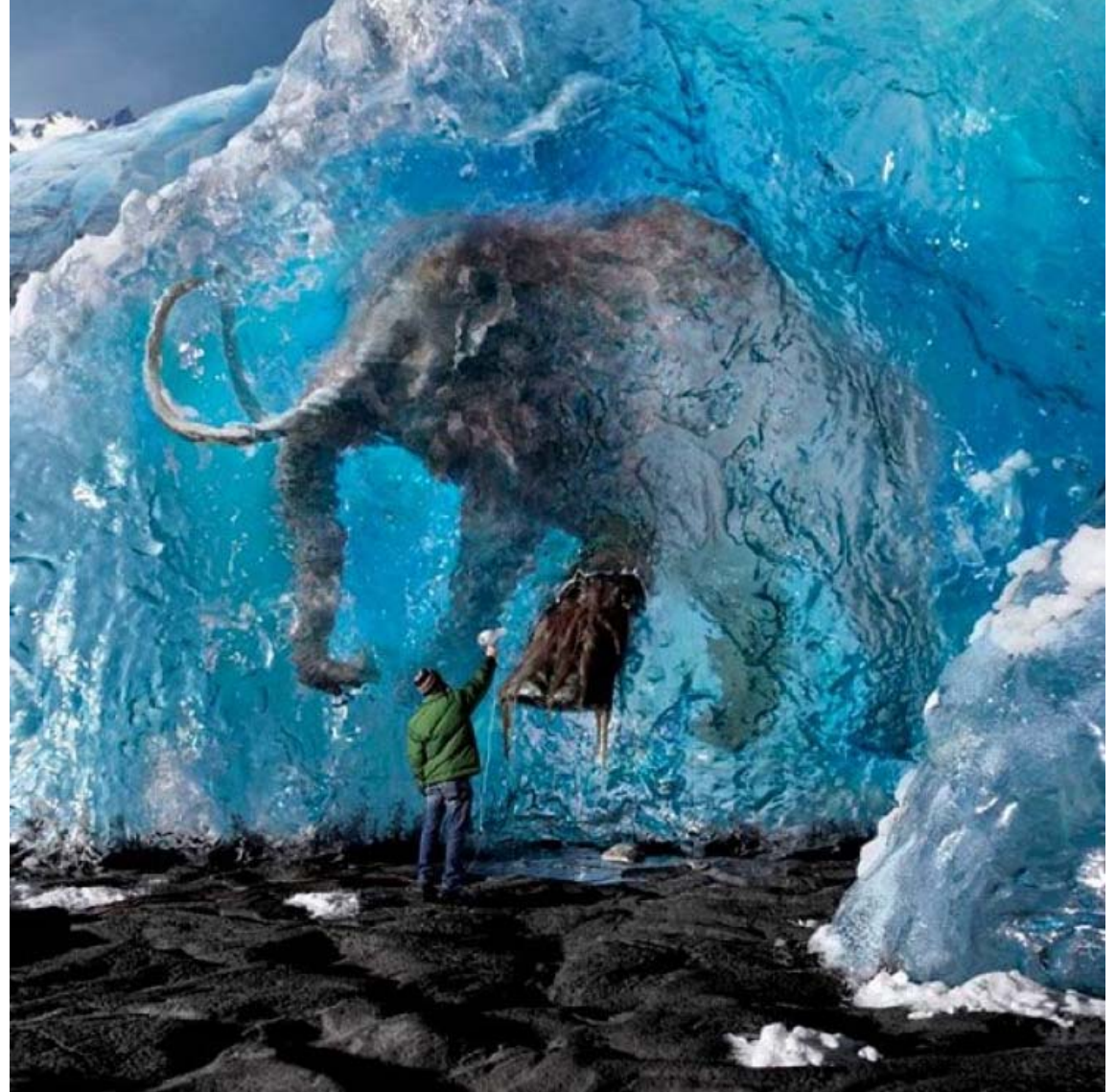
Neden sorun yaşıyoruz?

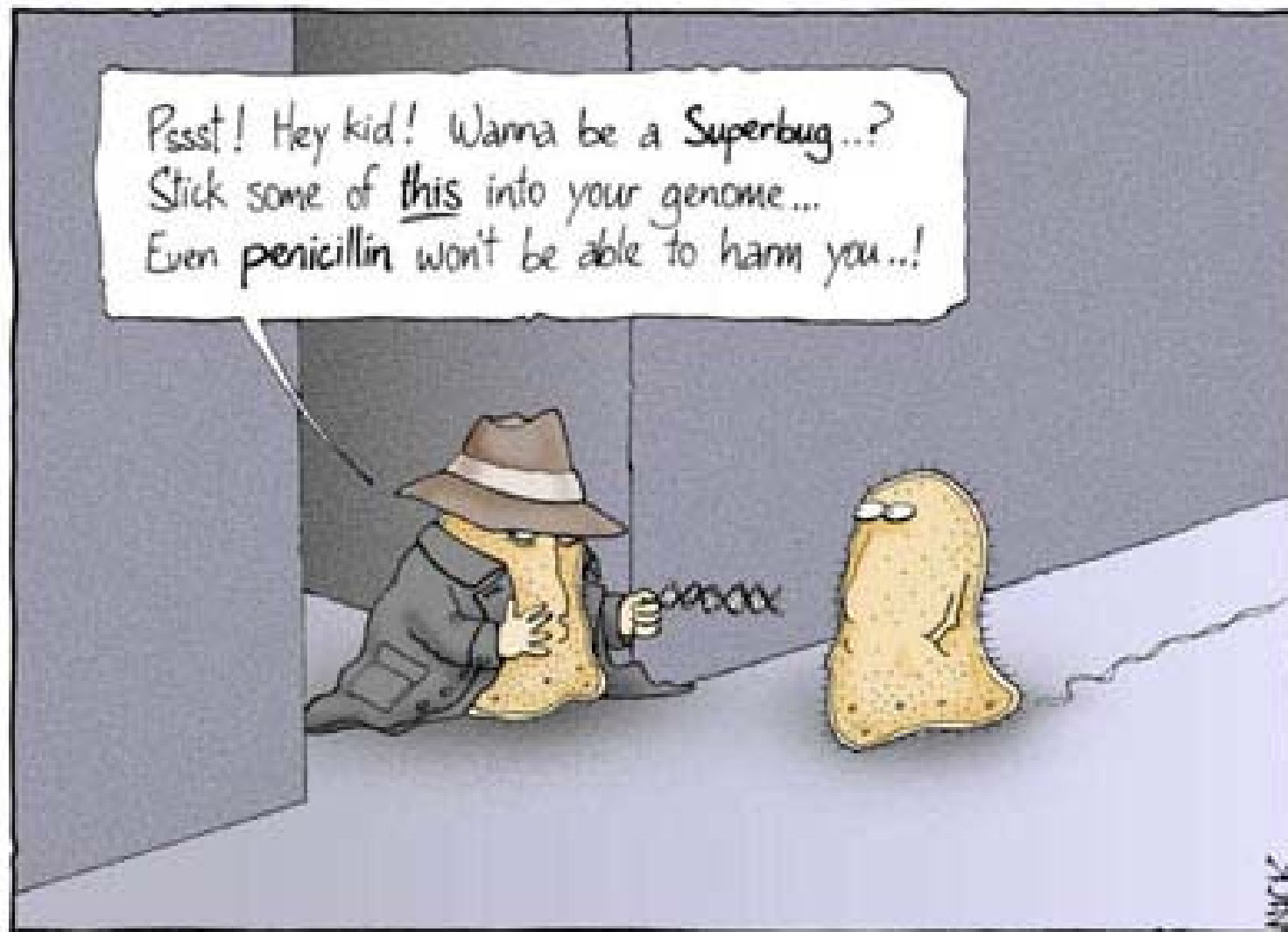
- Karbapenemazların kökeni: Ortaya çıkmaları önlenebilir mi?
- β -laktamlara karbapenemaz etkisi
- Diğer antimikrobiyal ajanların tedavide kullanımı
- Yayılım
- Tanımlama
- Tedavinin belirlenmesi



Neden sorun yaşıyoruz?

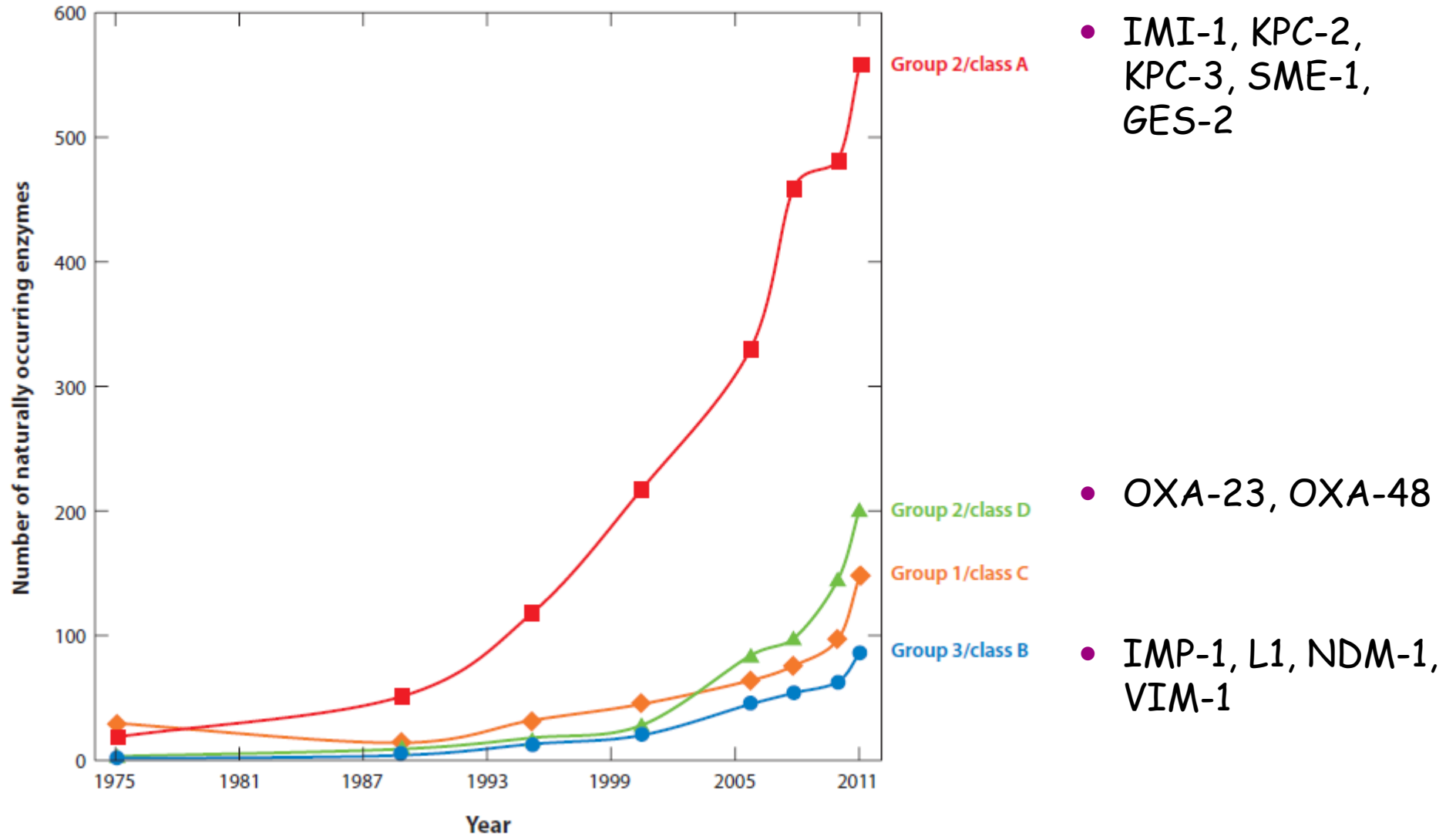
- Karbapenemazların kökeni:
 - Doğada bazı direnç geni rezervleri var, antibiyotik baskısı altında:
 - Benzer nükleotid dizilimli genlerde mutasyon ile direnç gelişimi
 - Kromozomal genlerin hareket kazanması





It was on a short-cut through the hospital kitchens that Albert was first approached by a member of the Antibiotic Resistance.

Yıllara göre tanımlanan β -laktamaz sayıları



Neden sorun yaşıyoruz?

- β -laktamlar enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde çok tercih edilmekte, toksik etki az.
- Gram negatif bakterilerde en önemli direnç mekanizması β -laktamazlar.
 - Karbapenemazlara karşı çok az β -laktam dayanabiliyor.
 - Aztreonam bazı karbapenemazlara (VIM, IMP ve NDM gibi metallo enzimlere) dayanıklı. Ancak çoğu kez bakteride ek ESBL veya AmpC var ve aztreonama da direnç kazanıyor.
 - Oksiminosefalosporinler (seftazidim, seftriakson, sefotaksim, seftizoksim vb) OXA-48'e dayanıklı olabilir ancak eşlik eden ESBL'lere duyarlı.

Sonuçta, karbapenemaz taşıyan bir bakteriye karşı herhangi bir β -laktam etkisi şansa bağlı.

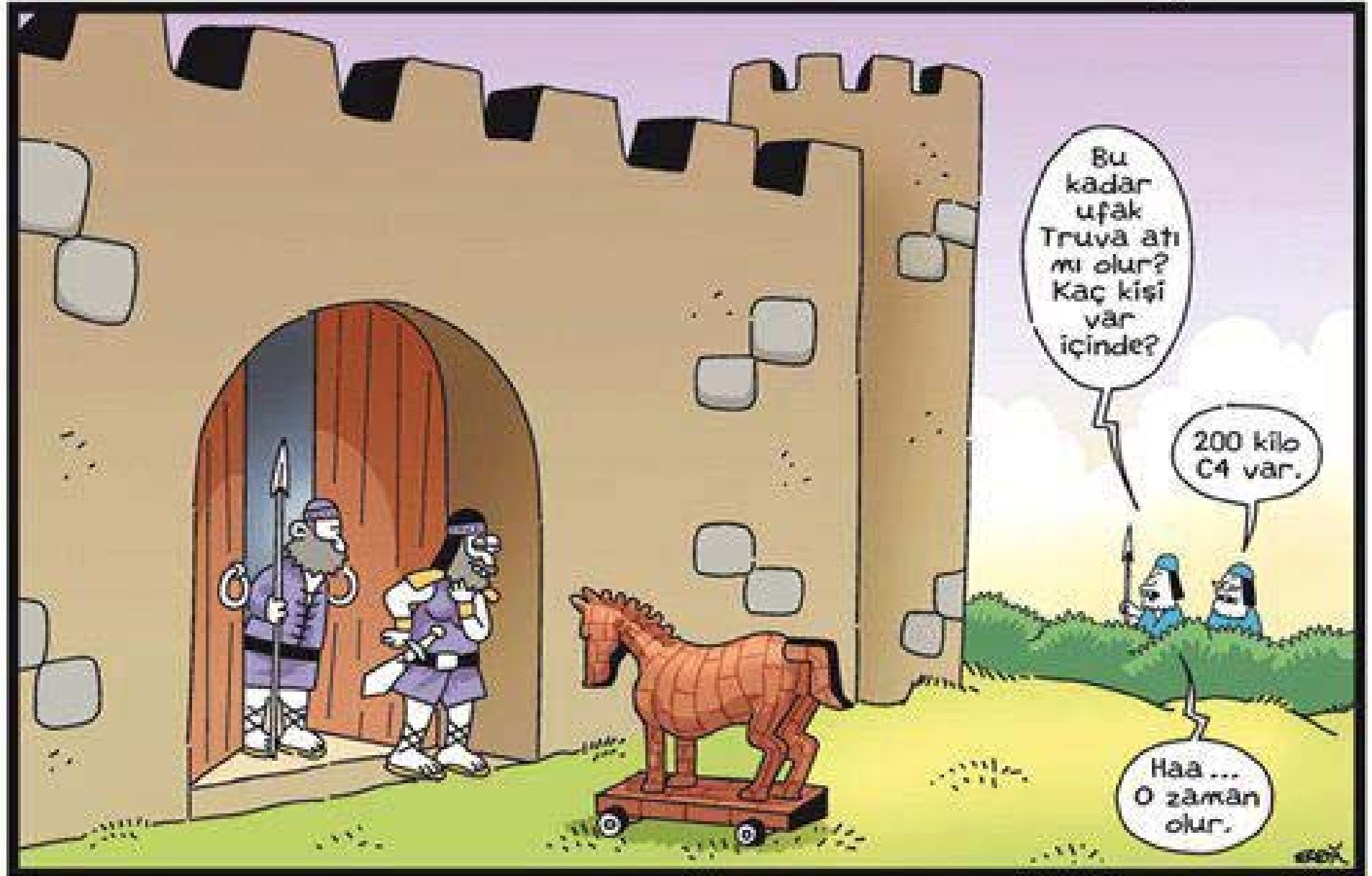
Neden sorun yaşıyoruz?

- Diğer antimikrobiyal ajanların tedavide kullanımı
 - Kazanılmış β -laktamaz genlerini taşıyan mobil elemanlar çoğunlukla diğer direnç genlerini de taşımakta (aminoglikozit, kinolon, makrolid...).
- Tedavi seçenekleri çok sınırlı:
 - Kolistin/Polimiksin, tigesiklin



NDM-1 + CTX-M-15





Panik

- 1994 IMP
- 2005 KPC
- 2009 NDM



- Eldeki son antibiyotik kalesi yıkıldı!
- Birlikte çoklu direnç
- Bazı suşlarda bilinen tüm antibiyotik gruplarına direnç
- Yalnız ortaya çıkışları değil, farklı bakteriyel türlere ve coğrafi bölgelere hızla yayılımları da korkutucu.

KPC (Klebsiella pneumoniae carbapenemase) yayılımı

Table. Bacterial species that have been found to produce KPC resistance enzymes^a

<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Non-Enterobacteriaceae</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Acinetobacter</i> spp.
<i>Enterobacter cloacae</i>	
<i>Enterobacter gergoviae</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	
<i>Proteus mirabilis</i>	
<i>Salmonella enterica</i>	
<i>Serratia marcescens</i>	

Klebsiella pneumoniae remains the most common organism to harbor KPCs; however, relative frequency in other organisms has not been reported.

^aKPC, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase.

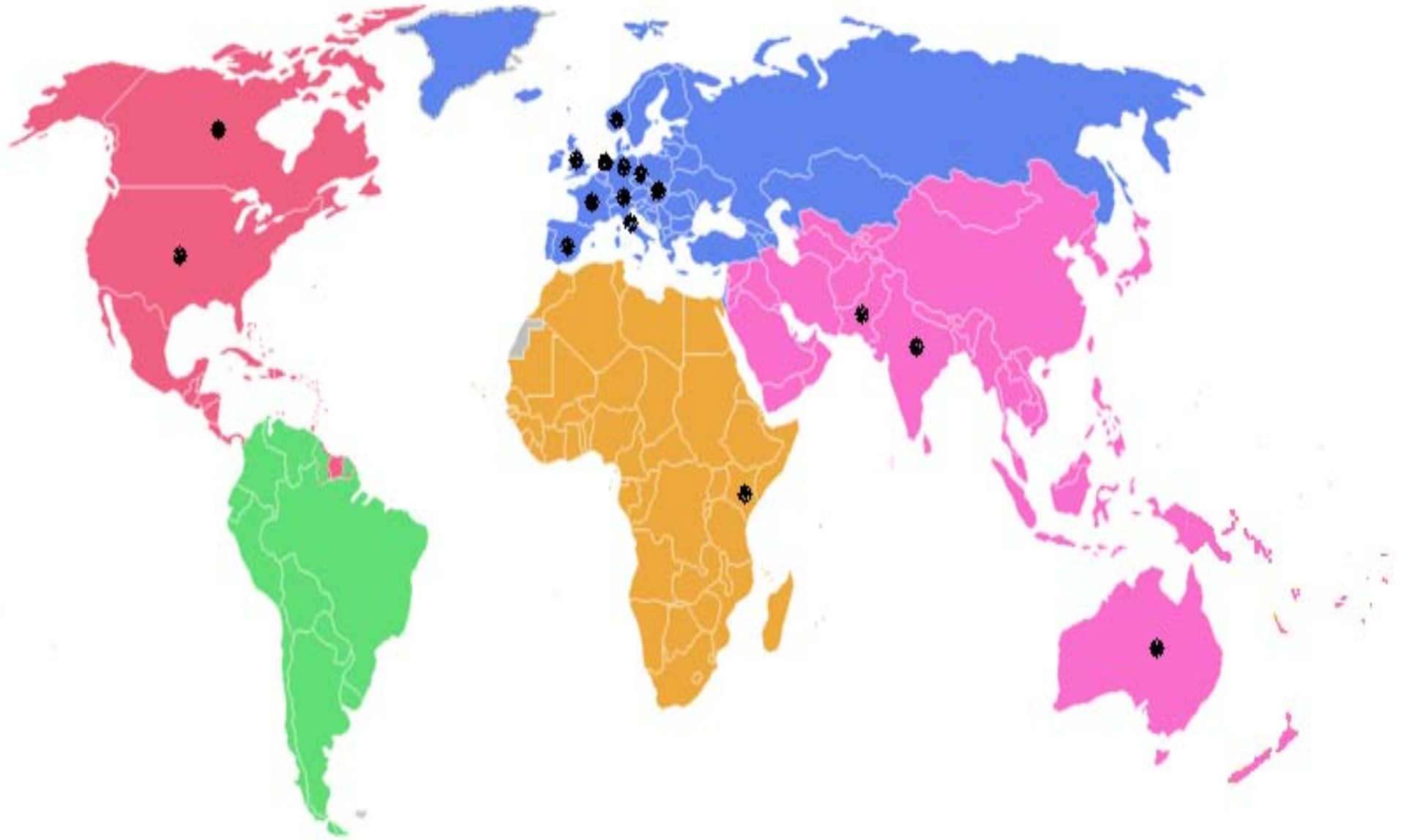
KPC yayılımı

- Single KPC-producing isolates
- Several outbreaks of KPC-producing isolates
- Endemicity of KPC-producing isolates



MBL (VIM ve IMP) yayılımı

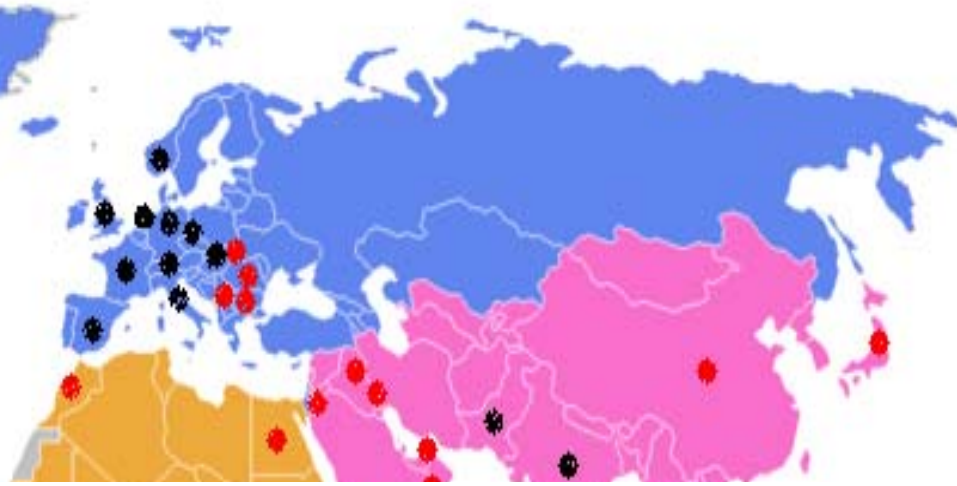




2010 yılı sonu NDM-1 pozitif vakaların görüldüğü ülkeler



Antimicrobial Agents
and Chemotherapy



NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* Now in Turkey

Laurent Poirel, Melda Özdamar, Alain A. Ocampo-Sosa,
Salih Türkoglu, Ufuk Guney Ozer and Patrice Nordmann
Antimicrob. Agents Chemother. 2012, 56(5):2784. DOI:
10.1128/AAC.00150-12.
Published Ahead of Print 5 March 2012.



2011 yılı sonu NDM-1 pozitif vakaların görüldüğü ülkeler

Grup D

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Jan. 2004, p. 15–22
0066-4804/04/\$08.00+0 DOI: 10.1128/AAC.48.1.15–22.2004
Copyright © 2004, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 48, No. 1

Emergence of Oxacillinase-Mediated Resistance to Imipenem in *Klebsiella pneumoniae*

Laurent Poirel,¹ Claire Héritier,¹ Venus Tolün,² and Patrice Nordmann^{1*}

Service de Bactériologie-Virologie, Université Paris XI, Hôpital de Bicêtre, Assistance Publique/Hôpitaux de Paris, Faculté de Médecine Paris-Sud, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France,¹ and Department of Microbiology, Istanbul Medical Faculty, Capa, Istanbul, Turkey²

Received 20 March 2003/Returned for modification 7 July 2003/Accepted 22 September 2003

Klebsiella pneumoniae strain 11978 was isolated in Turkey in 2001 and was found to be resistant to all β -lactams, including carbapenems. Cloning and expression in *Escherichia coli* identified five β -lactamases, including two novel oxacillinases. The β -lactamase OXA-48 hydrolyzed imipenem at a high level and was remotely related (less than 46% amino acid identity) to the other oxacillinases. It hydrolyzed penicillins and imipenem but not expanded-spectrum cephalosporins. The *bla*_{OXA-48} gene was plasmid encoded and not associated with an integron, in contrast to most of the oxacillinase genes. An insertion sequence, IS1999, was found immediately upstream of *bla*_{OXA-48}. Another plasmid that encoded a second oxacillinase gene, *bla*_{OXA-47}, located inside a class 1 integron was identified in *K. pneumoniae* 11978. OXA-47 had a narrow spectrum of hydrolysis activity and did not hydrolyze ceftazidime or imipenem, as is found for the β -lactamase (OXA-1) to which it is related. In addition, β -lactamases TEM-1 and SHV-2a were expressed from the same *K. pneumoniae* isolate. Analysis of the outer membrane proteins of this isolate revealed that it lacked a porin of ca. 36 kDa. Thus, the high-level resistance to β -lactams of this clinical isolate resulted from peculiar β -lactamases and modification of outer membrane proteins.

Grup D

- OXA-48
 - İlk bildirim Türkiye'den.
 - Farklı ülkeler eklenmeye devam ediyor: Fransa, Almanya, İspanya, Hollanda, İngiltere...
- OXA-23, OXA-58...
- Tanımlanması zor, gerçek prevalansları daha yüksek olabilir.
- Karbapenem MİK değerinin sınırı aşması için porin kaybı vb eklenmeli.

OXA-48 yayılımı

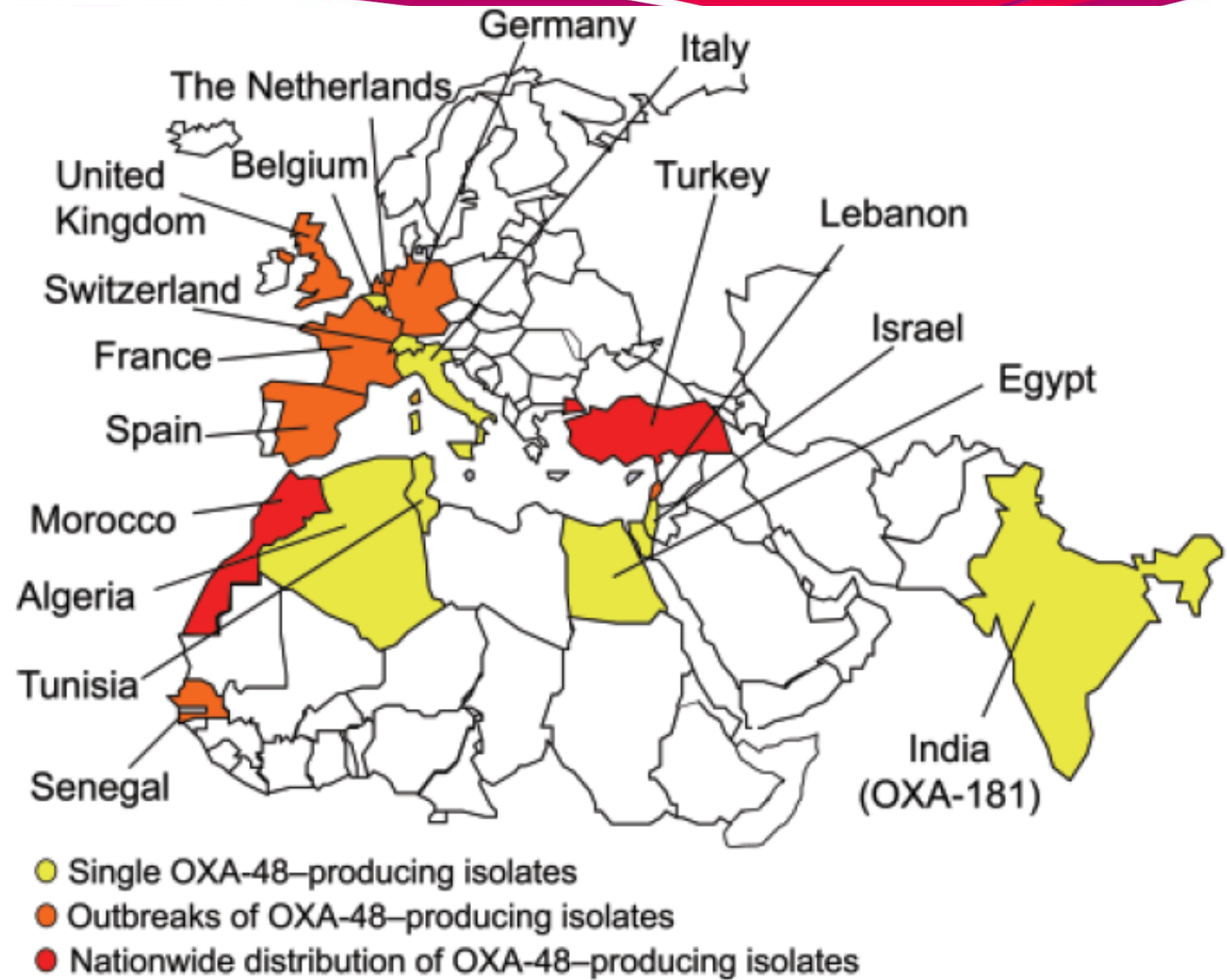


Figure 5. Geographic distribution of oxacillinase-48 (OXA-48) type producers.

Tanımlama

- Karbapenem MİK değerinde artış her zaman karbapenemaz varlığı anlamına gelmez.
 - *Proteus* spp.
 - *Providencia* spp.
 - *Morganella morganii*
- Karbapenemaz varlığında her zaman MİK eşik değeri aşacak kadar yükselmez.



Duyarlılık eşik değer değişiklikleri

Table 2. Breakpoint values (MIC, mg/L) for carbapenems according to guidelines in Europe (EUCAST) and the United States (CLSI), September 2010*

Carbapenem	EUCAST		Eski	CLSI	
	S	R		S	R
Ertapenem	≤ 0.5	> 1	≤ 2	≤ 0.25	≥ 1
Imipenem	≤ 2	> 8	≤ 4	≤ 1	≥ 4
Meropenem	≤ 2	> 8	≤ 4	≤ 1	≥ 4

*EUCAST, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (www.eucast.org/clinical_breakpoints); CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute; S, sensitive; R, resistant.

CLSI 2012 Enterobacteriaceae

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC Interpretive Criteria (µg/mL)		
		S	I	R
B	Doripenem	≤ 1	2	≥ 4
B	Ertapenem	≤ 0.5	1	≥ 2
B	Imipenem	≤ 1	2	≥ 4
B	Meropenem	≤ 1	2	≥ 4

Until laboratories can implement the current interpretive criteria, the MHT should be performed as described in the updated Table 2A Supplemental Table 3. **After implementation of the current interpretive criteria, the MHT does not need to be performed** other than for epidemiological or infection control purposes and **no change in the interpretation of carbapenem susceptibility test results is required for MHT-positive isolates**

EUCAST 2012 Enterobacteriaceae

Carbapenems ¹	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Doripenem	1	4	10	24	18
Ertapenem	0.5	1	10	25	22
Imipenem ²	2	8	10	22	16
Meropenem	2	8	10	22	16

1. The carbapenem breakpoints for Enterobacteriaceae will detect all clinically important resistance mechanisms (including the majority of carbapenemases). Some isolates that produce carbapenemase are categorised as susceptible with these breakpoints and **should be reported as tested**, i.e. the presence or absence of a carbapenemase does not in itself influence the categorisation of susceptibility. In many areas, **carbapenemase detection and characterisation is recommended or mandatory** for infection control purposes.

Karbapenemler için MİK sınır değeri değişikliklerinin nedenleri

- Maksimum dozda antibiyotik verildiğinde tedavi için uygun serum düzeyleri sağlanabiliyor.
- Karbapenemaz pozitif ama düşük MİK değerine sahip suşlarla gerçekleştirilen hayvan deneylerinde karbapenem tedavisinin başarısı aynı MİK değerine sahip karbapenemaz negatif suşlarla benzer.

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, May 2009, p. 1868–1873
0066-4804/09/\$08.00+0 doi:10.1128/AAC.00782-08
Copyright © 2009, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 53, No. 5

Prospective Observational Study of the Impact of VIM-1 Metallo- β -Lactamase on the Outcome of Patients with *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections[∇]

George L. Daikos,^{1*} Panayiotis Petrikos,¹ Mina Psychogiou,¹ Chris Kosmidis,¹ Evangelos Vryonis,²
Athanasios Skoutelis,² Kleoniki Georgousi,³ Leonidas S. Tzouvelekis,⁴ Panayotis T. Tassios,⁴
Christina Bamia,⁵ and George Petrikos¹

CLSI ve EUCAST

- Tedaviyi MİK sonucu yönlendirmelidir.
- Karbapenemaz varlığının saptanması MİK değerine göre belirlenen duyarlılık sonucunu etkilememelidir.
- Önerilen MİK değerleri karbapenemazlar göz önüne alınarak belirlenmiştir.
- Proteus, Providencia ve Morganella için imipenem MİK değerlerinin diğer karbapenemlere göre daha yüksek olabilir ve bu durum karbapenemaz dışı mekanizmalara bağlıdır.

Yeni eşik değerlerinin uygulanması yeterli mi?

Table 1. MIC range of carbapenems for *Enterobacteriaceae* that produce several types of carbapenemases*

Carbapenemase	MIC, mg/L		
	Imipenem	Meropenem	Ertapenem
KPC	0.5→64	1→64	0.5→64
Metallo β -lactamases†	0.5→64	0.25→64	0.5→64
OXA-48 type	1→64	0.5→64	0.25→64

*KPC, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, OXA-48, oxacillinase-48.

†Including New Delhi metallo- β -lactamase-1.

Are susceptibility tests enough, or should laboratories still seek ESBLs and carbapenemases directly?

David M. Livermore^{1,2*}, Jenny M. Andrews³, Peter M. Hawkey⁴, Pak-Leung Ho⁵, Yoram Keness⁶, Yohei Doi⁷, David Paterson⁸ and Neil Woodford²

1. Düşük MİK değeri olan karbapenemaz üreten suşların neden olduğu enfeksiyonlarda tedavi başarısızlığı olguları da bildirilmiş.
2. Rutin laboratuvarlarda kullanılan yöntemler, araştırma amacıyla belirlenen MİK değerlerine göre daha az güvenilir. MİK değeri 1-8 µg/mL arasındaki suşlar da değişken duyarlı/dirençli sonuçları elde edilmekte. Kimin hangi yöntemle test ettiğine göre değişmekte.
3. EUCAST ve CLSI epidemiyolojik amaçlarla karbapenemazların saptanmasını öneriyor ancak, tedavi için elde edilen duyarlılık sonucunu değiştirmeyeceği için çoğu rutin laboratuvar da bu yapılmayacak ve kritik enfeksiyon kontrol bilgisi sağlanmayacak.

1. Tedavi başarısızlığı



Broad-Spectrum β -Lactam Antibiotics for Treating Experimental Peritonitis in Mice Due to *Klebsiella pneumoniae* Producing the Carbapenemase OXA-48

Olivier Mimoz,^a Nicolas Grégoire,^a Laurent Poirel,^b Manuella Marliat,^a William Couet,^a and Patrice Nordmann^b

INSERM ERI 23 Pharmacology of Antimicrobial Agents, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers, and Université de Poitiers, Poitiers, France,^a and INSERM UMR 914 Emerging Resistance to Antibiotics, Hôpital de Bicêtre, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Faculté de Médecine et Université Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France^b

A lethal peritonitis model was induced in mice with a *Klebsiella pneumoniae* isolate producing the carbapenemase OXA-48. Administration of a single dose (up to 100 mg/kg) of the antibiotic piperacillin-tazobactam, imipenem-cilastatin, ertapenem, or cefotaxime had little or no impact on lethality. Ceftazidime had the highest efficacy *in vivo*, which mirrored its *in vitro* activity; this was not the case for carbapenems. Therefore, ceftazidime may be recommended for the treatment of infections due to OXA-48 producers if they do not coproduce an extended-spectrum β -lactamase or a plasmid-mediated AmpC cephalosporinase.

Bu çalışmada kullanılan suşta:

- imipenem MİK = 0,5 μ g/mL (S)
- ertapenem MİK = 1 μ g/mL (R)

2. Tekrarlanabilirlik sorunları

- NEQAS kalite kontrol deneyimi (Distribution 2906 24.10.2011)
 - K. pneumoniae 0555: K. pneumoniae ST258/KPC klonu
 - ARMRL:
 - BSAC agar dilüsyon ile imipenem MİK=8, meropenem MİK=16 µg/mL
 - Bağımsız iki laboratuvar:
 - ISO broth dilüsyon ile imipenem MİK=1 (S), meropenem MİK=4 µg/mL (EUCAST I, CLSI R)
 - BSAC agar dilüsyon ile imipenem MİK=0,5 µg/mL (S)
 - BSAC kullanan katılımcı laboratuvarlar
 - 38/56 imipenem S
 - 10/117 meropenem S
- NDM + suşlarda agar dilüsyonla elde edilen MİK değerleri yüksek, E-test zonları geniş olabiliyor!



MİK'in daha da düşürülmesi çözüm değil

- Şu anki eşik değerlerde bile sorun var.
- Dereprese AmpC taşıyan Enterobacter türlerinde porin kaybı olmasa da ertapenem MİK=1-2 µg/mL
- Yeni kriterler ile imipenem duyarlılık oranı Morganella'da %100'den %38,6'ya; Providencia'da ise %99,8'den %68,6'ya düşmekte. Bu düşüş gerçekçi değil, kanıtlanmış direnç mekanizması yok.

Karbapenemaz doęrulama testleri



Modifiye Hodge testi

- CLSI 2012:
 - NOT: Tüm karbapenemaz



Value of the Modified Hodge Test for Detection of Emerging Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*

Delphine Girlich, Laurent Poirel, and Patrice Nordmann

Service de Bactériologie-Virologie, INSERM U914 Emerging Resistance to Antibiotics, Hôpital de Bicêtre, Assistance Publique/Hôpitaux de Paris, Faculté de Médecine Paris Sud, K-Bicêtre, France

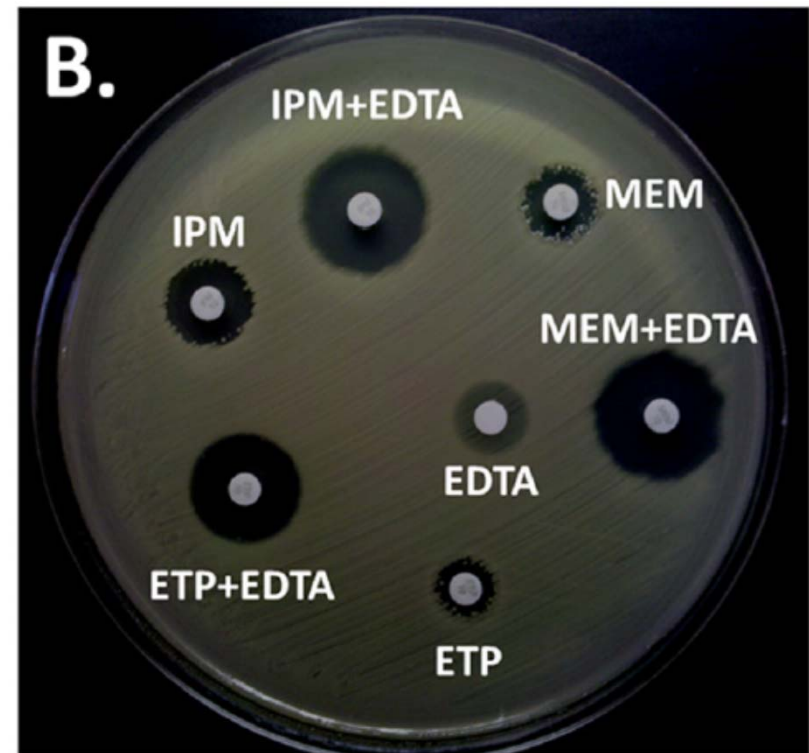
The modified Hodge test has an excellent sensitivity for detecting enterobacterial isolates producing Ambler class A (KPC) and class D (OXA-48) carbapenemases. Its sensitivity is low for NDM-1 producers (50%) but is increased to 85.7% by adding ZnSO₄ (100 µg/ml) in the culture medium. However, this test has a low specificity and is time-consuming.

mekanizmaları da neden olabilirler.

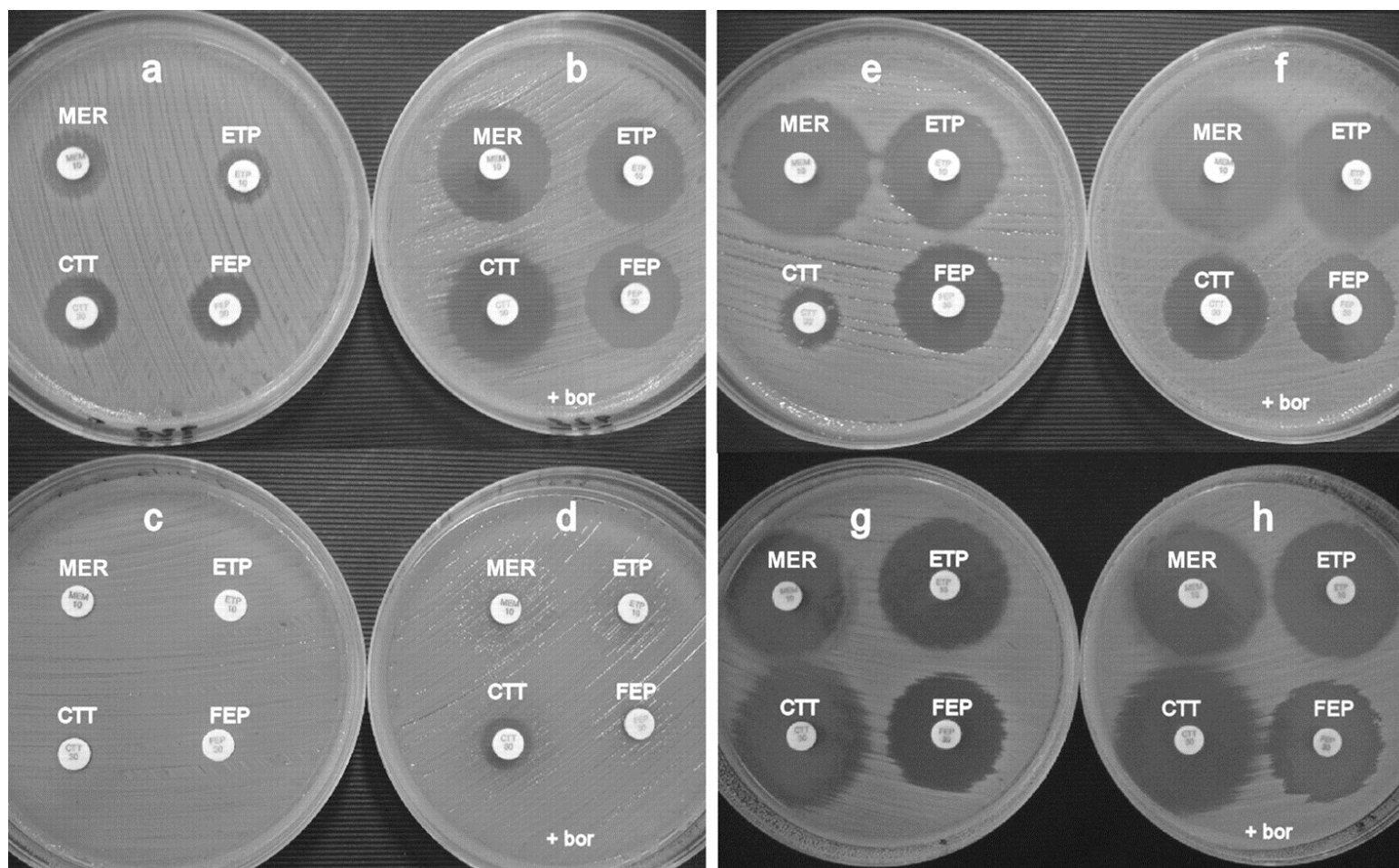


Kombine disk testi

- Metalloenzimler için metal şelatörleri
 - EDTA
- Diğer:
 - Boronik asit

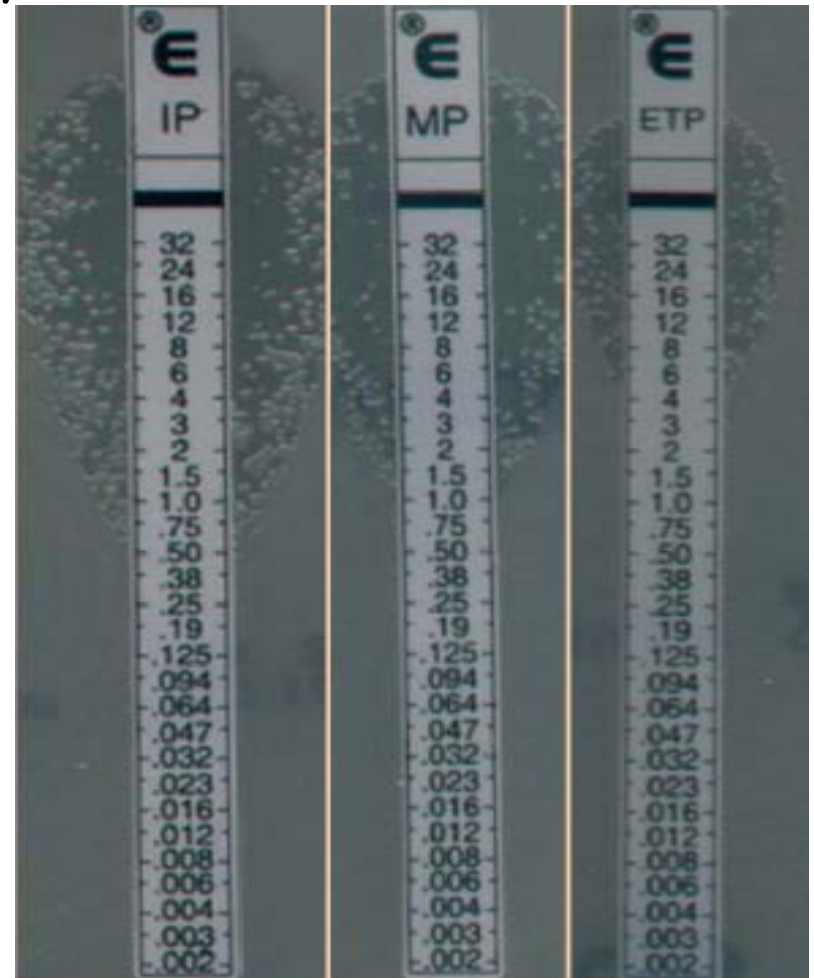


Representative results using the boronic acid-based method without or with boronic acid (bor) for isolates possessing KPC/ESBL (a and b), VIM (c and d), AmpC/ESBL (e and f), or ESBL (g and h).



E-test

- Karbapenem: zon net olmayabilir
- Karbapenem -/+ EDTA
 - Metallo- β -laktamazlar için



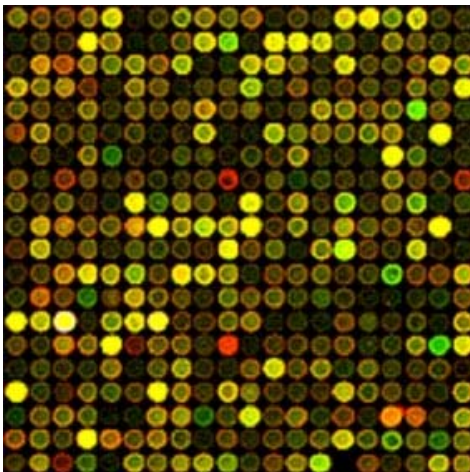
Selektif besiyerleri

- **CHROMagar-KPC**
- **ChromID ESBL**
- **SUPERCARBA**

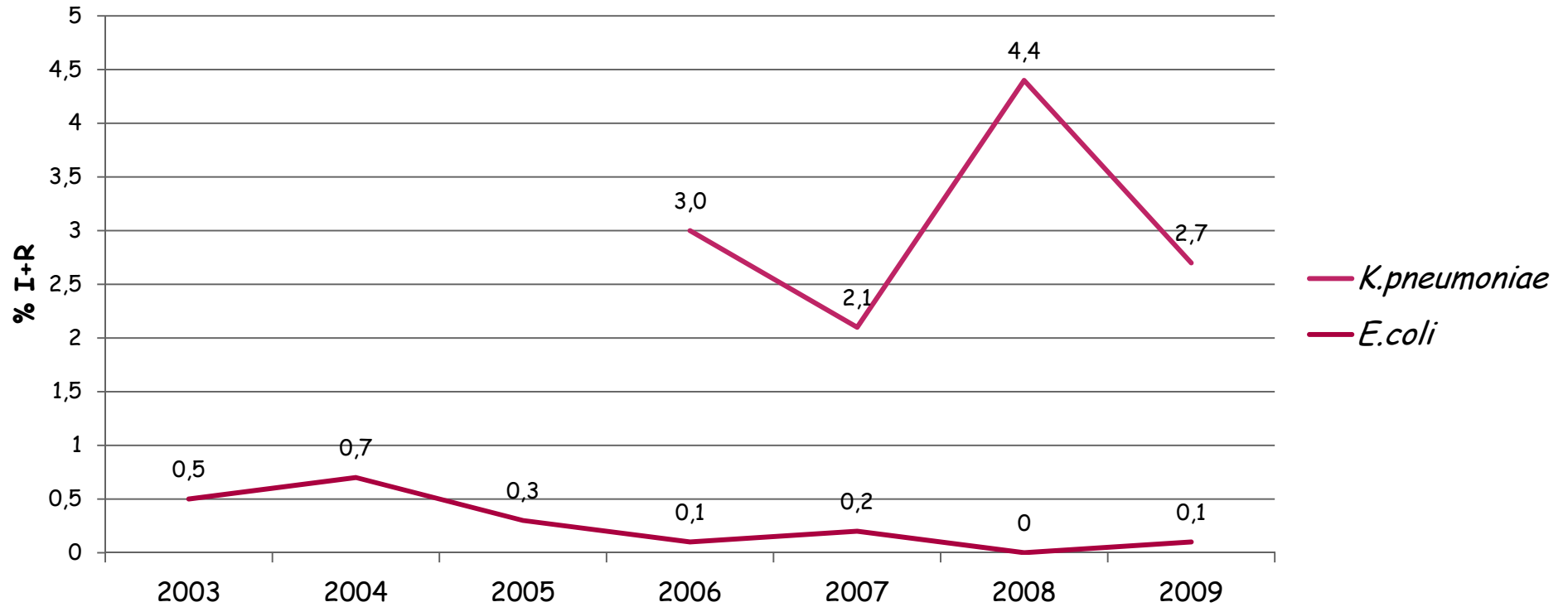


Karbapenemazların saptanması

- Moleküler testler
 - PCR
 - Hibridizasyon
 - Microarray



EARSS Türkiye verileri: Karbapenem direnç oranları



Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm!

Patrice Nordmann, Laurent Dortet and Laurent Poirel

Trends in Molecular Medicine xx (2012) 1–10

J Antimicrob Chemother 2011; **66**: 689–692

doi:10.1093/jac/dkq520 Advance Access publication 28 January 2011

**Does broad-spectrum β -lactam resistance due to NDM-1 herald
the end of the antibiotic era for treatment of infections caused
by Gram-negative bacteria?**

Gelecek?



Sonuç

- Dünya artık çok küçük.
- Dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkıp yayılmalarının önüne geçilebilmesi ortak önlemler alınmalı.
- Basit enfeksiyon kontrol önlemleri, sanitasyon ve temiz içme suyu sağlanması için destek



Beklenen



Sürpriz

