

# ENTEROBACTERIACEAE MOLEKÜLER EPİDEMİYOLOJİSİ

Zeynep GÜLAY

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İZMİR  
zeynepgulay62@gmail.com

## ÖZET

Son birkaç yıldır tüm dünyada, hem nonfermentatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*) hem de enterik Gram negatif basillerin karbapenem direncinde artış görülmektedir. Bu durum en sık karbapenemleri hidrolize eden değişik  $\beta$ -laktamazların yayılımına bağlıdır. Enterobacteriaceae üyelerinde Ambler A (ör. KPC), B (ör. IMP, VIM, NDM), D (OXA-48 ve varyantları) görülmektedir. Ülkemiz için bunlar arasında en önemlisi ve yaygını OXA-48 olmakla birlikte, son yıllarda artan oranlarda NDM-1 ve KPC-2 enzimi de bildirilmiştir. Karbapenemazların yayılması hem hasta tedavisi hem de enfeksiyon kontrolü açısından sorun oluşturmaktadır.

**Anahtar sözcükler:** Enterobacteriaceae, karbapenemazlar, *Klebsella pneumoniae* Carbapenemase, New Delhi Metallo beta-lactamase, OXA- 48

## SUMMARY

### Molecular Epidemiology of Carbapenemases in Enterobacteriaceae

In the last decade, a considerable increment in the carbapenem resistance of both the Gram negative nonfermentative bacteria and Enterobacteriaceae, have been observed. This is mainly due to the emergence and spread of various beta-lactamases which can hydrolyse carbapenems. Ambler Class A (eg KPC), B (IMP, VIM and NDM) D (OXA-48-like) carbapenemases may be produced by enterobacteriaceae. Although the most important and widespread carbapenemase in our country is OXA-48, reports about clinical isolates which produce NDM-1 or KPC-2 have been increasing. The emergence and dissemination of carbapenemases is a major concern for patient management and infection control.

**Keywords:** carbapenem hydrolysing beta-lactamases, Enterobacteriaceae, *Klebsella pneumoniae* Carbapenemase, New Delhi Metallo beta-lactamase, OXA- 48

Son yıllarda sıklığı giderek artan karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae; çoklu dirençli *Acinetobacter baumannii* ve karbapenemlere dirençli *Pseudomonas aeruginosa* tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de sorun oluşturmaktadır. Bu bakterilerin ortak özellikleri, hastalar ve çevrede uzun süre kalabilmeleri, direnç özelliklerini gerek klonal yayılımla gerekse plazmidler aracılığıyla yayabilmeleridir. Gram negatif bakteriler, büyük ve hidrofobik molekülleri geçirmeyen dış zarları nedeniyle zaten glikopeptidler, daptomisin, rifampisin gibi çeşitli antibiyotiklere doğal olarak dirençlidir. Dış zar ayrıca diğer antibiyotiklerin de geçişini yavaşlatarak, daha sonraki direnç mekanizmalarına (beta-laktamazlar ve aktif pompa sistemleri gibi) daha duyarlı hale getirmektedir.

### Enterobacteriaceae üyelerinde karbapenem direnci

Enterobacteriaceae üyelerinde karbapenem direnci en sık karbapenemleri hidrolize eden beta-laktamazlara (karbapenemazlar) bağlıdır<sup>(2,7)</sup>.

Karbapenemazlar; penisilinleri, çoğu zaman sefalosporinleri ve değişen derecelerde olmak üzere karbapenemleri ve monobaktamları hidrolize eden beta-laktamazlardır. Monobaktamlar, metallo-beta-laktamazlar tarafından parçalanmazlar.

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların (GSBL) tüm dünyada, bu arada ülkemiz hastanelerinde de > % 50 prevalans değerlerine ulaşması karbapenem kullanımını arttırmış ve karbapenem direnci gelişimine zemin hazırlamıştır<sup>(2)</sup>. Enterobacteriaceae üyelerinde karbapene-

nem direnci, yüksek düzey AmpC veya GSBL yapımı ve porin kaybı gibi birleşik mekanizmalarla görülebileceği gibi, günümüzdeki esas sorun karbapenemaz yapımıdır. *Enterobacteriaceae* üyelerinde A, B, D sınıfı karbapenemazlar görülebilmektedir. Bunlar arasında en ünlüleri A sınıfından KPC, B sınıfından metalloenzim NDM ve ülkemiz için de -hiç kuşkusuz- D grubundan OXA-48'tir<sup>(2,3,7-9)</sup>. OXA-48 özellikle hastane kökenli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında giderek yayılmaktadır. Örneğin, Dokuz Eylül Üniversitesi (DEÜ) hastanesinde 2013 yılı için kan kültüründen üretilen *K.pneumoniae* izolatlarının % 44'ü karbapenemlere dirençlidir ve bunların % 90'ı OXA-48 üretmektedir.

### 1. Klinik ve epidemiyolojik önemi

Avrupa'da karbapenemazların yayılma problemi, birçok Akdeniz ülkesinde 1990'ların ikinci yarısında başlamış ve temel olarak *P. aeruginosa*'da gözlenmiştir. Daha sonraları, Yunanistan'da *K.pneumoniae* izolatlarında bir Verona integron aracılı metallo- $\beta$ -laktamazı (VIM) salgını ortaya çıkmış<sup>(2)</sup>, bunu bir *K.pneumoniae* Karbapenemazı (KPC) salgını izlemiştir. Günümüzde KPC, Avrupa ülkelerinde *Enterobacteriaceae* üyelerinde en sık bulunan karbapenemazdır. İnvazif *K.pneumoniae* izolatlarının Yunanistan için yaklaşık % 60'ı, İtalya için yaklaşık % 15'i, karbapenemlere dirençlidir.

Problem yaratan en önemli karbapenemazlar, 1996'da ABD'den ilk kez bildirilen KPC, özellikle Hindistan ve Ortadoğu ülkelerinde prevalansı yüksek olan ve Avrupa ülkelerine taşınan Yeni Delhi metallo  $\beta$ -aktamazı (New Delhi metallo- $\beta$ -laktamaz; NDM) ve Türkiye'den köken almış olan OXA-48- benzeri  $\beta$ -laktamazlardır. OXA-48- benzeri enzimler, çeşitli Avrupa ülkelerinde salgınlar yapmıştır, şimdi de tüm dünyada hızla yayılmaktadır<sup>(6,11)</sup>.

Yukarıda da belirtildiği gibi ülkemizdeki en yaygın karbapenemaz OXA-48 olmakla birlikte farklı karbapenemazlar da bildirilmektedir<sup>(1,3,4,5,9-12)</sup>. Bunlar arasında VIM-5, IMP-1, NDM-1 ve en son olarak da KPC-2 sayılabilir. Özellikle NDM-1 enziminin en sonucusu bir özel üniversite hastanesinde yenidoğan ünitesindeki bir salgınla ilişkili olarak farklı şehir (Kocaeli, İstanbul, Kayseri) ve türlerden giderek

artan oranlarda bildirilmesi; yine 2014 yılında üç farklı hastaneden (biri yukarıdaki ile aynı) Yunanistan'da salgın oluşturmuş ve karbapenem direncinin 2009 yılında % 60'lara çıkmasına neden olmuş olan KPC-2'nin de bildirilmesi, *Enterobacteriaceae* üyelerinde karbapenemaz sorununun boyutlarının artacağını düşündürmektedir. Kocaeli'nden yapılan bildirimde KPC-2 üreten *K.pneumoniae* izolatı uluslararası ST258 klonunun bir üyesidir<sup>(5)</sup>.

Karbapenemazlar, tüm beta-laktamlara dirence yol açmaları nedeniyle bir endişe kaynağı oluşturmaktadır, çünkü karbapenemaz üreten suşlar genellikle diğer direnç mekanizmalarını da taşıdıkları için çoklu dirençlidirler ve karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* infeksiyonları yüksek mortalite hızları ile ilişkilidir.

### 2. Direnç mekanizması

Karbapenemazların çoğu, plazmidler üzerindeki transpoze olabilen elemanlarca kodlanan, kazanılmış enzimlerdir. Karbapenemazlar çeşitli düzeylerde eksprese edilebilir. Ayrıca gerek biyokimyasal özellikleri gerekse etkiledikleri beta-laktam spektrumu açısından birbirlerinden farklıdır. Ekspresyon düzeyi,  $\beta$ -laktamazın özellikleri, diğer direnç mekanizmalarının varlığı (diğer  $\beta$ -laktamazlar, aktif pompa, geçirgenlik değişimleri), karbapenemaz-üreten izolatlarda gözlenen farklı direnç fenotiplerine yol açmaktadır. *Enterobacteriaceae* üyelerinde karbapenem duyarlılığında azalma, GSBL veya AmpC enzim üretimi ve porin değişimleri veya kaybı ile birlikteyse de görülebilmektedir<sup>(2,7)</sup>.

Karbapenemaz üreten izolatların çoğu genişlemiş spektrumlu (oksimino) sefalosporinlere de dirençlidir. Bazı enzimlerin varlığında (ör. OXA 163 dışındaki OXA-48 benzeri enzimler), bakteri sefalosporinlere duyarlı da olabilir. Ancak, bu izolatların çoğu, aynı zamanda CTX-M tipi genişlemiş spektrumlu  $\beta$ -laktamazlar gibi sefalosporinleri de hidrolize eden bir enzim ürettiğinden, sıklıkla sefalosporin direnci izlenir. Karbapenemazların, özellikle de karbapenemlerden (imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem) birine duyarlılıkta azalmaya neden olmuşsa, epidemiyolojik açıdan yüksek önem taşıdığı kabul edilir.

### 3. Yayılımı

*Enterobacteriaceae* üyelerindeki karbapenemazların çoğu plazmidlerle yayılmaktadır. Bunun yanı sıra

Multilocus Sequence Typing (MLST) analizi ile bazı "yüksek riskli klonlar" da belirlenmiştir<sup>(13)</sup>. MLST analizi yedi metabolik gene ait kısa dizilerin analizinin yapıldığı bir yöntemdir. Sonuçta izolat için Sekans Tipleri (ST) belirlenmektedir. ST'ler Klonal Kompleksler (CC) içerisinde toplanır. MLST analizi özellikle uzun süreli ilişkilerin, ortak kökenlerin evrimsel süreçlerinin izlenmesinde en iyi yöntemdir. MLST ile elde edilen Yüksek riskli klonlar arasında; CTX-M yayılımı (özellikle CTX-M15) ile ilgili *Escherichia coli* ST131 O25bH4; NDM-1 ile ilgili olarak *E.coli* ST101; KPC'lerin yayılımı ile ilgili olarak *K.pneumoniae* ST258 sayılabilir. Son yıllarda KPC-2 ve NDM-1 Fransa ve İrlanda'da, *E.coli* ST 131 klonunda da gösterilmiştir. NDM-1'in bu klonda CTX-M'lerin tüm dünyada yayılımından sorumlu IncFII tipi bir plazmid üzerinde bulunması ayrıca düşündürücüdür.

OXA-48 ise neredeyse her zaman benzer yaklaşık 62 kb.'lik IncL/M plazmidlerle yayılmaktadır<sup>(3,8,11)</sup>. *E.coli* izolatlarında kromozomal yerleşim de bildirilmiştir<sup>(11)</sup>. OXA-48 ülkemizde ilk kez 2001 yılında izole edilmiştir. Bu izolattan, pOXA48a adlı plazmid elde edilmiştir. Bu plazmidin yıllar içerisinde İstanbul ve tüm ülkeye hatta Akdeniz ülkelerine yayıldığı ve OXA-48'i de yaydığı görülmektedir. *bla*<sub>OXA-48</sub> geni plazmid içerisinde Tn1999 transpozonu (ve değişik izoformları) ile ilişkili olarak bulunmaktadır. Tn 1999 plazmidde transferi inhibe eden *tir* geni içerisine yerleştiğinden bu genin inaktivasyonu plazmidin kolayca yayılmasını sağlamaktadır. Yine plazmidde bulunan faj replikasyon geni *repP* geni bu plazmid için bir belirteç olarak kabul edilmektedir. OXA-48 varyantlarından OXA-181, IS Ecp1 (CTX-M yayılımını sağlamıştır); OXA-163 ise IS4 elemanları ile ilişkilidir. OXA-48 in ayrıca OXA-162, OXA-204, OXA-232, OXA-247 adlı varyantları da bulunmaktadır.

KPC karbapenemazları ise özellikle Tn4401 ile ilişkili plazmidlerle yayılmaktadır<sup>(7)</sup>.

### 4. Tedavi Sorunu

Karbapenemaz üretimi, tedavi seçenekle-

rini kolistin gibi eski ve toksik olabilen antibiyotiklere indirgemıştır. Şu anki seçenekler kolistin, tigesiklin, fosfomisin'dir. Yeni metallo-betalaktamaz inhibitörleri (ör. Avibactam NXL104) geliştirilme aşamasındadır. Avibactam çok da bilinmeyen bir mekanizma ile A, B ve D sınıfı karbapenemazların tümüne etkili olarak görülmektedir. Karbapenemaz üreten izolatlar arasında kolistine dirençli olanlar da bildirilmeye başlamıştır. Hatta Kocaeli Anadolu Medikal merkezine Romanya'dan gelen bir hastada saptanan ve KPC-2 ürettiği belirlenen izolat kolistin ve meropenem tedavisi sonrasında kolistine direnç kazanmıştır<sup>(5)</sup>. Kolistin direnci dış zar lipopolisakkarit yapısında değişime bağlıdır. Tedavide mutlaka kombinasyon uygulanması gereklidir.

### KAYNAKLAR

1. Alp E, Perçin D, Colakoğlu S et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary university hospital in Turkey, *J Hosp Infect* 2013;84(2):178-80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2013.03.002>
2. Canton R, Akova M, Carmeli Y et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe, *Clin Microbiol Infect* 2012;18(5):413-31. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03821.x>
3. Carrer A, Poirel L, Yilmaz M et al. Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond, *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(3):1369-73. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01312-09>
4. Jones RN, Flonta M, Gurler N, Cepparula M, Mendes RE, Castanheria M. Resistance surveillance program report for selected European nations (2011), *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014;78(1):429-36. (Adana, Bursa ve İstanbul izolatlarını kapsamaktadır; OXA-48, OXA-162, KPC-2 ve IMP-1 bildirilmiştir)
5. Labarca J, Poirel L, Özdamar M, Turkoğlu S, Hakkı E, Nordmann P. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*, finally targeting Turkey, *New Microbes New Infect* 2014;2(2):50-1. <http://dx.doi.org/10.1002/nmi.2.42>
6. Lascols C, Peirano G, Hackel M, Laupland KB, Pitout JD. Surveillance and Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* that produce carbapenemases: first report of OXA-48 like enzymes,

- Antimicrob Agents Chemother* 2013;57(1):130-6.  
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01686-12>
7. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae; here is the storm, *Trend Mol Med* 2012;8(5):263-72.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2012.03.003>
  8. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48 like carbapenemases: the phantom menace, *J Antimicrobial Chemother* 2012;67(7):1597-606.  
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dks121>
  9. Poirel L, Heritier C, Tolun V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*, *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(1):15-22.  
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.48.1.15-22.2004>
  10. Poirel L, Yilmaz M, İstanbullu A et al. Spread of NDM-1 producing Enterobacteriaceae in a neonatal intensive care unit İstanbul Turkey, *Antimicrob Agents Chemother* 2014.  
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.02047-13>
  11. Potron A, Poirel L, Rondinaud P, Nordmann P. Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase producing Enterobacteriaceae over a 11 year period (2001-2011), *Euro Surveill* 2013;18(31):1-13.
  12. Poirel L, Özdamar M, Ocampo-Sosa AA, Türkoğlu S, Ozer UG, Nordmann P. NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* now in Turkey, *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56(5):2784-5.  
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00150-12>
  13. Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram negative bacteria: the role of high risk clones in the dissemination of antibiotic resistance, *FEMS Microbiol Rev* 2011;35(5):736-55.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00268>